



A Sysmex Group Company



### Kullanım Talimatları (IFU)

REF: CE-LPH 026-S / CE-LPH 026

## AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe



YALNIZCA PROFESYONEL KULLANIM İÇİNDİR



Daha fazla bilgi ve diğer diller şurada mevcuttur: [ogt.com/IFU](http://ogt.com/IFU)

### Kullanım Amacı

CytoCell® AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe, doğrulanmış veya şüpheli akut miyeloid lösemili (AML) hastalardan alınan, Carnoy çözeltilisinde (3:1 metanol/asetik asit) sabitlenmiş ve hematolojik olarak türetilmiş hücre süspansiyonlarında kromozom 21 üzerindeki 21q22.1 bölgesi ile kromozom 8 üzerindeki 8q21.3 bölgesi arasındaki kromozomal yeniden düzenlemeleri tespit etmek için kullanılan, kalitatif, otomatik olmayan bir floresans *yerinde* hibridizasyon (FISH) testidir.

### Kullanım Endikasyonları

Bu cihaz, onaylanmış tanısal ve klinik bakım yollarında, *AML1::ETO (RUNX1::RUNX1T1)* translokasyon durumu bilgisinin klinik yönetim için önemli olacağı, diğer klinik ve histopatolojik testlere ek olarak tasarlanmıştır.

### Sınırlamalar

Bu cihaz, *AML1* ve *ETO (RUNX1 ve RUNX1T1)* bölgelerini içeren, bu prob setindeki kırmızı ve yeşil klonların kapladığı bölgedeki kırılma noktalarının yeniden düzenlemelerini tespit etmek için tasarlanmıştır. Bu bölge dışındaki kırılma noktaları ya da tümüyle bu bölge dahilinde olan çeşitli 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 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 dizimlerinin 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 dizimlerini melezleştiren DNA problemlerini kullanır ve G bantlı sitogenetik analiz için güçlü bir yardımcıdır. Bu teknik, prenatal, hematolojik ve solid tümör kromozomal analizlerde temel bir araştırma aracı olarak kullanılabilir. Fiksasyon ve denatürasyonun ardından, hedef DNA komplementer bir dizilime sahip, benzer bir denatüre, floresan etiketli DNA probuna tavlana hâle gelir. Hibridizasyonu takiben, bağımsız 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

21q22.1'deki *RUNX1 (RUNX ailesi transkripsiyon faktörü 1)* geni, t(8;21)(q21.3;q22.1) translokasyonundaki Ensembl konumu 8q21.3'te *RUNX1T1 (RUNX1 ortak transkripsiyonel ortak-baskılayıcı 1)* geniyile kaynaştırılmıştır. Bu, genellikle akut miyeloid lösemili (AML) FAB (Fransız-Amerikan-İngiliz sınıflandırması) tip M2 hastalarda görülür.

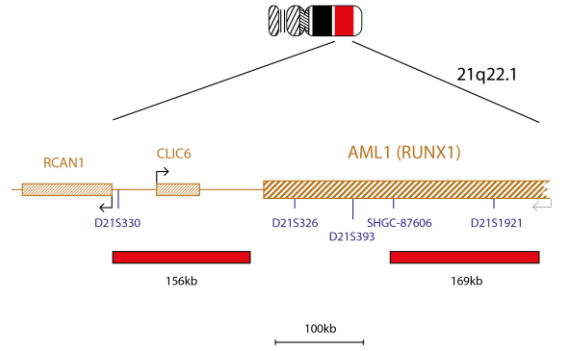
Dünya Sağlık Örgütü (WHO) miyeloid neoplazma ve akut lösemi sınıflandırmasına göre t(8;21)(q21.3;q22.1) translokasyonunun bir sonucu olarak oluşan *RUNX1::RUNX1T1* füzyonlu AML bir hastalık varlığı olarak kabul edilmiştir<sup>1</sup>. Translokasyon, AML FAB tip M2'si olan hastaların %10 ila %22'sinde ve AML vakalarının %5 ila %10'unda görülür; en sık çocuklarda ve genç erişkinlerde görülür ve iyi bir prognostik göstergedir<sup>3,4,5</sup>. t(8;21) kırılma noktası esasen ekson 5 ile 6 arasında, *RUNX1T1* transkripsiyon faktörü ile kaynaşık *RUNX1*'in DNA bağlayıcı alanını içeren transaktivasyon alanı ve füzyon proteini oluşturulmadan hemen önce intronda gerçekleştirilir<sup>2</sup>.

*RUNX1::RUNX1T1* füzyonunu oluşturan karşılıklı t(8;21) translokasyonuna ek olarak, değişken translokasyonlar da bildirilmiştir. Bu değişken yeniden düzenlemeler kriptik olabilir ve G-bandı ile kolayca göz ardı edilebilir, ancak FISH bu tür yeniden düzenlemelerin varlığını gösterebilir<sup>2</sup>.

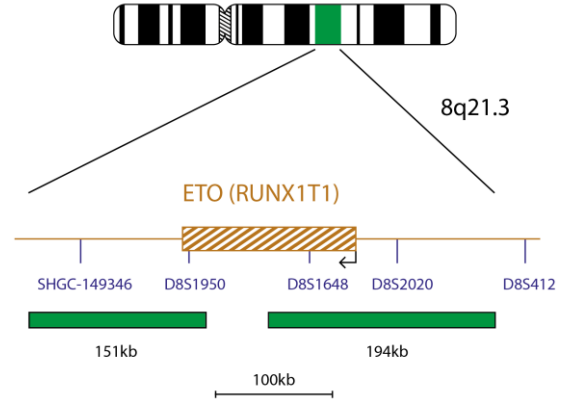
### Prob Spesifikasyonu

AML1, 21q22.1, Kırmızı  
ETO, 8q21.3, Yeşil

CMP-H004 v006.00



CMP-H005 v005.00



AML1 bileşeni, *CLIC6* genini kapsayan *AML1 (RUNX1)* genine sentromerik olarak yerleştirilmiş ve kırmızı etiketli bir 156kb probdan ve *AML1 (RUNX1)* geninin SHGC-87606 ve D21S1921 işaretleyicileri de dahil olmak üzere bir kısmını kapsayan bir 169kb probdan oluşur. Yeşil renkle etiketli ETO (*RUNX1T1*) bileşeni, genin ve yan bölgesinin sentromerik kısmını kapsayan bir 151kb probdan ve genin ve yan bölgesinin telomerik bölümünü kapsayan bir 194kb probdan oluşur.

### Tedarik Edilen Materyaller

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

Problar, hibridizasyon çözeltilisine (<%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.

DS546/CE-tr v001.00/2023-01-11 (H004 v6 / H005 v5)

Sayfa 1/5

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 prolarla 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

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 kapta 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 mikroskopu
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. Artılmış su

#### Floresan Mikroskop Önerisi

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

Florofor	Eksitasyon <sub>max</sub> [nm]	Emisyon <sub>max</sub> [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, doğrulanmış veya şüpheli akut miyeloid lösemili (AML) 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 içermektedir<sup>6</sup>.

#### Çözelti Hazırlama

##### Etanol Çözeltileri

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

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

Çözeltileri hava geçirmeyen bir kapta, 6 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 kapta, 4 haftaya kadar muhafaza edin.

##### 0,4xSSC Çözeltisi

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

##### 2xSSC, %0,05 Tween-20 Çözeltisi

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

#### FISH Protokolü

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

#### Lam Hazırlama

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 pipette 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 kurummasına 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'yi 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 sıcaklık 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

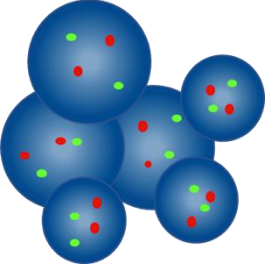
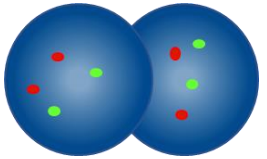
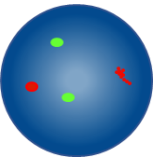
##### Lam Kalitesinin Değerlendirilmesi

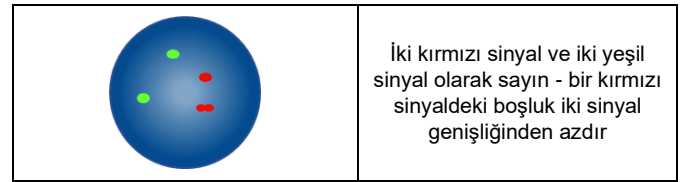
Aşağıdaki durumlarda lam analiz edilmemelidir:

- 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 lamalarda 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 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 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
- Hücrenin analiz edilebilir olup olmadığından emin değilseniz, analiz yapmayın

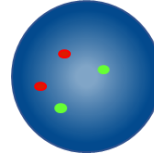
Analiz Kılavuzları	
	Saymanın - çekirdeklerin sınırları belirlenemeyecek kadar birbirine çok yakın
	Üst üste binmiş çekirdekleri saymanın - her iki çekirdeğin tüm alanları görünmez
	İki kırmızı sinyal ve iki yeşil sinyal olarak sayın - iki kırmızı sinyalden biri dağıntıktır



İki kırmızı sinyal ve iki yeşil sinyal olarak sayın - bir kırmızı sinyaldeki boşluk iki sinyal genişliğinden azdır

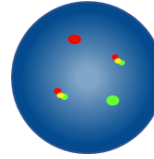
#### Beklenen Sonuçlar

##### Beklenen Normal Sinyal Örüntüsü



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

##### Beklenen Anormal Sinyal Örüntüsü



t(8;21)(q21.3;q22.12) translokasyonu olan bir hücrede, beklenen sinyal örüntüsü bir kırmızı, bir yeşil ve iki füzyon (1K1Y2F) olacaktır.

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](mailto: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](https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en)

#### Spesifik Performans Özellikleri

##### Analitik Belirlilik

Analitik belirlilik, yalnızca doğru lokusa hibritleşen sinyallerin yüzdesidir. Analitik belirlilik, toplam 400 hedef lokusun analiziyle tespit edildi. 5 numunede bulunan 20 metafaz hücresinin her birinde iki kromozomal lokus analiz edildi ve 400 veri noktası elde edildi. Analitik belirlilik, doğru lokusa hibridize olan FISH sinyalleri sayısının, toplam hibridize FISH sinyallerine bölünmesiyle hesaplandı.

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. AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translokation, Dual Fusion Probe için Analitik Belirlilik

Prob	Hedef	Melezleştirilmiş metafaz kromozomlarının sayısı	Doğru melezleştirilmiş lokus sayısı	Analitik Belirlilik (%)	%95 Güven Aralığı (%)
AML1, Kırmızı	21q22.1	200	200	100	98,12-100
ETO, Yeşil	8q21.3	200	200	100	98,12-100

##### Analitik Hassasiyet

Analitik hassasiyet, beklenen normal sinyal örüntüsü olan, skorlanabilir interfaz hücrelerinin yüzdesidir. 25 Carnoy çözeltisinde sabitlenmiş kemik iliği ve karyotipik olarak normal hücre süspansiyonunun her biri için en az 200 interfaz hücre analizi edildi ve bunun sonucunda her numune tipi için minimum 5000 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. AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translokation, Dual Fusion Probe için

## Analitik Hassasiyet

Beklenen sinyal örüntülü hücrelerin sayısı	Skorlanabilir sinyalli hücrelerin toplam sayısı	Analitik Hassasiyet (%)	%95 Güven aralığı (%)
4965	5000	99,3	99,02, 99,58

## Normal Kesim Değerleri Karakterizasyonu

FISH problemleriyle birlikte normal kesim değeri, bir numunenin bu sinyal örüntüsünün normal kabul edileceği spesifik anormal sinyal örüntülü, skorlanabilir arafaz hücresi maksimum yüzdesidir.

Proben tespit etmesi amaçlanan yeniden düzenleme için negatif numuneler ve beta ters işlevi kullanılarak normal eşik değeri belirlenmiştir. Her bir numune için 100 interfaz çekirdeğin sinyal örüntüleri, toplamda her bir numune için 200 olarak iki bağımsız analist tarafından kaydedilmiştir.

Eşik değeri, MS Excel'deki  $\beta$ -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. AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe için Normal Eşik Değerleri Karakterizasyonu

Anormal sinyal örüntüsü	Eşik değeri oluşturmak için analiz edilen numune sayısı	Her numune için değerlendirilen çekirdek sayısı	Maks. yanlış pozitif sinyal örüntüsü sayısı	Normal eşik değeri (%)
1K1Y2F	1290	200	1	2,3

Laboratuvarlar eşik değerlerini kendi verilerini kullanarak teyit etmelidir<sup>7,8</sup>.

## Yeniden Üretilirlik

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, altı kör numune (yeniden düzenleme için iki negatif, eşik değerinin 1 ila 3 katı iki düşük pozitif numune ve yeniden düzenleme için pozitif hücrelerin %45'inden fazlasını içeren iki yüksek pozitif numune) test eden üç ayrı laboratuvar tarafından oluşturulmuştur. Analiz, art arda olmayan beş gün boyunca her bir numunenin iki kopyası kullanılarak gerçekleştirildi.

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

Yeniden üretilebilirlik, her test sırasında incelenen değişkenler arasındaki uyum kullanılarak hesaplandı.

Tablo 4. AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe için Yeniden Üretilirlik

Çalışma	Kriter	Sonuç
Gün içi/Günler arası/Bölgeler arası	%90 Uyum Negatif Sınıf	%100
	%95 Uyum Yüksek Pozitif Sınıf	%100
Lotlar Arası	%90 Uyum Negatif Sınıf	%100
	%95 Uyum Yüksek Pozitif Sınıf	%100

## Klinik Performans

AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation Dual Fusion Probe'un, amaçlanan yeniden düzenlemeleri tespit etmesini sağlamak amacıyla, ürün için amaçlanan popülasyonun temsili numunelerinde yapılan beş çalışmada klinik performans sağlandı: kalıntı 3:1 metanol/asetik asit sabitlenmiş materyal. Çalışmalar, tüm bölgelerde toplamda otuz beş (35) pozitif ve toplamda beş yüz doksan dokuz (599) negatif örnekle toplamda altı yüz otuz dört (634) olan bir numune boyutuna sahip olmuştur. Sonuçların uyumu/uyumsuzluğunun, bu çalışma için kabul edilebilirlik kriterini 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. AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe için Klinik Performans

Değişken	Sonuç
Klinik Hassasiyet (gerçek pozitif oran, TPR)*	%99,74
Klinik Belirlilik (gerçek negatif oran, TNR)*	%99,90
Yanlış Pozitif oran (FPR) = 1 - Belirlilik*	%0,10

## 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: 50558449LPH026JH

Eudamed tam olarak çalışmıyorsa, [SSP@ogt.com](mailto:SSP@ogt.com) adresine e-posta göndererek talep edilmesi üzerine SSP halka açık olacaktır.

## Ek Bilgi

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

Tel: +44 (0)1223 294048

E-posta: [techsupport@cytozell.com](mailto:techsupport@cytozell.com)














Web sitesi: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

## Referanslar


- Swerdlow, vd. (editörler) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC,2017
- Reikvam H, vd. J Biomed Biotechnol. 2011; 2011:104631.
- Grimwade, vd. Blood. 2001;98(5):1312-1320.
- Harrison, vd. Journal of Clinical Oncology. 2010;28(16):2674-2681.
- Grimwade, vd. Blood. 2010;116(3):354-365.
- 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 Topuluğu'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, 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](mailto:probes@cytoCell.com)

Web sitesi: [www.oqt.com](http://www.oqt.com)



#### Systemx Europe SE

Bornbarch 1  
22848 Norderstedt  
ALMANYA

Tel: +49 40 527260

Web sitesi: [www.systemx-europe.com](http://www.systemx-europe.com)

#### IFU Sürüm Geçmişi

V001.00 2023-01-11: (EU) 2017/746 Yönetmeliği için yeni IFU.