



A Sysmex Group Company



Kullanım Talimatları (IFU)

REF: CE-LPA 003-S / CE-LPA 003

Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit



YALNIZCA PROFESYONEL KULLANIM İÇİNDİR



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

Kullanım Amacı

CytoCell® Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit, Down veya Patau sendromundan şüphelenilen yüksek riskli hamileliklerde kromozomlar 13 ve 21'i bakım yollarında, kromozom 13q14.2 bölgesi ile kromozom 21q22.1 bölgesinin kopya sayısı durumu bilgisinin hasta yönetimi için önemli olacağı, diğer klinik testler ve laboratuvar testlerine ek olarak tasarlanmıştır.

Kullanım endikasyonları

Bu cihaz, ultrason taraması ve biyokimyasal test gibi onaylanmış tanısal ve klinik bakım yollarında, kromozom 13q14.2 bölgesi ile kromozom 21q22.1 bölgesinin kopya sayısı durumu bilgisinin hasta yönetimi için önemli olacağı, diğer klinik testler ve laboratuvar testlerine ek olarak tasarlanmıştır.

Sınırlamalar

Bu cihaz, bu prob setinde sırasıyla yeşil ve turuncu klonların kapladığı kromozom 13q14.2 ile kromozom 21q22.1 bölgelerini içeren kromozomal materyali tespit etmek için tasarlanmıştır. Bu bölge dışındaki genomik kazançlar veya kayıplar ya da bu bölgenin kısmi kayıp veya kazançları bu cihazla tespit edilemeyecebilir.

Bu cihaz şunlar için kullanılmaz: bağımsız tanılama, birlikte tanılama, popülasyon bazlı tarama, hasta başında test ya da kendi kendine test. Bu cihaz, kullanım amacında belirtilenler dışındaki numune tipleri, hastalık tipleri ya da amaçlar için doğrulanmamıştır.

Bu cihaz, tanılama amaçlı diğer laboratuvar testlerine yardımcı olması için kullanılmamalıdır. 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 ortamında 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 problemleri 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 tavlamanaya hazır hale gelir. Hibridizasyonu takiben, bağırsız ve belirsiz bağlı DNA probu kaldırılır ve DNA vizüalizasyon için karşıt boyayla boyanır. Floresan mikroskop böylece hedef materyal üzerindeki melezleştirilmiş probun görüntülenmesini yapabilir.

Prob Bilgisi

Down Sendromu (DS), kromozom 21'in üçüncü (kısmen ya da tamamen) bir kopyasının varlığının neden olduğu bir otozomal trizomi olup, değişken zihinsel yetersizlik, kas hipotonisi ve eklem laksitesi ile karakterizedir ve genellikle karakteristik bir yüz dismorfizmi ve kardiyak, gastrointestinal, nörosensoryel ya da endokrin kusurları gibi çeşitli anormalliklerle ilişkilendirilir^{1,2}. DS, dünya genelinde

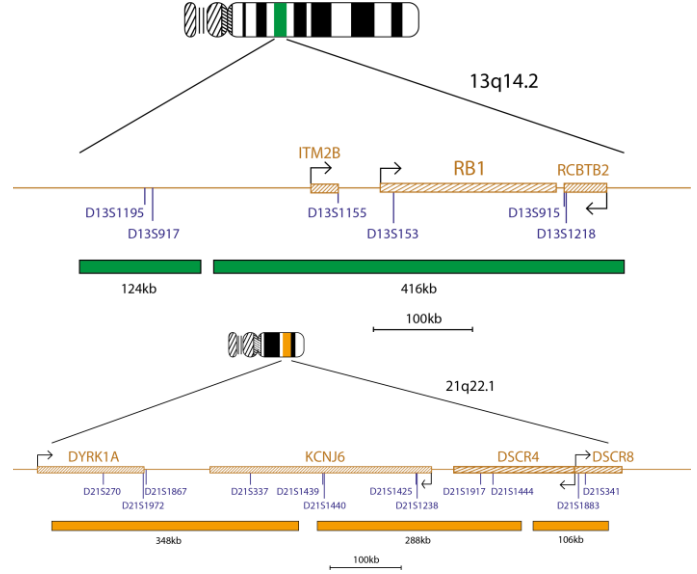
zihinsel yetersizliğin önde gelen nedenlerinden biridir ve bu hastalar aynı zamanda öğrenme ve bellek, konjenital kalp hastalıkları (KKH), Alzheimer hastalığı (AH), lösemi, kanser ve Hirschsprung hastalığı (HH) dahil olmak üzere çeşitli sağlık sorunlarıyla da karşılaşır¹. DS'de yüksek genetik karmaşıklık ve fenotip çeşitliliği vardır¹. Hamileliğin 16. haftasında, DS hamileliklerinin insidansı 20 yaşındaki anneler için 1050'de 1, 30 yaşındaki anneler için 620'de 1 ve 40 yaşındaki anneler içinse 70'te 1'dir³.

Patau Sendromu (PS), fazladan bir kromozom 13 varlığının neden olduğu bir kromozomal anormallik olup, beyin malformasyonları (holoprosensefali), yüz dismorfizmi, oküler anormallikler, postaksiyel polidaktili, viseral malformasyonlar (kardiopati) ve ciddi psikomotor gerilik ile karakterizedir². PS, embriyonik evrede prekordal mezodermde kusurlu füzyon nedeniyle fenotipik holoprosensefali ve orta hat füzyon anormallikleri ile ilişkilendirilir⁴. Hamileliğin 16. haftasında, PS hamileliklerinin insidansı 20 yaşındaki anneler için 11000'de 1, 30 yaşındaki anneler için 6500'de 1 ve 40 yaşındaki anneler içinse 700'de 1'dir³.

Prob Spesifikasyonu

13 benzersiz dizilim, 13q14.2 Yeşil

21 benzersiz dizilim, 21q22.1 Turuncu



Yeşil prob karışımı, *ITM2B*, *RB1* ve *RCBTB2* genlerini kapsayan bir 416kb prob ve bir 124kb prob içerir. Turuncu prob karışımı, 21q22.1 üzerinde *DYRK1A* geninden *DSCR8* genine kadar bir bölgeyi kaplar.

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

Sıcaklık Açıklamaları

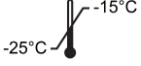
- -20 °C / Donmuş / Dondurucuda: -25 °C ila -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C

DS551/CE-tr v002.00/2025-08-29 (A001 v4 / A002 v3)

Sayfa 1/5

- 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:

1. Isıtmalı tabla (sert bir tabla ve 80 °C'ye kadar doğru sıcaklık kontrolü)
2. Kalibre edilmiş değişken hacimli mikropipet ve uç aralığı 1 µl-200 µl
3. Doğru sıcaklık kontrolünde (37 °C ve 72 °C) su banyosu
4. Mikrosantrifüj tüpler (0,5 ml)
5. Floresan mikroskop (Lütfen Floresan Mikroskop Önerisi bölümüne bakınız)
6. Faz kontrast mikroskobu
7. Temiz plastik, seramik ya da ısıya dayanıklı cam Coplin kavanozlar
8. Forseps
9. Kalibre edilmiş pH ölçüm cihazı (ya da pH 6,5-8,0 ölçeklenen pH indikatör şeritler)
10. Nemli kap
11. Floresan dereceli mikroskop lensi immersiyon yağı
12. Tezgah üstü santrifüj
13. Mikroskop lamaları
14. 24x24 mm lameller
15. Zamanlayıcı
16. 37 °C inkübatör
17. Kauçuk çözelti yapıştırıcısı
18. Vorteks mikser
19. Dereceli silindirler
20. Manyetik karıştırıcı
21. Kalibre edilmiş termometre

Tedarik Edilmeyen Tercihe Bağlı Teçhizat

1. Sitogenetik kurutma kabini

Gerekli Olan Fakat Tedarik Edilmeyen Reaktifler

1. 20 kat salin-sodyum sitrat (SSC) Çözeltisi
2. %100 Etanol
3. Tween-20
4. 1 M Sodyum hidroksit (NaOH)
5. 1 M Hidroklorik asit (HCl)
6. Arıtılmış su

Floresan Mikroskop Önerisi

Optimal vizüalizasyon 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:

Florofo	Eksitasyon _{max} [nm]	Emisyon _{max} [nm]
Yeşil	495	521
Turuncu	551	572

Mikroskoba yukarıda listelenen ses dalgalarını kapsayan uygun eksitasyon ve emisyon filtrelerinin takıldığından emin olun. Üçlü DAPI/FITC/TRITC bant geçirici filtre, yeşil ve turuncu floroforlar ile karşıt boyanın eş zamanlı görüntülenmesi için optimaldir. Üçlü DAPI/FITC/Teksa Kırmızısı bant geçirici filtre de floroforlar ile DAPI'nın eş zamanlı görüntülenmesi için kullanılabilir.

Doğru şekilde çalıştığından emin olmak için, floresan mikroskobu kullanmadan önce kontrol edin. Floresan mikroskoba 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

Bu kit, laboratuvar ya da kurumsal kılavuzlara göre hazırlanmış olan, Down veya Patau sendromundan şüphelenilen yüksek riskli hamileliklerde kromozomlar 13 ve 21'i numaralandırmada, Carnoy çözeltisinde (3:1 metanol/asetik asit) sabitlenmiş, amniyotik sıvı numunelerinden türetilmiş hücrelerde kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Amniyotik sıvı numunesi toplama işlemi laboratuvar ya da kurumsal kılavuzlara göre yapılmalıdır. Kanlı ya da kahverengi görünümlü numuneler, anne kanı içerebileceği ve yanlış sonuçlara neden olabileceğinden kullanılmamalıdır. Havayla kurutulmuş numuneleri mikroskop lamaları üzerinde standart sitogenetik prosedürlere uygun şekilde hazırlayın. AGT *Sitogenetik Laboratuvar Kılavuzu* numune toplama, kültürlenme, hasat ve lam yapımı için öneriler içermektedir⁵.

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 kaptan, 6 ay boyunca, 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 kaptan, 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 kaptan, 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 kaptan, 4 haftaya kadar muhafaza edin.

Önerilen Lam Ön İşlemi ⁵.

1. 3:1 metanol/asetik asit içinde sabitlenmiş, amniyotik sıvı numunelerinden türetilmiş hücrelerden hazırlanan lamı 37 °C'de 1 saat boyunca 2xSSC'ye daldırın.
2. Lamı 37 °C'de 13 dakika boyunca yeni hazırlanmış pepsin çalışma çözeltisine (100 ml 0,01 M HCl'ye eklenen 5 mg pepsin) yerleştirin.
3. Lamı oda sıcaklığında 5 dakika boyunca fosfat tamponlu salin (PBS) içine daldırın.
4. Lamı fiksasyon sonrası çözeltisine (%0,95 formaldehit: 1,0 ml %37 formaldehit, 0,18 g MgCl₂ ve 39,0 ml PBS) oda sıcaklığında 5 dakika boyunca daldırın.
5. Lamı oda sıcaklığında 5 dakika boyunca PBS içine daldırın.
6. Lamı oda sıcaklığında %70 etanol içine daldırın. Lamı 2 dakika boyunca etanol yıkamasında bekletin.
7. Lamı %70 etanolden çıkarın. 6. adımı %80 etanol, ardından %100 etanolla tekrarlayın.
8. Havayla kurumasına izin verin.

FISH Protokolü

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

Lam Hazırlama (lama yukarıdaki protokole göre ön işlem uygulandıysa bu adımı geçin)

1. 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).
2. Lamı 2 dakika boyunca, oda sıcaklığında ve ajitasyon olmadan 2xSSC içine daldırın.
3. Bir etanol serisinde (%70, %85 ve %100), 2 dakika boyunca, oda sıcaklığında dehidrasyon yapın.
4. Kurumaya izin verin.

Ön Denatürasyon

5. Probu dondurucudan çıkartın ve oda sıcaklığında ısınmasını sağlayın. Kullanmadan önce, tüpleri kısa süre santrifüj edin.
6. Prob çözeltisinin bir pipetle karıştırıldığından ve çözeltinin eşit olarak dağıldığından emin olun.
7. Test başına probdan 10 µl alın ve bir mikrosantrifüj tüpüne aktarın. Kalan probu vakit kaybetmeden dondurucuya geri koyun.
8. 5 dakikalık ön ısıtma için, probu ve numune lamını 37 °C (+/- 1 °C) ısıtmalı tabla üzerine koyun.
9. Prob karışımından 10 µl alıp hücre numunesi üzerine damlatın ve dikkatlice bir lamel uygulayın. Kauçuk çözelti yapıştırıcısıyla kapatın ve yapıştırıcının tamamen kurumasına izin verin.

Denatürasyon

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

Hibridizasyon

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

Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar

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

Prosedürel Öneriler

1. Lamaların ısıtılması ya da yıpranması, sinyal floresanını düşürebilir.
2. Cytocell Ltd.'nin tedarik ettiği ya da önerdiği reaktifler haricinde reaktifler kullanmak, hibridizasyon koşullarını olumsuz etkileyebilir.
3. Bu sıcaklıklar optimum ürün performansı açısından kritik olduğu için, çözelti, su banyosu ve inkübatör sıcaklıklarını ölçmek için kalibre edilmiş bir termometre kullanın.
4. Düşük sertlik probun belirsiz bağlanmasıyla ve çok yüksek sertlik sinyal yokluğuyla sonuçlanabileceği için, yıkama konsantrasyonları, pH ve sıcaklıklar önemlidir.
5. Tamamlanmamış denatürasyon sinyal yokluğuna, aşırı denatürasyon ise belirsiz bağlanmaya neden olabilir.
6. 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

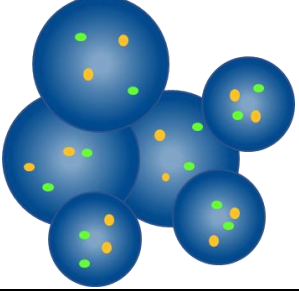
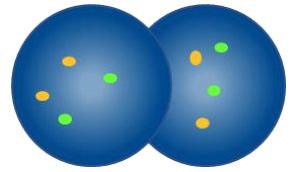
Lam Kalitesinin Değerlendirilmesi

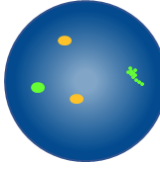
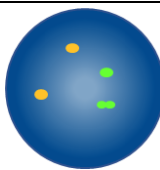
Aşağıdaki durumlarda lam analiz edilmemelidir:

- Sinyaller, tekli filtrelerle analiz yapmak için çok zayıf ya da analiz devam etmek için, sinyaller parlak, ayırt edilebilir ve kolay değerlendirilebilir olmalıdır
- Analize engel olan, çok sayıda kümelenmiş/üst üste binmiş hücre varsa
- Hücrelerin >50'li melezleştirilmemişse
- Hücreler arasında fazla floresan partikül ve/ya da 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

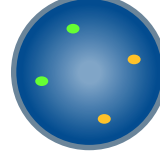
Analiz Kılavuzları

- Her numuneyi iki analist analiz etmeli ve yorumlamalıdır. Herhangi bir tutarsızlık üçüncü bir analist tarafından değerlendirilerek çözülmelidir
- Analistlerin hepsi geçerli ulusal standartların öngördüğü vasıflara sahip olmalıdır
- Her analist, her numuneden yeterli çekirdeği bağımsız olarak skorlamalıdır, böylece birleştirilen analist skorları kurumsal, bölgesel ya da ulusal kılavuzlarca belirtilen minimum kriteri karşılar. Birinci analist lamanın sol tarafından, ikinci analist lamanın 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/ya da odak düzlemini ayarlayın
- Sinyaller optimal altı koşullarda difüze 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 sinyal tek olarak kabul edilir
- İki renkli ayırma probunu analiz ederken, aralarında 2 sinyal genişliğinden daha dar olan bir boşluk bulunan kırmızı ve yeşil sinyaller varsa bunlar yeniden düzenlenmemiş/kaynaştırılmamış sinyal olarak sayılırlar
- Üç renkli ayırma probunu analiz ederken, aralarında 2 sinyal genişliğinden daha dar olan bir boşluk bulunan 3 sinyal (kırmızı, yeşil, mavi) varsa bunlar yeniden düzenlenmemiş/kaynaştırılmamış sinyal olarak sayılırlar
- Hücrenin analiz edilebilir olup olmadığından emin değilseniz, analiz yapmayın

Analiz Kılavuzları	
	Saymayın - çekirdeklerin sınırları belirlenemeyecek kadar birbirine çok yakın
	Üst üste binmiş çekirdekleri saymayın - her iki çekirdeğin tüm alanları görünmez

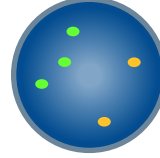
	İki turuncu ve iki yeşil sinyal olarak sayın - iki yeşil sinyalden biri dağınıktır
	İki turuncu ve iki yeşil sinyal olarak sayın - bir yeşil sinyaldeki boşluk iki sinyal genişliğinden azdır

Beklenen Normal Sinyal Örüntüsü

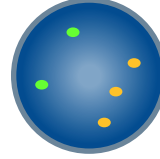


Normal bir hücrede, iki yeşil ve iki turuncu sinyal (2Y2T) olması beklenir.

Beklenen Anormal Sinyal Örüntüleri



Trizomi 13 olan bir hücrede, üç yeşil ve iki turuncu sinyal (3Y2T) beklenmektedir.



Trizomi 21 olan bir hücrede, iki yeşil ve üç turuncu sinyal (2Y3T) beklenmektedir.

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 Yetkili Ulusal Makama rapor edin.

Üretici vijilans irtibatı: vigilance@ogt.com

AB Yetkili Ulusal Makamları için, vijilans temas 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. Beş numunede bulunan 20 metafaz hücresinin her birinde dört 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 kromozomu FISH sinyallerinin toplam melezleştirilmiş metafaz kromozomu FISH sinyali sayısına bölünmesiyle hesaplandı, bulunan sonuç 100 ile çarpıldı, yüzde olarak ifade edildi ve %95 güven aralığında verildi.

Tablo 1. Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit için Analitik Belirlilik

Hedef	Melezleştirilmiş metafaz kromozomlarının sayısı	Doğru melezleştirilmiş lokus sayısı	Analitik Belirlilik	%95 Güven Aralığı
21q22.1	200	200	%100	%98,12-%100
13q14.2	200	200	%100	%98,12-%100

Analitik Hassasiyet

Analitik hassasiyet, beklenen normal sinyal örüntüsü olan, skorlanabilir interfaz hücrelerinin yüzdesidir. Kromozomlar 13 ve 21 için normal bir komplemana sahip olduğu FISH ya da karyotip ile doğrulanan karyotipik olarak normal erkekler ya da dişilerden alınan amniyotik sıvı numunelerinden 25 sabitlenmiş hücre süspansiyonunun her biri için en az 50 interfaz hücresi analiz edildi ve bunun sonucunda her numune tipi için minimum 1250 puanlanan çekirdek elde edildi. Hassasiyet verileri, beklenen normal bir sinyal düzenini gösteren hücrelerin yüzdesine dayanarak analiz edildi ve %95 güven aralığında bir yüzde olarak ifade edildi.

Tablo 2. Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit için Analitik Hassasiyet

Örnek Tipi	Hassasiyet Kriterleri	Hassasiyet Sonucu
Amniyotik sıvı	>%95	%96,24 (%94,84-97,64)

Normal Kesim 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. Kromozomlar 13 ve 21 için normal bir komplemana sahip olduğu FISH ya da karyotip ile doğrulanan karyotipik olarak normal erkekler ya da dişilerden alınan amniyotik sıvı numunelerinden 25 sabitlenmiş hücre süspansiyonunun her biri için en az 50 interfaz hücresi analiz edildi ve bunun sonucunda her numune tipi için minimum 1250 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. Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit için Normal Eşik Değerleri Karakterizasyonu

Örnek Tipi	Eşik Sonuçları
Amniyotik Sıvı	%8,97

Laboratuvarlar, eşik değerlerini kendi verilerini kullanarak ve kendi tanı ortamlarında geçerli olabilen kurumsal, bölgesel ya da profesyonel en iyi uygulama kılavuzları uyarınca *doğrulamalıdır*^{6,7}.

Kesinlik

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

Bu ürünün kesinliğini değerlendirmek için üç (3) numune kullanıldı: bir normal amniyotik sıvı, bir Düşük Pozitif trizomi 13 amniyotik sıvısı (3Y2T) ve bir Düşük Pozitif trizomi 21 amniyotik sıvısı (2Y3T). Düşük Pozitif amino sıvısı numuneleri, 2-4 kat aralığında eşik değeri olan bir düşük pozitif numune oluşturmak amacıyla, normal amniyotik sıvı numunesi oranı kullanılarak ve buna bilinen pozitif amniyotik sıvı numunesi eklenerek tasarlanmıştır.

Gün içi ve günler arası kesinliği belirlemek için numuneler, ardışık olmayacak şekilde belirlenmiş 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 sınıfa yapılan genel anlaşma olarak sunulmuştur (negatif örnekler için).

Tablo 4. Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit için Yeniden Üretilirlik ve Kesinlik

Değişken	Numune tipi	Uyum
Gün içi ve günler arası hassasiyet	Amniyotik sıvı Negatif	%100
	Amniyotik sıvı Düşük Pozitif Trizomi 13 (3Y2T)	%100
	Amniyotik sıvı düşük Pozitif Trizomi 21 (2Y3T)	%96,7
Lotta lota kesinlik	Amniyotik sıvı Negatif	%88,9
	Amniyotik sıvı Düşük Pozitif Trizomi 13 (3Y2T)	%100
	Amniyotik sıvı düşük Pozitif Trizomi 21 (2Y3T)	%100

Klinik Performans

Ürünün amaçlanan yeniden düzenlemeleri tespit etmesini sağlamak amacıyla, ürün için amaçlanan popülasyonun temsili numuneleri üzerinde yapılan üç çalışmada klinik performans sağlandı: Prenatal amniyotik sıvı numunelerinden alınan kalıntı 3:1 metanol/asetik asit sabitlenmiş materyal. Çalışmanın numune boyutu, 15 tane trizomi 13 pozitif ve 157 tane trizomi 13 negatif örnek ve toplamda 109 tane trizomi 21 pozitif ve 63 tane trizomi 21 negatif örnekten oluşan popülasyonla 172 örnek

olmuştur. 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. Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit için Klinik Performans

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: 50558449LPA003GL

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

Ek Bilgiler

Ürünle ilgili daha fazla bilgi almak için, CytoCell Teknik Destek Bölümü ile iletişime geçin.

Tel: +44 (0)1223 294048

E-posta: techsupport@cytozell.com

Web sitesi: www.ogt.com

Referanslar

- Asim A, Kumar A vd. Down syndrome an insight of the Disease. Journal of Biomedical Science, 2015;22(41):1-9
- <https://www.orpha.net/>
- Gardner, R. and Amor, D. Gardner and Sutherland's Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling. 5th ed: OUP USA, 2018
- Noriega MA, Siddik AB. s.l. Trisomy 13: StatPearls[Internet], Treasure Island[FL], updated 2021.
- Arsham, MS., Barch, MJ. Ve Lawce HJ. (editörler) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, vd. 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, Dyke DLV, 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
F: +44 (0)1223 294986
E-posta: probes@cytoCell.com
Web sitesi: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Bornbarch 1
22848 Norderstedt
ALMANYA

Tel: +49 40 527260
Web sitesi: www.sysmex-europe.com

IFU Sürüm Geçmişi

V001.00 2023-01-11: (EU) 2017/746 Yönetmeliği için yeni IFU
V002 2025-08-29: UKCA işaretinin kaldırılması.