A Sysmex Group Company

CytoCell

Kullanım Talimatları (IFU)

REF: CE-LPH 011-S / CE-LPH 011

ATM Deletion Probe

CE IVD
2797

YALNIZCA PROFESYONEL KULLANIM İÇİNDİR

ogt.com/IFU

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

Kullanım Amacı
CytoCell® ATM Deletion Probe, doğrulanmış veya şüpheli kronik lenfositik lösemili (KLL) hastalardan alınan, Carnoy çözeltisinde (3:1 metanol/asetik asit) sabitlenmiş ve hematolojik olarak türetilmiş hücre süspansiyonlarında kromozom 11 üzerindeki 11q22.3 bölgesinde kromozomal silmeleri tespit etmek için kullanılan, kalitatif, otomatik olmayan bir floresans *yerinde* hibridizasyon (FISH) testidir.

Kullanım endikasyonu
Bu cihaz, onaylanmış tanısal ve klinik bakım yollarında, *ATM* silinmesi durumu bilgisinin klinik yönetim için önemli olacağı, diğer klinik ve histopatolojik testlere ek olarak tasarlanmıştır.

Sınırlamalar
Bu cihaz, *ATM* bölgesini içeren bu prob setinde kırmızı klonun kapladığı 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 amacında 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 raporlaması 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 bulundurmalıdır.
Bu cihaz yalnızca laboratuvarda profesyonel kullanım içindir.
Protokole bağlı kalınmaması performansı etkileyebilir ve yanlış pozitif/negatif sonuçlara neden olabilir.

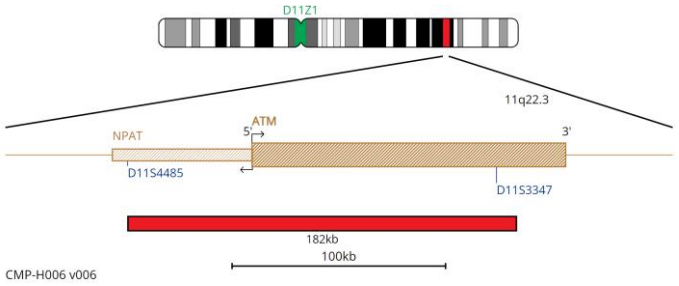
Test Prensipleri
Floresans *yerinde* hibridizasyonu (FISH), DNA dizilimlerinin metafaz kromozomlar üzerinde ya da sabit sitogenetik numunelerden alınan interfaz çekirdeklerde tespit edilmesine yardımcı olan bir tekniktir. Bu teknik, tüm kromozomları ya da tekli özgün dizilimleri melezleştiren DNA problarını kullanır ve G bantlı sitogenetik analizin güçlü bir yardımcısıdır. 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 tavlanmaya hazır hale gelir. Hibridizasyonu takiben, bağsız 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
11q22.3'te protein kinaz *ATM* (*ATM serin/treoninekinaz*) geni, B hücresi kronik lenfositik lösemi (KLL) durumlarında sıklıkla silinir. *ATM*, hücre hasarı yönetiminde yer alan önemli bir kontrol noktası genidir. Hücrede bulunan DNA hasarı seviyesini değerlendirme ve DNA hasarı tepki yolunda yer alan ana substratları fosforilasyon yaparak tamir etmeye çalışma işlevini yürütür[1].

Yetişkinlerde en sık görülen lösemi B-KLL'dir; ilerleyişi çok yavaş ile çok hızlı arasında değişkenlik gösterir. Lösemik hücrelerin *in vitro* düşük mitotik aktivitesine bağlı olarak klonal kromozomal anormallikler, B hücre mitojenleri kullanılarak konvansiyonel sitogenetiklerle vakaların %40-50'sinde[2] tespit edilirken, FISH analizi B-KLL'lerin yaklaşık %80'indeki[2] kromozomal bozuklukları tanımlar. *ATM* ve/veya *TP53* silinmesi için tarama, B-KLL hastaları için bilinçli tedavi seçeneklerine olanak sağlanmasında hayati önem taşır. Bunun nedeni *TP53* ve *ATM* silinmelerinin bu hastalıkta kötü prognoz sağlamasıdır[4]. Buna istinaden FISH kullanımının, B-KLL'li hastaların hem teşhisinde hem de yönetiminde güçlü bir araç olduğu kanıtlanmıştır[2,3,4].

B-KLL'deki *ATM/TP53* etkileşiminin analizi, *TP53* ve *ATM*'nin lenf kanserinin proliferasyonunda önemli bir rol oynadığını göstermiştir[1]. *ATM*'nin, hasarın hücrenin apoptozis (*TP53*'ün aracılık ettiği) tarafından imha edilmesini gerektirecek kadar büyük olması durumunda *TP53* fosforilasyonunu arttırdığı gösterilmiştir. *ATM*'nin silinmesi, bu kontrol noktası etkinliğini ve böylece *TP53*'ün etkinleştirilmesini ortadan kaldırır. Bu nedenle, *TP53* varlığına rağmen hasarlı hücrelerin onarımı veya apoptozisi yapılmaya çalışılmamıştır. *ATM* yokluğunda hasarlı hücrelerin proliferasyona devam etmesine izin verilir[5].

Prob Spesifikasyonu
ATM, 11q22.3, Kırmızı
D11Z1, 11p11.11-q11, Yeşil



ATM probu, 182kb uzunluğunda ve kırmızı etiketli olup, *NPAT* geninin telomerik ucundan ve D11S3347 işaretçisinin hemen ötesindeki *ATM* geninin sentromerik ucundan oluşur. Prob karışımı, yeşil renkle etiketlenmiş 11 sentromer (D11Z1) için bir kontrol probu da içerir.

Tedarik Edilen Materyaller
Prob: Viyal başına 50µl (5 test) ya da viyal başına 100µl (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 laboratuvarda 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'yı 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 problarla 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
• 72 °C:	+72 °C ± 1 °C
• 75 °C:	+75 °C ± 1 °C
• Oda Sıcaklığı (RT):	+15 °C ila +25 °C

Muhafaza ve Kullanım
-15°C / -25°C
Bu kit, kit etiketinde belirtilen son kullanma tarihine kadar -25 ºC ile -15 ºC 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 kapta muhafaza edin. Etikette 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 ºC'ye kadar doğru sıcaklık kontrolü)
2. Kalibre edilmiş değişken hacimli mikropipet ve uç aralığı 1 µl-200 µl
3. Doğru sıcaklık kontrolünde (37 ºC ve 72 ºC) 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 ölçebilen pH indikatör şeritler)
10. Nemli kap
11. Floresan dereceli mikroskop lensi immersiyon yağı
12. Tezgah üstü santrifüj
13. Mikroskop lamları
14. 24x24 mm lameller
15. Zamanlayıcı
16. 37 ºC 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:

Florofor	Eksitasyon$_{max}$ [nm]	Emisyon$_{max}$ [nm]
Yeşil	495	521
Kırmızı	596	615

Mikroskoba yukarıda listelenen ses dalgalarını 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 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, Carnoy çözeltisi (3:1 metanol/asetik asit) içinde sabitlenmiş, hematolojik olarak türetilmiş hücre süspansiyonlarında kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Havayla kurutulmuş numuneleri mikroskop lamları üzerinde standart sitogenetik prosedürlere uygun şekilde hazırlayın. AGT *Sitogenetik Laboratuvar Kılavuzu* numune toplama, kültürleme, hasat ve lam yapımı için öneriler içermektedir[6].

Çözelti Hazırlama
Etanol Çözeltileri
Takip eden oranları kullanarak %100 etanolü arıtılmış su ile seyreltin ve iyice karıştırın:
- %70 Etanol-7 birim %100 etanol ve 3 birim arıtılmış su
- %85 Etanol-8,5 birim %100 etanol ve 1,5 birim arıtılmış su

Çözeltileri hava geçirmeyen bir kapta, 6 ay boyunca, oda sıcaklığında muhafaza edin.

2xSSC Çözeltisi
1 birim 20xSSC Çözeltiyi 9 birim arıtılmış 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 arıtılmış 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 arıtılmış 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: Probun ve karşıt boyanın laboratuvar ışıklarına maruz kalmamasına her zaman dikkat edin).

Lam Hazırlama
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 ºC (+/- 1 ºC) 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 ºC'de (+/- 1 ºC), 2 dakika ısıtarak numuneyi ve probu eş zamanlı olarak denatüre edin.

Hibridizasyon
11. Lamı nemli, ışık geçirmez bir kap içinde, 37 ºC'de (+/- 1 ºC) 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 ºC'de (+/- 1 ºC) 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**).

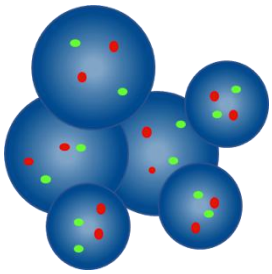
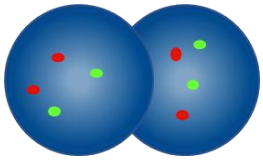
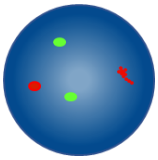
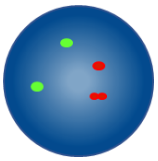
Prosedürel Öneriler
1. Lamların ısıtılması ya da yıpranması, sinyal floresanını düşürebilir.
2. Cytocell Ltd.'nin tedarik ettiği ya da önerdiği reaktifler haricinde reaktifler kullanmak, hibridizasyon koşullarını olumsuz etkileyebilir.
3. Bu sıcaklıklar optimum ürün performansı açısından kritik olduğu 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 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/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 değillerse

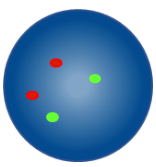
Analiz Kılavuzları

- 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 numune için bağımsız olarak 100 çekirdek almalıdır. Birinci analist lamın sol tarafından, ikinci analist lamın 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 değiyorsa 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 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 sinyal genişliğinden azdır

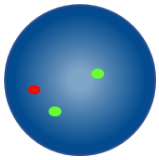
Beklenen Sonuçlar

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, 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

Yeşil D11Z1 probu, 1c, Xc ve 17c'ye çapraz hibridizasyon sinyalleri gösterebilir.

Olumsuz Durum Raporlama

Avrupa Birliği ve benzer düzenleyici rejimin (*İn 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@oqt.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 yirmi 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. ATM Deletion Probe için Analitik Belirlilik

Hedef	Melezleştirilmiş metafaz kromozomlarının sayısı	Doğru melezleştirilmiş lokus sayısı	Analitik Belirlilik	%95 Güven Aralığı
11q22.3	200	200	%100	%98,12-%100
11p11.11-11q11	200	200	%100	%98,12-%100

Analitik Hassasiyet

Analitik hassasiyet, beklenen normal sinyal örüntüsü olan, skorlanabilir interfaz hücrelerinin yüzdesidir. Kemik iliğinden 25 sabitlenmiş hücre süspansiyonu ve periferik kandan 25 sabitlenmiş hücre süspansiyonunun her biri için en az 100 interfaz hücresi analiz edildi ve bunun sonucunda her numune tipi için minimum 2500 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. ATM Deletion Probe için Analitik Hassasiyet

Örnek Tipi	Hassasiyet Kriterleri	Hassasiyet Sonucu
Kemik iliği	>%95	%97,48 (%96,58-%98,38)
Periferik Kan	>%95	%96,88 (%95,60-%98,16)

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. Kemik iliğinden 25 sabitlenmiş hücre süspansiyonu ve periferik kandan 25 sabitlenmiş hücre süspansiyonunun her biri için en az 100 interfaz hücresi analiz edildi ve bunun sonucunda her numune tipi için minimum 2500 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. ATM Deletion Probe için Normal Eşik Değerleri Karakterizasyonu

Örnek Tipi	Eşik Sonuçları
Kemik İliği	%9,77
Periferik Kan	%10,58

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 bölgeli lotlar arası kesinlik (lottan lota) cinsinden ölçülmüştür.

Bu ürünün kesinliğini değerlendirmek için iki numune kullanıldı: kemik iliği negatif ve belirlenen eşik değeri civarında ürüne yükleme yapmak için oluşturulan kemik iliği düşük pozitif numune.

Gün içi ve günler arası kesinliği belirlemek için numuneler, ardışık olmayacak şekilde belirlenmiş 10 farklı tarih boyunca değerlendirildi ve lottan lota kesinliği belirlemek için, aynı numunelerin üç kopyası üzerinde üç ürün lotu değerlendirildi. Sonuçlar, öngörülen negatif sınıfla yapılan genel anlaşma olarak sunulmuştur (negatif örnekler için).

Tablo 4. ATM Deletion Probe için Yeniden Üretilebilirlik 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	%100
Lottan lota yeniden üretilebilirlik	Kemik İliği Negatif	%100
	Kemik İliği Düşük Pozitif	%100

Klinik Performans
Ürünün amaçlanan yeniden düzenlemeleri tespit etmesini sağlamak amacıyla, ürün için amaçlanan popülasyonun temsili numuneleri üzerinde yapılan üç çalışmada klinik performans sağlandı: hematolojik olarak türetilmiş örneklerden alınan 3:1 metanol/asetik asit sabitlenmiş materyal. Çalışmanın numune boyutu, 11 negatif kemik iliği numunesi, 3 negatif periferik kan numunesi, 10 pozitif kemik iliği numunesi ve 3 pozitif periferik kan numunesinden oluşan, 13 pozitif örnek ve 14 negatif örneğin bulunduğu hedef popülasyon ile 27 örnek olmuştur. 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. ATM Deletion Probe için Klinik Performans

Değişken	Sonuç
Klinik Hassasiyet (gerçek pozitif oran, TPR)	%100,00
Klinik Belirlilik (gerçek negatif oran, TNR)	%100,00
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: 50558449LPH011J4

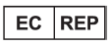
Eudamed tam olarak çalışmıyorsa, SSP@ogt.com adresine e-posta göndererek talep edilmesi üzerine SSP halka açık olacaktır.

Ek Bilgiler
Ürünle ilgili daha fazla bilgi almak için, CytoCell Teknik Destek Bölümü ile iletişime geçin.
Tel: +44 (0)1223 294048
E-posta: techsupport@cytocell.com
Web sitesi: www.ogt.com

Referanslar

1. Stankovic, *vd*. Blood. 2004;103(1):291-300.
2. Dohner, *vd*. N Eng J Med. 2000;343:1910-1916.
3. Zent, *vd*. Blood. 2010;115(21):4154-4155.
4. Rossi, *vd*. Blood. 2013;121(8):1403-1412.
5. Khanna, *vd*. Nature Genetics. 1998;20(4):398-400.
6. Arsham, MS., Barch, MJ. Ve Lawce HJ. (editörler) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
7. 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.
8. 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

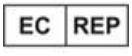
EN ISO 15223-1:2021 - "Tıbbi cihazlar - Üretici tarafından sağlanacak bilgilerde kullanılacak semboller - Bölüm 1: Genel gereklilikler" (© International Organization for Standardization)		
Sembol	**Başlık**	**Referans Numarası/Numaraları**
	**tr:** Üretici	5.1.1
	**tr:** Avrupa Topluluğu'nda/Avrupa Birliği'nde 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:** *İn vitro* 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 2026-10-29: (EU) 2017/746 Yönetmeliği için yeni IFU