



A Sysmex Group Company



Kullanım Talimatları (IFU)

REF: CE-LPH 036-S / CE-LPH 036

EV11 (MECOM) Breakapart Probe



YALNIZCA PROFESYONEL KULLANIM İÇİNDİR



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

Kullanım Amacı

Bu cihaz *MECOM* bölgesini (yeşil prob), *MECOM* genine telomerik bir bölgeyi (kırmızı prob) ve *MECOM* genine sentromerik bir bölgeyi (açık mavi prob) içeren bu prob setindeki kırmızı, yeşil ve açık mavi klonlarla bağlanmış bölgedeki kırılma noktalarına sahip yeniden düzenlemeleri tespit etmek için tasarlanmıştır. Bu bölgelerin dışındaki kırılma noktaları ya da tümüyle bu bölge dahilinde olan varyant yeniden düzenlemeler bu cihazla tespit edilemeyebilir.

Kullanım Endikasyonları

Bu cihaz, *MECOM* yeniden düzenleme durumu bilgisinin klinik yönetim için önemli olacağı onaylanmış tanısal ve klinik bakım yollarında diğer klinik ve histopatolojik testlere ek olarak tasarlanmıştır.

Sınırlamalar

Bu cihaz *MECOM* bölgesini (yeşil prob), *MECOM* genine telomerik bir bölgeyi (kırmızı prob) ve *MECOM* genine sentromerik bir bölgeyi (açık mavi prob) içeren bu prob setindeki kırmızı, yeşil ve açık mavi klonlarla bağlanmış bölgedeki kırılma noktalarına sahip yeniden düzenlemeleri tespit etmek için tasarlanmıştır. Bu bölgelerin dışındaki kırılma noktaları ya da tümüyle bu bölge dahilinde olan varyant yeniden düzenlemeler 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 raporlanması ve yorumlanması, uygun vasıflara sahip personel tarafından yapılmalı, profesyonel uygulama standartlarıyla tutarlı olmalıdır ve ilgili diğer test sonuçları, klinik ve tanılama bilgileri 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 çekirdeklere 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 tavlınmaya hazır hale gelir. Hibridizasyonu takiben, bağımsız ve belirsiz bağlı DNA probu kaldırılır ve DNA vizüalizasyon için karşıt boyayla boyanır. Floresan mikroskopisi böylece hedef materyal üzerindeki melezleştirilmiş probun vizüalizasyonunu yapabilir.

Prob Bilgisi

3q26.2'deki *MECOM* (MDS1 ve EV11 karmaşık lokusu) onkogeni sıklıkla miyelodisplastik neoplazmalar ve *MECOM* yeniden düzenlemeli (AML) akut miyeloid lösemi gibi miyeloid kaynaklı hematolojik malignitelere yeniden düzenlenir. Neoplastik miyeloid hücrelerde ekspresyonu miyeloid farklılaşmasını, hücre döngüsü düzenlemesini ve hücre sinyalleşme yollarını¹ bozar.

Bu düzensiz ekspresyonun nedeni, en sık rastlanan (~%40) iki sapma ile birlikte 3q26.2'yi içeren bir kromozomal yeniden düzenlemedir; bu sapmalar t(3;3)(q21;q26.2) ve inv(3)(q21q26.2)'dir¹. 30'un üzerinde ek 3q26.2 yeniden düzenlemesi tanımlanmıştır, bunların çoğu moleküler düzeyde karakterizedir¹.

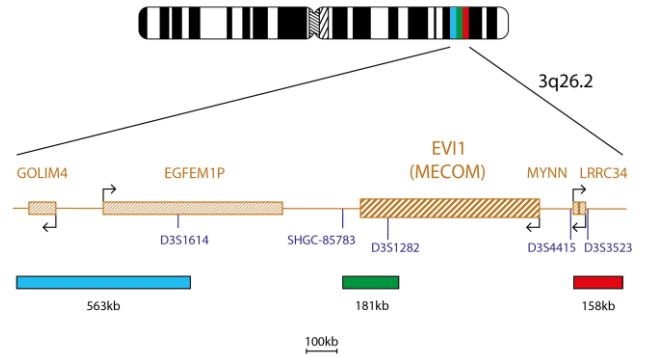
Translokasyonlar ve inversiyonlar için kırılma noktaları büyük ölçüde değişkendir. *MECOM* yeniden düzenlemeleri çok heterojendir ve konvansiyonel sitogenetik ile tespit edilmesi zor olabilir; bu durum FISH'i tespitler için yararlı bir araç haline getirir. Varyant t(3;v)(q26.2;v) kırılma noktaları *MECOM*'un 3' proksimalinden MDS1-EV11 promotörünün 5' distaline uzanarak yeşil prob tarafından kapsanır. Bu nedenle bu translokasyonlar için beklenen sinyal örüntüsü kırılma noktasının konumuna bağlı olarak değişir². *MECOM* yeniden düzenlemelerine yönelik testler hem MDS hem de AML'de önerilir³.

MECOM yeniden düzenlemeli AML, blast yüzdesinden bağımsız olarak kısa sağkalımla seyreden agresif bir hastalıktır ve diğer ortaklarla *MECOM* yeniden düzenlemelerine kıyasla inv(3)/t(3;3) içeren vakalar arasında sonuç açısından bir fark yoktur¹. MDS risk sınıflandırması yaş, sitopenilerin şiddeti ve sitogenetik bulgular gibi değişkenleri kapsar¹.

Prob Spesifikasyonu

EV11, 3q26.2, Kırmızı
EV11, 3q26.2, Yeşil
EV11, 3q26.2, Açık Mavi

CMP-H021 v008.00



EV11 prob karışımının kırmızı bileşeni, D3S4415 işaretçisine telomerik 158 kb'lık bir probdan oluşur ve *LRR34* genini de içerir. Yeşil bileşen, *EV11 (MECOM)* geninin sentromerik bölümünü ve D3S1282 işaretçisinin ötesini içeren 181 kb'lık bir bölgeyi kapsar. Açık mavi bileşen, D3S1614 işaretçisini içeren *EV11* genine sentromerik 563 kb'lık bir bölgeyi kapsar.

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
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Oda Sıcaklığı (RT): +15 °C ila +25 °C

Muhafaza ve Kullanım

-25°C -15°C Bu kit, kit etiketinde belirtilen son kullanma tarihine kadar -25 °C ile -15 °C arasında bir dondurucuda muhafaza edilmelidir. Prob ve karşıt boya vialleri 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 vialin dondurucudan çıkarılması ve dondurucuya yerleştirilmesinden oluşur) - 50 µl (5 test) vial FISH probu için 5 döngü, 100 µl (10 test) vial FISH probu için 10 döngü ve 150 µl (15 test) vial 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 kalmasının 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 mikroskopu
- Temiz plastik, seramik ya da ısıya dayanıklı cam Coplin kavanozlar
- Forseps
- Kalibre edilmiş pH ölçüm cihazı (ya da pH 6,5-8,0 ölçülebilen 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)
- Artırılmış 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 _{maks.} [nm] | Emisyon _{maks.} [nm] |
|-----------|-------------------------------------|----------------------------------|
| Açık Mavi | 418 | 467 |
| Yeşil | 495 | 521 |
| Kırmızı | 596 | 615 |

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

Açık mavi spektrumun en iyi şekilde görüntülenebilmesi için tekli açık mavi spektrum bant geçirici filtre ya da yeşil, kırmızı ve açık mavi floroforların eş zamanlı görüntülenmesi için üçlü kırmızı spektrum/yeşil spektrum/açık mavi spektrum bant geçirici filtre kullanın.

Doğru şekilde çalıştığından emin olmak için, floresan mikroskopu 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

Bu kit, laboratuvar ya da kurumsal kılavuzlara göre hazırlanmış olan, doğrulanmış veya şüpheli akut miyeloid lösemili (AML) ya da miyelodisplastik neoplazmalı (MDS) hastalardan alınan, Carnoy çözeltisi (3:1 metanol/asetik asit) içinde sabitlenmiş, hematolojik olarak türetilmiş hücre süspansiyonlarında kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Havayla kurutulmuş numuneleri mikroskop lamaları üzerinde

standart sitogenetik prosedürlere uygun şekilde hazırlayın. AGT *Sitogenetik Laboratuvar Kılavuzu* numune toplama, kültürleme, hasat ve lam yapımı için öneriler içermektedir⁴.

Çözelti Hazırlama

Etanol Çözeltileri

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

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

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

2xSSC Çözeltisi

1 birim 20xSSC Çözeltiyi 9 birim artırılmış 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 artırılmış 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 artırılmış 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.

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 pipette 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 kurumasına 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

- Lamaları 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 yokluğuyula 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

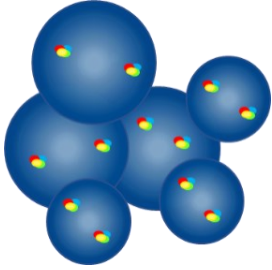
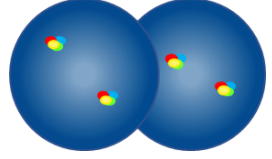
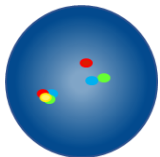
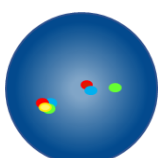
Lam Kalitesinin Değerlendirilmesi

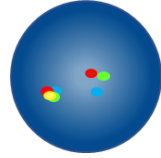
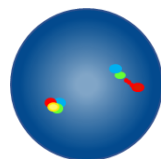
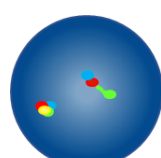
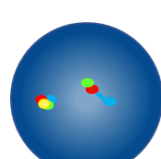
Aşağıdaki durumlarda lam analiz edilmemelidir:

- 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

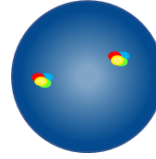
- Her numuneyi iki analist analiz etmeli ve yorumlamalıdır. Herhangi bir tutarsızlık üçüncü bir analist tarafından değerlendirilerek çözümlenmelidir
- Analistlerin hepsi geçerli ulusal standartların öngördüğü vasıflara sahip olmalıdır
- Her analist, her numune için bağımsız olarak 100 çekirdek almalıdır. Birinci analist lamin sol tarafından, ikinci analist lamin 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
- Üç renkli ayırma probunu analiz ederken, aralarında 2 sinyal genişliğinden daha dar olan bir boşluk bulunan 3 sinyal (kırmızı, yeşil, açık 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 |
|  | 2 füzyon sinyali olarak sayın - kırmızı ile yeşil/açık mavi sinyal arasındaki mesafe iki prob genişliğinden azdır |
|  | 2 füzyon sinyali olarak sayın - yeşil ve kırmızı/açık mavi sinyal arasındaki mesafe iki prob genişliğinden azdır |

| | |
|--|---|
|  | 2 füzyon sinyali olarak sayın - açık mavi ile kırmızı/yeşil sinyal arasındaki mesafe iki prob genişliğinden azdır |
|  | 2 füzyon sinyali olarak sayın - kırmızı sinyal sağ üst füzyonda difüzdür |
|  | 2 füzyon sinyali olarak sayın - yeşil sinyal sağ üst füzyonda difüzdür |
|  | 2 füzyon sinyali olarak sayın - açık mavi sinyal sağ üst füzyonda difüzdür |

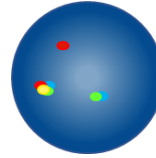
Beklenen Sonuçlar

Beklenen Normal Sinyal Örüntüsü

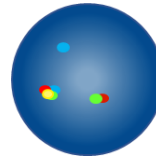


Normal bir hücrede, iki kırmızı/yeşil/açık mavi füzyon sinyali beklenir (2KYA).

Beklenen Anormal Sinyal Örüntüleri



Yeşil proba distal olan kırılma noktalarına sahip bir t(3;3)(q21;26.2) veya bir t(3;v)(q26.2;v) içeren bir hücrede beklenen sinyal örüntüsü bir kırmızı/yeşil/açık mavi füzyon sinyali, bir yeşil/açık mavi füzyon ve bir kırmızı sinyal (1KYA1YA1K) olacaktır.



Yeşil proba proksimal olan kırılma noktalarına sahip, bir inv(3)(q21q26.2) veya bir t(3;v)(q26.2;v) içeren bir hücrede beklenen sinyal örüntüsü bir kırmızı/yeşil/açık mavi füzyon sinyali, bir kırmızı/yeşil füzyon ve bir açık mavi sinyal (1KYA1KY1A) olacaktır.

Anöploid/dengesiz numunelerde diğer sinyal örüntüleri mümkündür.

Bilinen İlgili Etkileşimler/Etkileşen Maddeler

Bilinen ilgili etkileşim/etkileşen madde yok.

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@oqt.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. Beş numunede bulunan yirmi metafaz hücrelerinin her birinde iki kromozomal lokus analiz edildi ve bileşen başına 200 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. EV11 (MECOM) Breakapart Probe için Analitik Belirlilik

| Hedef | Melezleştirilmiş metafaz kromozomlarının sayısı | Doğru melezleştirilmiş lokus sayısı | Analitik Belirlilik | %95 Güven Aralığı |
|--------|---|-------------------------------------|---------------------|-------------------|
| 3q26.2 | 200 | 200 | %100 | %98,12-%100 |
| 3q26.2 | 200 | 200 | %100 | %98,12-%100 |
| 3q26.2 | 200 | 200 | %100 | %98,12-%100 |

Analitik Hassasiyet

Analitik hassasiyet, beklenen normal sinyal örüntüsü olan, skorlanabilir interfaz hücrelerinin yüzdesidir. Bir MECOM yeniden düzenlemesi için negatif olan, kemik iliğinden 25 sabitlenmiş hücre süspansiyonunun her biri için en az 200 interfaz hücre 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. EV11 (MECOM) Breakapart Probe için Analitik Hassasiyet

| Numune Tipi | Hassasiyet Kriterleri | Hassasiyet Sonucu |
|-------------|-----------------------|------------------------|
| Kemik iliği | >%95 | %99,14 (%98,89-%99,39) |

Normal Eşik Değerleri Karakterizasyonu

Normal eşik değeri, bir bireyin normal olarak kabul edilebileceği ve klinik bir tanı ile tutarlı olmadığı yanlış pozitif sinyal örüntüsü gösteren hücrelerin yüzdesi olarak tanımlanır. MECOM yeniden düzenlemesi için negatif olan 25 kemik iliği numunesinin her biri için en az 200 interfaz hücre 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. EV11 (MECOM) Breakapart Probe için Normal Eşik Değerlerinin Karakterizasyonu

| Numune Tipi | Eşik Değeri Sonuçları |
|-------------|-----------------------|
| Kemik iliği | %4 |

Laboratuvarlar eşik değerlerini kendi verilerini kullanarak teyit etmelidir^{5,6}.

Yeniden Üretilebilirlik

Şunları belirlemek üzere yeniden üretilebilirlik çalışmaları yapılmıştır:

- 3 bölgeli Gün içi yeniden üretilebilirlik (numuneden numuneye)
- 3 bölgeli Günler arası yeniden üretilebilirlik (günden güne)
- 3 bölgeli Bölgeler arası yeniden üretilebilirlik (bölgeden bölgeye)
- Tek bölgeli Lotlar arası yeniden üretilebilirlik (lotta lota)

Yeniden üretilebilirlik, sinyal örüntüsü başına 6 (yeniden düzenleme için iki negatif, eşik değerinin 1-3 katı olan iki düşük pozitif numune ve yeniden düzenleme için pozitif hücrelerin %45'inden fazlasını içeren iki yüksek pozitif numune) olmak üzere toplam 12 kör numune test eden üç ayrı laboratuvar tarafından oluşturuldu. Analiz, art arda olmayan 5 gün boyunca her bir numunenin 2 kopyası kullanılarak gerçekleştirildi.

Her 3 bölge de aynı prob lotunu kullanarak gün içi, günler arası ve bölgeler arası testler gerçekleştirdi. Ayrıca bölgelerden birinde 3 farklı prob lotu kullanılarak lotlar arası yeniden üretilebilirlik de test edildi.

Sonuçlar, öngörülen negatif sınıfla (negatif numuneler için) ve öngörülen pozitif sınıfla (pozitif numuneler için) olan genel uyum olarak sunuldu.

Tablo 4a. EV11 (MECOM) Breakapart Probe için Yeniden Üretilebilirlik ve Kesinlik – İnversiyon Sinyal Örüntüsü

| Değişken | Numune tipi | Uyum |
|---|----------------------------|------|
| Gün içi (numuneden numuneye), günler arası (günden güne) ve bölgeler arası yeniden üretilebilirlik (bölgeden bölgeye) | Kemik iliği Negatif | %100 |
| | Kemik iliği Düşük Pozitif | %63 |
| | Kemik iliği Yüksek Pozitif | %100 |
| Lotlar arası (Lotta lota) yeniden üretilebilirlik | Kemik iliği Negatif | %92 |
| | Kemik iliği Düşük Pozitif | %67 |
| | Kemik iliği Yüksek Pozitif | %100 |

Tablo 4b. EV11 (MECOM) Breakapart Probe için Yeniden Üretilebilirlik ve Kesinlik – Translokasyon Sinyal Örüntüsü

| Değişken | Numune tipi | Uyum |
|---|----------------------------|------|
| Gün içi (numuneden numuneye), günler arası (günden güne) ve bölgeler arası yeniden üretilebilirlik (bölgeden bölgeye) | Kemik iliği Negatif | %100 |
| | Kemik iliği Düşük Pozitif | %98 |
| | Kemik iliği Yüksek Pozitif | %100 |
| Lotlar arası (Lotta lota) yeniden üretilebilirlik | Kemik iliği Negatif | %100 |
| | Kemik iliği Düşük Pozitif | %100 |
| | Kemik iliği Yüksek Pozitif | %100 |

Farklı düşük pozitiflik seviyesi (eşik değerinin 2 ve 4 katı) olan 2 numune ve 1 negatif numune kullanılarak, aşağıdakileri belirlemek üzere inversiyon sinyali örüntüsüne yönelik düşük pozitif sonuçları desteklemek için ek bir yeniden üretilebilirlik çalışması gerçekleştirilmiştir:

- Tek bölgeli Gün içi yeniden üretilebilirlik (numuneden numuneye)
- Tek bölgeli Günler arası yeniden üretilebilirlik (günden güne)
- Tek bölgeli Operatörler arası yeniden üretilebilirlik (operatörden operatöre).

Yeniden üretilebilirlik 1 prob lotu kullanılarak belirlendi, her numunenin 2 kopyası üzerinde değerlendirildi, 2 farklı operatör tarafından ardışık olmayan 5 gün boyunca test edildi.

Sonuçlar, öngörülen pozitif sınıfla (pozitif numuneler için) olan genel uyum olarak sunuldu.

Tablo 4c. EV11 (MECOM) Breakapart Probe için Yeniden Üretilebilirliği ve Kesinliği destekleyen ek veriler – İnversiyon Sinyal Örüntüsü

| Değişken | Numune tipi | Uyum |
|---|--|------|
| Gün içi (numuneden numuneye), günler arası (günden güne) ve operatörler arası yeniden üretilebilirlik (operatörden operatöre) | Kemik iliği Düşük pozitif (eşik değeri 2 katı) | %100 |
| | Kemik iliği Düşük pozitif (eşik değeri 4 katı) | %100 |

Klinik Performans

Ürünün amaçlanan yeniden düzenlemeleri tespit etmesini sağlamak amacıyla, ürün için amaçlanan popülasyonun aşağıda belirlenen temsili numuneleri üzerinde yapılan 3 çalışmada klinik performans sağlandı: Doğrulanmış veya şüpheli miyelodisplastik sendromu (AML) veya miyelodisplastik neoplazmaları (MDS) olan hastalardan Carnoy çözeltisi (3:1 metanol/asetik asit) içinde sabitlenmiş, hematolojik olarak türetilmiş hücre süspansiyonları. Çalışmalar, yedi (7) pozitif translokasyon ve yüz on bir (111) negatif translokasyondan oluşan hedef popülasyonla toplam yüz on sekiz (118) örneklik bir numune boyutu ile yüz on bir (111) negatif inversiyon ve sekiz (8) pozitif inversiyon içeren toplam yüz on dokuz (119) örneklik bir numune boyutuna sahiptir. Sonuçlar daha sonra numunenin bilinen durumuyla karşılaştırıldı. Sonuçların uyumu/uyumsuzluğunun, bu çalışma için kabul edilebilirlik kriterlerini sağladığı bulundu.

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. EV11 (MECOM) Breakapart Probe için Klinik Performans – Translokasyon

| Değişken | Sonuç |
|--|--------|
| Klinik Hassasiyet (gerçek pozitif oran, TPR) | %99,94 |
| Klinik Belirlilik (gerçek negatif oran, TNR) | %99,97 |
| Yanlış Pozitif oran (FPR) = 1 – Belirlilik | %0,03 |

Tablo 6. EV11 (MECOM) Breakapart Probe için Klinik Performans – İnversiyon.

| Değişken | Sonuç |
|--|--------|
| Klinik Hassasiyet (gerçek pozitif oran, TPR) | %96,26 |
| Klinik Belirlilik (gerçek negatif oran, TNR) | %99,28 |
| Yanlış Pozitif oran (FPR) = 1 – Belirlilik | %0,72 |

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: 50558449LPH036JL

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@cytozell.com

Web sitesi: www.ogt.com


Referanslar

1. 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 21]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iaarc.who.int/chapters/63>
2. Ottema et al. Atypical 3q26/MECOM rearrangements genocopy inv(3)(t(3;3) in acute myeloid leukemia. *Blood* (2020)136(2):224–234.
3. Rack et al., *Leukemia* (2019) 33:1851–1867
4. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
5. 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.
6. Wiktor AE, 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 |
|  | 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, Cytozell Limited'in tescilli ticari markasıdır.



Cytozell Limited

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

Tel.: +44 (0)1223 294048

Faks: +44 (0)1223 294986

E-posta: probes@cytozell.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 2024-02-05: (EU) 2017/746 Yönetmeliği için yeni IFU