



A Sysmex Group Company



Kullanım Talimatları (IFU)

REF: CE-LPH 052-S/CE-LPH 052

P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe



YALNIZCA PROFESYONEL KULLANIM İÇİNDİR



Daha fazla bilgi ve diğer diller şurada mevcuttur: ogt.com/IFU

Kullanım Amacı

CytoCell® P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe, doğrulanmış veya şüpheli kronik lenfositik lösemi (KLL) hastalardan alınan hematolojik olarak türetilmiş hücre süspansiyonları sabitlenmiş Carnoy çözeltisinde (3:1 metanol/asetik asit) bulunan kromozom 11 üzerindeki 11q22.3 bölgesi ve kromozom 17 üzerindeki 17p13 bölgesindeki kromozomal silmeleri tespit etmek için *yerinde* hibridizasyon (FISH) testinde kullanılan etiketli, otomatik olmayan bir floresandır.

Kullanım Endikasyonları

Bu cihaz, onaylanmış tanısal ve klinik bakım yollarında, P53 (TP53) veya ATM silme durumu bilgisinin klinik yönetim için önemli olacağı, diğer klinik ve histopatolojik testlere ek olarak tasarlanmıştır.

Sınırlamalar

Bu cihaz, TP53 ve ATM bölgelerini içeren bu prob setindeki kırmızı ve yeşil klonların kapsadığı bölgeden daha büyük genomik kayıpları tespit etmek için tasarlanmıştır. Bu bölge dışındaki genomik kayıplar veya bu bölgenin kısmi kayıpları bu cihazla tespit edilemeyebilir.

Bu cihaz şunlar için kullanılmaz: bağımsız tanılama, birlikte tanılama, prenatal test, popülasyon bazlı tarama, hasta başında test ya da kendi kendine test.

Bu cihaz, kullanım amacıyla belirtilenler dışındaki numune tipleri, hastalık tipleri ya da amaçlar için doğrulanmamıştır.

Tanılama amaçlı diğer laboratuvar testlerine yardımcı olması için kullanılmalıdır. Yalnızca FISH sonuçlarına dayanarak tedavi başlatılmamalıdır.

FISH sonuçlarının raporlanması ve yorumlanması, uygun vasıflara sahip personel tarafından yapılmalı, profesyonel uygulama standartlarıyla tutarlı olmalıdır ve ilgili diğer test sonuçları, klinik ve tanılama bilgilerini de göz önünde bulundurulmalıdır.

Bu cihaz yalnızca laboratuvar profesyonel kullanım içindir.

Protokole bağlı kalınmaması performansı etkileyebilir ve yanlış pozitif/negatif sonuçlara neden olabilir.

Test Prensipleri

Floresans *yerinde* hibridizasyonu (FISH), DNA dizilimlerinin metafaz kromozomlar üzerinde ya da sabit sitogenetik numunelerden alınan interfaz çekirdeklerde tespit edilmesine yardımcı olan bir tekniktir. Bu teknik, tüm kromozomları ya da tekli özgün dizilimleri melezleştiren DNA problemlerini kullanır ve G bantlı sitogenetik analiz için güçlü bir yardımcıdır. Bu teknik, prenatal, hematolojik ve solid tümör kromozomal analizlerde temel bir araştırma aracı olarak kullanılabilir. Fiksasyon ve denatürasyonun ardından hedef DNA, komplementer bir dizilime sahip, benzer bir denatüre, floresan etiketli DNA probuna tavlana hâzır hale gelir. Hibridizasyonu takiben, bağırsız ve belirsiz bağlı DNA probu kaldırılır ve DNA vizüalizasyonu için karşıt boyayla boyanır. Floresan mikroskopisi böylece hedef materyal üzerindeki melezleştirilmiş probun vizüalizasyonunu yapabilir.

Prob Bilgisi

17p13'teki tümör baskılayıcı TP53 (tümör protein p53) geni ve 11q22.3'teki protein kinaz ATM (ATM serin/treonin kinaz) geni, kronik lenfositik lösemi (KLL) durumlarında sıklıkla silinir. TP53, önemli bir tümör baskılayıcı genidir. Genetik stabilitenin sürdürülmesinde temel rol alan güçlü bir transkripsiyon faktörü görevi de görür¹. TP53 kaybı KLL'si olan hastaların %5-10'unda bildirilir ve kemoterapiye

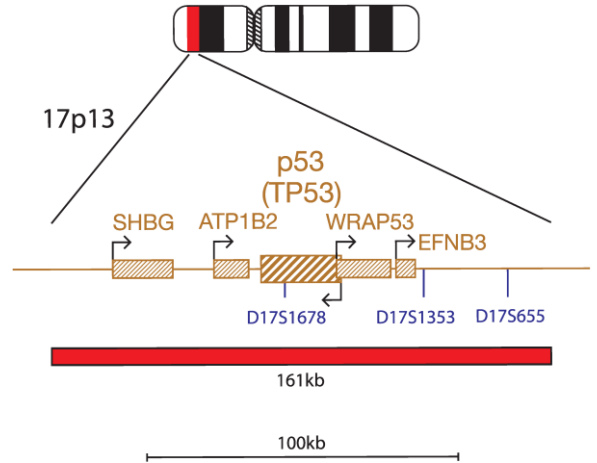
karşı direnci öngören zayıf bir prognostik biyobelirteçtir^{2,3,4}. ATM, hücre hasarı yönetiminde yer alan önemli bir kontrol noktası genidir⁵. ATM kaybı KLL'si olan hastaların %10-20'sinde bildirilir². 11q ve 17p silinmeleri, KLL'de en sık görülen kromozomal aberasyonlardan ikisidir; del(11q) ATM'yi kaldırırken del(17p), TP53 kaybıyla sonuçlanır¹.

Prob Spesifikasyonu

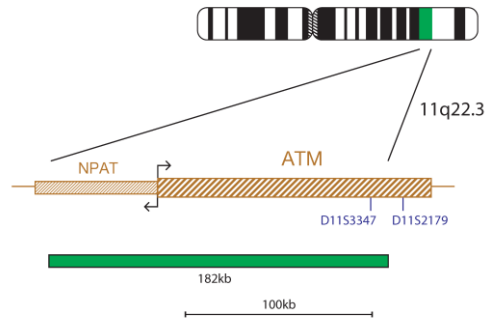
P53, 17p13, Kırmızı

ATM, 11q22.3, Yeşil

CMP-H040 V005.00



CMP-H041 v005.00



P53 bileşeni, tüm P53 (TP53) genini ve yan bölgeleri içine alan kırmızı renkte etiketlenmiş bir 161 kb probdan oluşur. ATM bileşeni, NPAT geninin telomerik ucunu ve D11S3347 işaretleyicisinin ötesinde ATM geninin santromerik ucunu kapsayan yeşil renkte etiketlenmiş bir 182 kb probdan oluşur.

Tedarik Edilen Materyaller

Prob: Viyal başına 50 µl (5 test) ya da viyal başına 100 µl (10 test)

Problar, hibridizasyon çözeltisine (<%65 formamit; <20 mg dekstran sülfat; <%10 20 kat salin-sodyum sitrat (SSC)) karıştırılmış olarak tedarik edilir ve kullanıma hazırdır.

Karşıt boya: Viyal başına 150 µl (15 test)

Karşıt boya, DAPI Antifade ES'dir (gliserol bazlı gömme ortamı içinde 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol)).

Uyarılar ve Tedbirler

1. Yalnızca *in vitro* tanılama amaçlıdır. Yalnızca laboratuvar profesyonel kullanım içindir.
2. Prob karışımları bir teratojen olan formamit içermektedir; buharı solumayın ya da cildinize temas ettirmeyin. Kullanırken özen gösterin; eldiven ve laboratuvar önlüğü giyin.
3. DAPI'yi kullanırken özen gösterin; eldiven ve laboratuvar önlüğü giyin.
4. Viyaller zarar görmüş ya da viyal içerikleri bir şekilde bozulmuşsa bunları kullanmayın.
5. Bu ürünü güvenli şekilde imha etmenin yolunu bulmak için Güvenlik Veri Sayfasındaki önerilerle birlikte bulunduğunuz konumdaki yerel imha yetkililerini izleyin. Bu zarar görmüş test kiti içerikleri için de geçerlidir.
6. Kullanılmış tüm reaktifler ve diğer tüm kontamine ve tek kullanımlık materyalleri, enfeksiyöz ya da enfeksiyon potansiyeli olan atık prosedürlerini izleyerek imha edin. Katı ve sıvı atıkları, yapısı ve tehlike derecesine göre kullanmak ve bunları geçerli yönetmelikler uyarınca işlemek ve imha etmek (ya da işletmek ve imha ettirmek) laboratuvarın sorumluluğudur.
7. Operatörler, kırmızı, mavi ve yeşil renkleri ayırt edebiliyor olmalıdır.
8. Belirtilen protokol ve reaktiflere bağlı kalınmaması, performansı etkileyebilir ve yanlış pozitif/negatif sonuçlara neden olabilir.
9. Bir prob diğer problemlerle seyreltilmemelidir ya da karıştırılmamalıdır.
10. Protokolün ön denatürasyon aşaması sırasında 10 µl prob kullanılmaması, performansı etkileyebilir ve yanlış pozitif/negatif sonuçlara neden olabilir.
11. Tüm ürünler kullanılmadan önce doğrulanmalıdır.

DS1065/CE-tr v003.00/2025-09-09 (CMP-H040 V005 CMP-H041 V005)

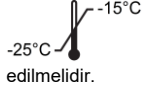
Sayfa 1/5

12. İç kontroller, numuneleri test ederken etkilenmeyen hücre popülasyonları kullanılarak yapılmalıdır.

Sıcaklık Açıklamaları

- 20 °C/Donmuş/Dondurucuda: -25 °C ila -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Oda Sıcaklığı (RT): +15 °C ila +25 °C

Muhafaza ve Kullanım

 Bu kit, kit etiketinde belirtilen son kullanma tarihine kadar -25 °C ile -15 °C arasında bir dondurucuda muhafaza edilmelidir. Prob ve karşıt boya viyalleri karanlık bir ortamda muhafaza edilmelidir.



FISH probu, DAPI Antifade ES karşıt boyası ve Hibridizasyon Çözeltisi, normal kullanım sırasında uygulanan dondurma-çözme döngülerinde stabil kalır (burada bir döngü viyalin dondurucudan çıkarılması ve dondurucuya yerleştirilmesinden oluşur) - 50 µl (5 test) viyal FISH probu için 5 döngü, 100 µl (10 test) viyal FISH probu için 10 döngü ve 150 µl (15 test) viyal karşıt boya için 15 döngü. Işığa maruz kalma en aza indirilmeli ve mümkün oldukça önlenmelidir. Bileşenleri, verilen ışık geçirmez kaptan muhafaza edin. Etiketle belirtilenler dışındaki koşullarda kullanılan ve muhafaza edilen bileşenler, gerektiği gibi çalışmayabilir ve test sonuçlarını olumsuz etkileyebilir. Işığa ve sıcaklık değişimlerine maruz kalınmasının önüne geçmek için her türlü çaba sarf edilmelidir.

Gerekli Olan Fakat Tedarik Edilmeyen Teçhizat ve Materyaller

Kalibre edilmiş teçhizat kullanılmalıdır:

- Isıtmalı tabla (sert bir tabla ve 80 °C'ye kadar doğru sıcaklık kontrolü)
- Kalibre edilmiş değişken hacimli mikropipet ve uç aralığı 1 µl-200 µl
- Doğru sıcaklık kontrolünde (37 °C ve 72 °C) su banyosu
- Mikrosantrifüj tüpler (0,5 ml)
- Floresan mikroskop (Lütfen Floresan Mikroskop Önerisi bölümüne bakınız)
- Faz kontrast mikroskobu
- Temiz plastik, seramik ya da ısıya dayanıklı cam Coplin kavanozlar
- Forseps
- Kalibre edilmiş pH ölçüm cihazı (ya da pH 6,5-8,0 ölçeklenen pH indikatör şeritler)
- Nemli kap
- Floresan dereceli mikroskop lensi immersiyon yağı
- Tezgah üstü santrifüj
- Mikroskop lamaları
- 24x24 mm lameller
- Zamanlayıcı
- 37 °C inkübatör
- Kauçuk çözelti yapıştırıcısı
- Vorteks mikser
- Dereceli silindirler
- Manyetik karıştırıcı
- Kalibre edilmiş termometre

Tedarik Edilmeyen Tercihe Bağlı Teçhizat

- Sitogenetik kurutma kabini

Gerekli Olan Fakat Tedarik Edilmeyen Reaktifler

- 20 kat salin-sodyum sitrat (SSC) Çözeltisi
- %100 Etanol
- Tween-20
- 1 M Sodyum hidroksit (NaOH)
- 1 M Hidroklorik asit (HCl)
- Arıtılmış su

Floresan Mikroskop Önerisi

Optimal vizüalizasyonu için, 100 vat cıva buharlı lamba ya da muadili bir lamba ve yağ immersiyonu planı apokromat objektiflerini (60/63 kat ya da 100 kat) kullanın. Bu prob setinde kullanılan florofor şu dalga boylarını eksite eder ve yayar:

Flofor	Eksitasyon _{n maks.} [nm]	Emisyon _{n maks.} [nm]
Yeşil	495	521
Kırmızı	596	615

Mikroskoba yukarıda listelenen dalga boylarını kapsayan uygun eksitasyon ve emisyon filtrelerinin takıldığından emin olun.

Yeşil ve kırmızı floroforların optimal eş zamanlı vizüalizasyonu için, üçlü DAPI/yeşil spektrum/kırmızı spektrum bant geçirici filtre ya da ikili yeşil/kırmızı spektrum bant geçirici filtre kullanın.

Doğru şekilde çalıştığından emin olmak için, floresan mikroskobu kullanmadan önce kontrol edin. Floresan mikroskopisine uygun ve düşük otomatik floresan için formüle edilmiş immersiyon yağı kullanın. DAPI renk solması önleyici karışımı mikroskop immersiyon yağıyla karıştırmaktan kaçının. Bu, sinyalleri bozacaktır. Lamba ömrü ve filtrelerin yaşıyla ilgili olarak üreticilerin önerilerine riayet edin.

Numune Hazırlama

Kit, laboratuvar kılavuzlarına ya da kurumsal kılavuzlara göre hazırlanmış olan, doğrulanmış veya şüpheli kronik lenfositik lösemili (KLL) hastalardan alınan hematolojik olarak üretilmiş hücre süspansiyonları sabitlenmiş Carnoy çözeltisinde (3:1 metanol/asetik asit)

kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Havaıyla kurutulmuş numuneleri mikroskop lamaları üzerinde standart sitogenetik prosedürlere uygun şekilde hazırlayın. AGT *Sitogenetik Laboratuvar Kılavuzu* numune toplama, kültürleme, hasat ve lam yapımı için öneriler içermektedir⁶.

Çözelti Hazırlama

Etanol Çözeltileri

Takip eden oranları kullanarak %100 etanolü artılmış su ile seyreltin ve iyice karıştırın:

- %70 Etanol-7 birim %100 etanol ve 3 birim artılmış su
- %85 Etanol-8,5 birim %100 etanol ve 1,5 birim artılmış su

Çözeltileri hava geçirmeyen bir kapta, 6 aya kadar, oda sıcaklığında muhafaza edin.

2xSSC Çözeltisi

1 birim 20xSSC Çözeltiyi 9 birim artılmış suyla seyreltin ve iyice karıştırın. pH'ı kontrol edin ve NaOH ya da HCl kullanarak pH 7,0 olarak ayarlayın. Çözeltiyi oda sıcaklığında, hava geçirmez bir kapta, 4 haftaya kadar muhafaza edin.

0,4xSSC Çözeltisi

1 birim 20xSSC Çözeltiyi 49 birim artılmış suyla seyreltin ve iyice karıştırın. pH'ı kontrol edin ve NaOH ya da HCl kullanarak pH 7,0 olarak ayarlayın. Çözeltiyi oda sıcaklığında, hava geçirmez bir kapta, 4 haftaya kadar muhafaza edin.

2xSSC, %0,05 Tween-20 Çözeltisi

1 birim 20xSSC Çözeltiyi 9 birim artılmış suyla seyreltin. Her 10 ml başına 5 µl Tween-20 ekleyin ve iyice karıştırın. pH'ı kontrol edin ve NaOH ya da HCl kullanarak pH 7,0 olarak ayarlayın. Çözeltiyi oda sıcaklığında, hava geçirmez bir kapta, 4 haftaya kadar muhafaza edin.

FISH Protokolü

(Not: Probu ve karşıt boyanın laboratuvar ışıklarına maruz kalmamasına her zaman dikkat edin).

Lam Hazırlama

- Hücre numunesini cam mikroskop lamı üzerine yerleştirin. Kurumaya izin verin. (Tercihe bağlı, sitogenetik kurutma kabini kullanılıyorsa: Optimal hücre numunesi damlatma için, kabin yaklaşık 25 °C'de ve %50 nemde işletilmelidir. Bir sitogenetik kurutma kabini mevcut değilse alternatif olarak bir davlumbaz kullanın).
- Lamı 2 dakika boyunca, oda sıcaklığında ve ajitasyon olmadan 2xSSC içine daldırın.
- Bir etanol serisinde (%70, %85 ve %100), 2 dakika boyunca, oda sıcaklığında dehidrasyon yapın.
- Kurumaya izin verin.

Ön Denatürasyon

- Probu dondurucudan çıkarın ve oda sıcaklığında ısınmasını sağlayın. Kullanmadan önce, tüpleri kısa süre santrifüj edin.
- Prob çözeltisinin bir pipetle karıştırıldığından ve çözeltinin eşit olarak dağıldığından emin olun.
- Test başına probdan 10 µl alın ve bir mikrosantrifüj tüpüne aktarın. Kalan probu vakit kaybetmeden dondurucuya geri koyun.
- 5 dakikalık ön ısıtma için, probu ve numune lamını 37 °C (+/- 1 °C) ısıtmalı tabla üzerine koyun.
- Prob karışımından 10 µl alıp hücre numunesi üzerine damlatın ve dikkatlice bir lamel uygulayın. Kauçuk çözelti yapıştırıcısıyla kapatın ve yapıştırıcının tamamen kurummasına izin verin.

Denatürasyon

- Lamı ısıtmalı tabla üzerinde 75 °C'de (+/- 1 °C), 2 dakika ısıtarak numuneyi ve probu eş zamanlı olarak denatüre edin.

Hibridizasyon

- Lamı nemli, ışık geçirmez bir kap içinde, 37 °C'de (+/- 1 °C) bir gece bekletin.

Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar

- DAPI'yi dondurucudan çıkarın ve oda sıcaklığında ısınmasını sağlayın.
- Lameli ve yapıştırıcının tüm izlerini dikkatlice kaldırın.
- Lamı 2 dakika boyunca, 72 °C'de (+/- 1 °C) ve ajitasyon olmadan 0,4xSSC (pH 7,0) içine daldırın.
- Lamı kurutun ve 30 saniye boyunca, oda sıcaklığında (pH 7,0) ve ajitasyon olmadan 2xSSC, %0,05 Tween-20 içine daldırın.
- Lamı kurutun ve her bir numuneye 10 µl DAPI renk solması önleyici karışımı uygulayın.
- Bir lamel ile üstünü kapatın, baloncukları giderin ve 10 dakika boyunca karanlıkta bekleterek rengin belirginleşmesini sağlayın.
- Floresan mikroskop kullanarak izleyin (bakınız **Floresan Mikroskop Önerisi**).

Prosedürel Öneriler

- Lamların ısıtılması ya da yıpranması, sinyal floresanını düşürebilir.
- Cytocell Ltd.'nin tedarik ettiği ya da önerdiği reaktifler haricinde reaktifler kullanmak, hibridizasyon koşullarını olumsuz etkileyebilir.
- Bu sıcaklıklar optimum ürün performansı açısından kritik olduğu için, çözelti, su banyosu ve inkübatör sıcaklıklarını ölçmek için kalibre edilmiş bir termometre kullanın.
- Düşük sertlik probun belirsiz bağlanmasıyla ve çok yüksek sertlik sinyal yokluğuyla sonuçlanabileceği için, yıkama konsantrasyonları, pH ve sıcaklıklar önemlidir.
- Tamamlanmamış denatürasyon sinyal yokluğuna, aşırı denatürasyon ise belirsiz bağlanmaya neden olabilir.
- Aşırı hibridizasyon ilave ya da beklenmeyen sinyallerin ortaya çıkmasıyla sonuçlanabilir.

7. Kullanıcılar, testi tanılama amaçlı olarak kullanmadan önce, protokolü kendi numunelerine göre optimize etmelidirler.
8. Optimal altı koşullar, belirsiz bağlanmanın yanlış şekilde prob sinyali olarak yorumlanmasına neden olabilir.

Sonuçların Yorumlanması

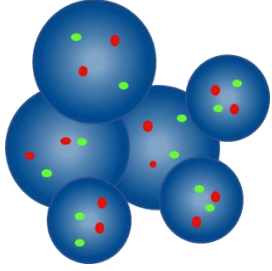
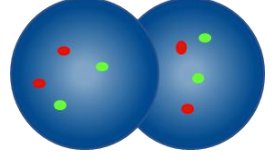
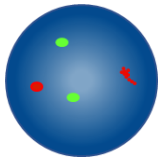
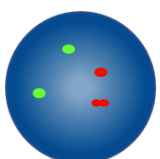
Lam Kalitesinin Değerlendirilmesi

Aşağıdaki durumlarda lam analiz edilmemelidir:

- Sinyaller, tekli filtrelerle analiz yapmak için çok zayıfsa - analize devam etmek için, sinyaller parlak, ayırt edilebilir ve kolay değerlendirilebilir olmalıdır
- Analize engel olan, çok sayıda kümelenmiş/üst üste binmiş hücre varsa
- Hücrelerin >%50'si melezleştirilmemişse
- Hücreler arasında fazla floresan partikül ve/veya sinyalleri bozan bir floresan bulanıklığı varsa - optimal lamlarda arka plan koyu ya da siyah ve temiz görünmelidir
- Hücre çekirdekleri arasında sınırlar ayırt edilemiyorsa ve intakt değilse

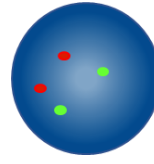
Analiz Kılavuzları

- Her numuneyi iki analist analiz etmeli ve yorumlamalıdır. Herhangi bir tutarsızlık üçüncü bir analist tarafından değerlendirilerek çözümlenmelidir
- Analistlerin hepsi geçerli ulusal standartların öngördüğü vasıflara sahip olmalıdır
- Her analist, her numune için bağımsız olarak 100 çekirdek almalıdır. Birinci analist lamine sol tarafından, ikinci analist lamine sağ tarafından analize başlamalıdır
- Her bir analist elde ettiği sonuçları ayrı tablolara kaydetmelidir
- Yalnızca intakt çekirdekleri analiz edin. Üst üste binmiş, kümelenmiş ya da sitoplazmik kalıntılarla veya yüksek derece otofloresanla kaplı çekirdekleri analiz etmeyin
- Çok fazla sitoplazmik kalıntı ya da belirsiz hibridizasyon olan alanlardan kaçının
- Sinyal yoğunluğu, tek bir çekirdekte bile değişebilir. Bu durumlarda, tekli filtreler kullanın ve/veya odak düzlemini ayarlayın
- Sinyaller optimal altı koşullarda dağınık olarak görünebilir. Eğer aynı rengin iki sinyali birbirine değişiyorsa ya da bu iki sinyalin arasındaki uzaklık iki sinyal genişliğinden daha büyük değilse veya bu iki sinyali birbirine bağlayan zayıf bir zincir varsa, bu iki sinyali tek olarak sayın
- Hücresinin analiz edilebilir olup olmadığından emin değilseniz, analiz yapmayın

Analiz Kılavuzları	
	Saymanın - çekirdeklerin sınırları belirlenemeyecek kadar birbirine çok yakın
	Üst üste binmiş çekirdekleri saymanın - her iki çekirdeğin tüm alanları görünmez
	İki kırmızı sinyal ve iki yeşil sinyal olarak sayın - iki kırmızı sinyalden biri dağınıktır
	İki kırmızı sinyal ve iki yeşil sinyal olarak sayın - bir kırmızı sinyaldeki boşluk iki prob genişliğinden azdır

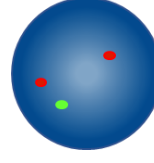
Beklenen Sonuçlar

Beklenen Normal Sinyal Örüntüsü

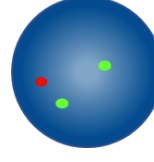


Normal bir hücrede, iki kırmızı ve iki yeşil sinyal (2K2Y) olması beklenir.

Beklenen Anormal Sinyal Örüntüsü



ATM silinmesi olan bir hücrede, iki kırmızı ve bir yeşil sinyal (2K1Y) beklenir.



TP53 silinmesi olan bir hücrede, bir kırmızı ve iki yeşil sinyal (1K2Y) beklenir.

Anöploid/dengesiz numunelerde diğer sinyal örüntüleri mümkündür.

Bilinen İlgili Etkileşimler/Etkileşen Maddeler

Bilinen ilgili etkileşim/etkileşen madde yok.

Bilinen Çapraz Reaktivite

Bilinen çapraz reaktivite yok.

Olumsuz Durum Raporlama

Avrupa Birliği ve benzer düzenleyici rejimin (*In vitro* Tıbbi Tanılama Cihazları hakkında (EU) 2017/746 Yönetmeliği) olduğu ülkelerde bulunan hastalar/kullanıcılar/üçüncü taraflar için; bu cihazın kullanımı sırasında ya da sonucunda olumsuz bir durum meydana gelirse, lütfen bunu Üreticiye ve Yetkili Ulusal Makama rapor edin.

Diğer ülkelerdeki olumsuz durumlar için, lütfen bunu Üreticiye ve varsa, Yetkili Ulusal Makama rapor edin.

Üretici vijilans irtibatı: vigilance@ogt.com

AB Yetkili Ulusal Makamları için, vijilans irtibat noktalarının bir listesini şurada bulabilirsiniz:

https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Spesifik Performans Özellikleri

Analitik Belirlilik

Analitik belirlilik, doğru lokusa melezleştirilmiş ve başka bir konuma melezleştirilmemiş sinyallerin yüzdesi olarak tanımlanır. Periferik kandan alınan beş (5) karyotipik olarak normal erkek 3:1 metanol/asetik asit sabitlenmiş hücre numunesinde bulunan yirmi (20) metafaz hücresinin her birinde dört (4) kromozomal lokus analiz edildi ve 400 veri noktası elde edildi. Her melezleştirilmiş probun konumu haritalandı ve doğru lokusa melezleştirilmiş metafaz kromozomundaki FISH sinyallerinin sayısı kaydedildi.

Kit içerisindeki her probun analitik belirliliği, doğru lokusa melezleştirilmiş metafaz kromozomundaki FISH sinyallerinin sayısının melezleştirilmiş metafaz kromozomundaki FISH sinyallerinin toplam sayısına bölünmesiyle hesaplandı, bulunan sonuç 100 ile çarpıldı, yüzde olarak ifade edildi ve %95 güven aralığında verildi.

Tablo 1. P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe için Analitik Belirlilik

Hedef	Melezleştirilmiş metafaz kromozomlarının sayısı	Doğru melezleştirilmiş lokus sayısı	Analitik Belirlilik	%95 Güven Aralığı
17p13	200	200	%100	%98,12- %100
11q22.3	200	200	%100	%98,12- %100

Analitik Hassasiyet

Analitik hassasiyet, beklenen normal sinyal örüntüsü olan, skorlanabilir interfaz hücrelerinin yüzdesidir. Bir TP53 veya ATM silinmesi için negatif olan, kemik iliğinden 25 sabitlenmiş hücre süspansiyonunun her biri için en az 200 interfaz çekirdek analiz edildi ve bunun sonucunda her numune tipi için minimum 5000 puanlanan çekirdek elde edildi. Hassasiyet verileri, beklenen normal sinyal örüntüsü gösteren hücrelerin yüzdesine dayanarak analiz edildi ve %95 güven aralığında bir yüzde olarak ifade edildi.

Tablo 2. P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe için Analitik Hassasiyet

Numune Tipi	Hassasiyet Kriterleri	Hassasiyet Sonucu
Kemik İliği	>%95	%96,32 (%95,59- %97,05)

Normal Eşik Değerleri Karakterizasyonu

Normal eşik değeri, bir bireyin normal olarak kabul edilebileceği ve klinik bir tanı ile tutarlı olmadığı yanlış bir pozitif sinyal örüntüsü gösteren hücrelerin yüzdesi olarak tanımlanır. Bir TP53 veya ATM silinmesi için negatif olan, kemik iliğinden 25 sabitlenmiş hücre süspansiyonunun her biri için en az 200 interfaz çekirdek analiz edildi ve bunun sonucunda her numune tipi için minimum 5000 puanlanan çekirdek elde edildi.

Eşik değeri, MS Excel'deki β -ters (BETAINV) fonksiyonu kullanılarak belirlendi. Normal bir hasta numunesindeki binom dağılımının tek taraflı %95 güven aralığının bir üst sınırını kullanarak yanlış pozitif sinyal örüntüsü gösteren interfaz hücrelerinin yüzdesi olarak hesaplandı.

Tablo 3. P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe için Normal Eşik Değerleri Karakterizasyonu

Numune Tipi	Sinyal Örüntüsü	Eşik Değeri Sonuçları
Kemik İliği	2K1Y	%3,78
	1K2Y	%8,97

Laboratuvarlar eşik değerlerini kendi verilerini kullanarak teyit etmelidir^{7,8}.

Kesinlik

Bu ürünün kesinliği gün içi kesinlik (numuneden numuneye), günler arası kesinlik (günden güne) ve tek bölge lotlar arası kesinlik (lotta lota) cinsinden ölçüldü.

Bu ürünün kesinliğini değerlendirmek için üç (3) numune kullanıldı: bir normal kemik iliği numunesi (çalışmada kullanılmadan önce hem TP53 hem de ATM silinmesi için FISH ile negatif olduğu gösterilmiştir), bir düşük pozitif 2K1Y ATM silinmeli kemik iliği numunesi ve bir düşük pozitif 1K2Y TP53 silinmeli kemik iliği numunesi. Düşük pozitif kemik iliği numuneleri, belirlenen eşik değerini yüklemek için 2-4 kat aralığında eşik değeri olan düşük pozitif numuneleri oluşturmak amacıyla, negatif kemik iliği numunesi oranı kullanılarak ve buna bilinen pozitif kemik iliği numunesi eklenerek tasarlanmıştır.

Gün içi ve günler arası kesinliği belirlemek için numuneler, ardışık olmayacak şekilde belirlenmiş on (10) farklı tarih boyunca değerlendirildi ve lotta lota kesinliği belirlemek için, aynı numunelerin üç (3) kopyası üzerinde üç (3) ürün lotu değerlendirildi. Sonuçlar, öngörülen negatif sınıfla olan genel uyum olarak sunuldu (negatif numuneler için).

Tablo 4. P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe için Yeniden Üretilirlik ve Kesinlik

Değişken	Numune tipi	Uyum
Gün içi (numuneden numuneye) ve günler arası (günden güne) yeniden üretilebilirlik	Kemik İliği Negatif	%100
	Kemik İliği Düşük Pozitif 2K1Y (ATM silinmesi)	%96,7
	Kemik İliği Düşük Pozitif 1K2Y (TP53 Silinmesi)	%100
Lotta lota yeniden üretilebilirlik	Kemik İliği Negatif	%100
	Kemik İliği Düşük Pozitif 2K1Y (ATM Silinmesi)	%88,9
	Kemik İliği Düşük Pozitif 1K2Y (TP53 Silinmesi)	%100

Klinik Performans

Ürünün amaçlanan silinmeleri tespit etmesini sağlamak amacıyla, ürün için amaçlanan popülasyonun temsili numuneleri üzerinde bir (1) retrospektif çalışmada klinik performans sağlandı: doğrulanmış veya şüpheli kronik lenfositik lösemili (KLL) hastalardan alınan hematolojik olarak türetilmiş hücre süspansiyonları sabitlenmiş Carnoy çözeltisi (3:1 metanol/asetik asit). Çalışmanın numune boyutu, on bir (11) pozitif ve on dokuz (19) ATM silinmesi negatif örnek ve on bir (11) pozitif ve on dokuz (19) TP53 silinmesi negatif örnekten oluşan hedef popülasyonla otuz (30) örnek olmuştur. Tüm sonuçlar yeniden tanımlandı ve sonuçlar daha sonra numunenin bilinen durumuyla karşılaştırıldı. Prob, her durumda numunelerin durumunu doğru bir şekilde tanımladı.

Bu testlerin sonuçları, tek boyutlu bir yaklaşım kullanarak pozitif sinyaller için klinik hassasiyet, klinik belirlilik ve yanlış pozitif oran (FPR) değerleri sağlamak amacıyla analiz edildi.

Tablo 5. P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe için Klinik Performans - ATM Silinmesi

Değişken	Sonuç
Klinik Hassasiyet (gerçek pozitif oran, TPR)	%99,93
Klinik Belirlilik (gerçek negatif oran, TNR)	%99,99
Yanlış Pozitif oran (FPR) = 1 – Belirlilik	%0,01

Tablo 6. P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe için Klinik Performans – TP53 Silinmesi

Değişken	Sonuç
Klinik Hassasiyet (gerçek pozitif oran, TPR)	%100,0
Klinik Belirlilik (gerçek negatif oran, TNR)	%100,0
Yanlış Pozitif oran (FPR) = 1 – Belirlilik	%0,00

Güvenlilik ve Performans Kısa Özeti (SSP)

SSP, Temel UDI-DI'ye bağlı olduğu tıbbi cihazlar hakkında Avrupa veritabanı (Eudamed) yoluyla halka açık olacaktır.

Eudamed URL'si: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Temel UDI-DI: 50558449LPH052JJ

Eudamed tam olarak çalışmıyorsa SSP@ogt.com adresine e-posta göndererek talep edilmesi üzerine SSP halka açık olacaktır.

Ek Bilgiler

Ürüne ilgili daha fazla bilgi almak için lütfen CytoCell Teknik Destek Bölümü ile iletişime geçin.

Tel.: +44 (0)1223 294048

E-posta: techsupport@cytocell.com

Web sitesi: www.ogt.com

Referanslar

- Dohner, et al. N Eng J Med. 2000;343:1910-1916.
- Rossi D, et al. Blood. 2013 Feb 21;121(8):1403-12.
- Baliakas P, et al. Leukemia. 2014;(April):1-8.
- WHO Classification of Tumours Editorial Board. Haematolymphoid tumours [Internet; beta version ahead of print]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2022 [cited 2023 December 18]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
- Stankovic, et al., Blood. 2004;103(1):291-300.
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Van Dyke DL, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16–23.

Semboller Sözlüğü

EN ISO 15223-1:2021 - "Tıbbi cihazlar - Üretici tarafından sağlanacak bilgilerde kullanılacak semboller - Bölüm 1: Genel gereklilikler" (© International Organization for Standardization)		
Sembol	Başlık	Referans Numarası/Numaraları
	tr: Üretici	5.1.1
	tr: Avrupa Topluluğu'nda/Avrupa Birliği'nde yetkili temsilci	5.1.2
	tr: Son kullanım tarihi	5.1.4
	tr: Parti kodu	5.1.5
	tr: Katalog numarası	5.1.6
	tr: Güneş ışığından koruyun	5.3.2
	tr: Sıcaklık sınırı	5.3.7
	tr: Kullanım talimatlarına bakın	5.4.3
 ogt.com/IFU	tr: Elektronik kullanım talimatlarına bakın	5.4.3
	tr: Dikkat	5.4.4
	tr: <i>In vitro</i> tıbbi tanılama cihazı	5.5.1
	tr: <n> test için yeterlidir	5.5.5
	tr: Benzersiz Cihaz Tanımlayıcısı	5.7.10
IVD reaktifleri ve bileşenleri için EDMA sembolleri, Ekim 2009 revizyonu		
Sembol	Başlık	Referans Numarası/Numaraları
	tr: İçindekiler (veya içerikler)	Uygulanamaz

Patentler ve Markalar

CytoCell, CytoCell Limited'in tescilli ticari markasıdır.



CytoCell Limited
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
BİRLEŞİK KRALLIK

Tel.: +44 (0)1223 294048
E-posta: probes@cytoCell.com
Web sitesi: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Deelböge 19 D
22297 Hamburg
ALMANYA

Web sitesi: www.sysmex-europe.com

IFU Sürüm Geçmişi

V001 2024-01-08: (EU) 2017/746 Yönetmeliği için yeni IFU
V002 2025-08-29: UKCA işaretinin kaldırılması
V003 2025-09-09: EBM tarapyndan kabul edilen vekiliñ salgysyny üýtgetmek.
EBM tarapyndan kabul edilen vekiliñ telefon nomerini aýyrmak. OGT-faks nomerini aýyrmak.