

Mentype® AMLplex^{QS}

PCR Amplification Kit

Kullanım Kılavuzu (IFU)



0483

İn vitro tanı kullanımı içindir

AMLIFU02v2tr

23.07.2025



45-12100-0025

45-12100-0100

45-12100-0400



Lot numarası



BIOTYPE GmbH
Moritzburger Weg 67
01109 DRESDEN
GERMANY

Web sitesi: www.biotype.de

E-posta: support@biotype.de

Sipariş: sales@biotype.de



BIOTYPE

Değişiklik Bildirimi

Önceki Kullanım Kılavuzu sürümüne kıyasla aşağıdaki uyarlamalara lütfen dikkat edin:

Belge kodu	Değişiklikler	Tarih
AMLIFU02v1tr	İlk sürüm	28.05.2025
AMLIFU02v2tr	Tablo 8'i Güncelleyin	23.07.2025

Bu Kullanım Kılavuzunun basılı bir sürümü 7 gün içinde ücretsiz olarak sağlanabilir.

Başka sorularınız için lütfen bizimle

+49 351 8838 400 veya support@biotype.de adresinden iletişime geçin

İçerik

Kullanım Amacı	4
Bilimsel Arka Plan	4
Ürün Açıklaması	5
Sağlanan malzemeler	7
Bileşenlerin açıklaması	8
Reaktif depolama ve kullanım	9
Gerekli ancak sağlanmayan malzeme ve cihazlar	9
Genel laboratuvar ekipmanı	9
Reaktifler, kitler ve sarf malzemeleri	10
Cihazlar ve yazılım	11
Örnekler ve Test Örnekleri	12
Uyarılar ve Önlemler	13
Kullanıcıya bildirim	14
Prosedür	14
Deneysel iş akışının genel görünümü	14
Örnek Hazırlama	14
Kontrol hazırlığı	18
Ana karışım hazırlığı	19
PCR amplifikasyonu	21
Kapiller jel elektroforezi	22
PCR ürünlerinin hazırlanması	22
Fragman uzunluğu analizi	23
Veri Analizi	26
Veri analizi için genel prosedür	26
Örnek analizi	29
GeneMapper™ ID-X ile veri analizi	32

Sorun giderme.....	35
Performans Değerlendirmesi.....	38
Kalite Kontrol	48
Teknik Destek.....	48
Referanslar	48
Kullanım Sınırlamaları	49
Sipariş bilgileri	50
Ticari Markalar ve Sorumluluk Reddi Beyanları	50
Sembollerin Açıklaması	51
Ek.....	53

Kullanım Amacı

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kiti, Akut Myeloid Lösemi (AML) şüphesi olan veya bu hastalıktan muzdarip yetişkin hastalar için tanısal, prognostik ve terapötik öneme sahip kromozomal anormalliklerin tanımlanmasını sağlayan, toplamda 34 transkript varyantı ile 11 gen füzyonunun nitel taraması için kullanılmak üzere tasarlanmış manuel bir testtir.

Test, periferik venöz tam kandan veya kemik iliği örneklerinden ekstraksiyonu yapılmış hücresel RNA'dan ters transkripsiyonla elde edilen tamamlayıcı DNA (cDNA) ile kullanılmalıdır.

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit, Akut Myeloid Lösemi ile ilgili klinik kararlar için kromozomal anormallikleri tespit etmede kullanılır. Spesifik genetik translokasyonların tanımlanması, lösemik hastalıkların sınıflandırılmasını sağlar ve hastalar için risk odaklı tedaviyi belirleyen tanısal mantık için önemli bilgiler sunar.

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit, moleküler-genetik teknikler, çoklu PCR ve Thermo Fisher Scientific (Applied Biosystems bölümü) Genetic Analyzer kullanımı konusunda eğitim almış profesyonel laboratuvar kullanıcıları için tasarlanmıştır.

Bilimsel Arka Plan

Spesifik kromozomal anormalliklerin doğrulanması, neredeyse tüm akut lösemi türlerinde yüksek prognostik değere sahiptir. Kromozomal anormalliklerin (translokasyonlar) moleküler biyolojik kanıtı, önemli bir tanısal tamamlamayı temsil eder. Spesifik translokasyonların tespiti, lösemik hastalıkların alt tür sınıflandırmasını sağlar ve hastaların risk odaklı tedavisi için önemli bilgiler sunar.

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit, AML'de şimdiye kadar gözlemlenen en yaygın kromozomal anormalliklerin tespitini kolaylaştırarak kullanımı kolay, rutinle uyumlu ve güvenilir bir tarama aracı temsil eder.

Ürün Açıklaması

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit, toplamda 34 transkript varyantı ile 11 füzyon geninin yüksek çözünürlüklü tespiti için optimize edilmiş reaktifler içerir (bkz. [Tablo 1](#)). Varyantların adlandırılması, özellikle KMT2A için tarihsel olarak belirlenmiş adlandırmalara uyar (Schnittger ve ark., 2000). Genlerin, alternatif adlarının ve sistematik varyant tanımlamaları için kullanılan transkript kimliklerinin tam listesi Ek'te bulunmaktadır (Bkz. [Hedef gen listesi](#)).

Test kiti, kalıptan bağımsız bir iç PCR kontrolü (Quality Sensor “QS-Control”) ve kalıp bağımlı bir cDNA Kontrolü (ABL-Control) içerir ve bu da PCR verimliliği, uygulanan cDNA kalıp kalitesi ve PCR inhibitörlerinin varlığı hakkında faydalı bilgiler sağlar.

Test, kapiller jel elektroforezi kullanılarak fragman analizi ile gerçekleştirilir. Her transkript için bir primer, yardımcı Matrix Standard BT5 multi (BIOTYPE, GmbH) renk spektrumları olan 6-FAM, BTG veya BTY ile floresan etiketlidir.

Tablo 1 Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit ile tespit edilebilen gen füzyonları ve transkript varyantları

Gen füzyonu	Kromozomal anormallik	Varyant	Sistematik varyant açıklaması
RUNX1::RUNX1T1	t(8;21) (q22;q22.1)	-	RUNX1:e6::RUNX1T1:e3
BCR::ABL	t(9;22) (q34.1;q11.2)	e1a3	BCR:e1::ABL1:e3
		e1a2	BCR:e1::ABL1:e2
		b3a2	BCR:e14::ABL1:e2
		b3a3	BCR:e14::ABL1:e3
		b2a2	BCR:e13::ABL1:e2
		b2a3	BCR:e13::ABL1:e3
PICALM::MLLT10	t(10;11) (p12.3;q14.2)	MLLT10_240-PICALM_1987	MLLT10:e3::PICALM:e19
		MLLT10_240-PICALM_2092	MLLT10:e3::PICALM:e20
CBFB::MYH11	inv(16) (p13.1;q22)	Type A	CBFB:e5::MYH11:e33
		Type B	CBFB:e5::MYH11:e32
		Type C	CBFB:e5::MYH11:e31
		Type D	CBFB:e5::MYH11:e29
		Type E	CBFB:e5::MYH11:e28
		Type F	CBFB:e4::MYH11:e33
		Type G	CBFB:e4::MYH11:e29
		Type H	CBFB:e4::MYH11:e28

Gen füzyonu	Kromozomal anormallik	Varyant	Sistematik varyant açıklaması
		Type I Type J	CBFB:e4::MYH11:e34 CBFB:e5::MYH11:e30
DEK::NUP214	t(6;9) (p23.3;q34.1)	-	DEK:e9::NUP214:e18
KMT2A::MLLT4	t(6;11) (q27;q23.3)	-	KMT2A:e8::AFDN:e3
KMT2A::MLLT3	t(9;11) (p21.3;q23.3)	6A (6A_S; 6A_L) 7A 8A 6B	KMT2A:e8::MLLT3:e6 KMT2A:e8::MLLT3:e7 KMT2A:e8::MLLT3:e8 KMT2A:e8::MLLT3:e6
KMT2A::ELL	t(11;19) (q23.3;p13.1)	e10e2 e10e3	KMT2A:e8::ELL:e2 KMT2A:e8::ELL:e3
KMT2A-PTD	Partial Tandem Duplication	e9e3 e10e3 e11e3	KMT2A:e8::KMT2A:e2 KMT2A:e9::KMT2A:e2 KMT2A:e10::KMT2A:e2
NPM1::MLF1	t(3;5) (q25.3;q35.1)	-	NPM1:e6::MLF1:e2
PML::RARA	t(15;17) (q24.1 q21.2)	bcr1 bcr2 bcr3	PML:e6::RARA:e3 PML:e5::RARA:e3 PML:e3::RARA:e3

Test, ~ 300 AML hastasının gen füzyonu taraması ile doğrulanmış ve uygunluğu karşılaştırmalı bir klinik değerlendirme çalışmasında teyit edilmiştir.

Nitel değerlendirme için tespit limiti 400 RFU'dur. Her gen füzyonu için ortalama olarak en az 1000 kopya tespit edilebilir.

Standart koşullar altında ters transkripsiyon reaksiyonuna genel girdi aralığı, tam kandan veya kemik iliğinden izole edilen 100 ng ila 1 µg arasında total RNA olarak tanımlanır.

Ters transkripsiyona optimal girdi kemik iliği için 500 ng RNA ve periferik kan için 1 µg RNA olarak tanımlanır. Sonra PCR sırasında 1 µL cDNA kullanılır.

Sağlanan malzemeler

Tablo 2 Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit içeriği

Reaktif	Kapak rengi		Ambalaj boyutuna göre hacim		
			25 reaksiyon	100 reaksiyon	400 reaksiyon
Nuclease-Free Water	Açık mavi		1,5 mL	2 x 1,5 mL	6 x 1,5 mL
Reaction Mix A	Mor		125 µL	500 µL	2 x 1,0 mL
Mentype® AMLplex ^{QS} Primer Mix	Kırmızı		63 µL	250 µL	4 x 250 µL
Multi Taq 2 DNA Polymerase	Beyaz		10 µL	40 µL	160 µL
Mentype® AMLplex ^{QS} Positive Control	Beyaz		25 µL	25 µL	25 µL
DNA Size Standard 550 (BTO)	Turuncu		13 µL	50 µL	200 µL
Mentype® AMLplex ^{QS} Allelic Ladder	Yeşil		25 µL	25 µL	4 x 25 µL

Bileşen parti numaralarının bir özeti, kutu kapağının iç kısmında bulunan etikette bulunabilir.

NOT

Lütfen ambalaj boyutunun, test sayısını, gerekli kontrollerin veya pipetleme için gerekli fazlalığın sayısını dikkate **almadan** tanımladığını unutmayın.

i

Aşağıdaki boyutun ilgili iş hacmi için kullanılmasını öneririz:

- PCR çalışması başına < 8 örnek: 25 reaksiyon ambalaj boyutu
- PCR çalışması başına 8 - 45 örnek: 100 reaksiyon ambalaj boyutu
- PCR çalışması başına > 45 örnek: 400 reaksiyon ambalaj boyutu

Bileşenlerin açıklaması

Nuclease-Free Water: PCR kurulumu ve no template control (kalıpsız kontrol, NTC) için kullanılan PCR kademe suyu.

Reaction Mix A: dNTP'ler ve MgCl₂ içeren PCR reaksiyon karışımı. PCR tamponu, PCR için enzim aktivitesini teşvik etmek üzere optimize edilmiştir.

Mentype® AMLplex^{QS} Primer Mix: etiketli primer içeren (etiket: 6-FAM™, BTG, BTY) ve etiketsiz primerler içeren çoklu oligonükleotid primer karışımı.

Multi Taq 2 DNA Polimeraz: hot start Taq DNA polimerase, 2,5 U/μL.

Mentype® AMLplex^{QS} Positive Control: beş DNA fragmanından oluşan çift iplikçikli yapay DNA karışımı. Her 3 panelde aşağıdaki hedefler için pozitif olan nitel, dış PCR kontrolü olarak kullanılır: BCR::ABL_b2a3, RUNX1::RUNX1T1, ABL-control, KMT2A-PTD_e11e3 ve PML::RARA_bcr3, ayrıca QS-Control, örnek geçerliliği için bir kalite işareti olarak amplifiye edilir.

NOT



Mentype® AMLplex^{QS} Positive Control, laboratuvar profesyoneli için kritik değildir; çünkü saflaştırılmış, tehlikesiz ve aktif biyolojik işlevleri olmayan ayrı DNA moleküllerinden oluşur. Doğrudan tehdit oluşturabilecek canlı hücreler veya patojenik organizmalar içermez.

DNA Size Standard 550 (BTO): 60 ile 550 bp arasında tanımlı fragman uzunluklarına sahip florofofor etiketli PCR fragmanlarının karışımıdır ve bileşen, fragman uzunluğu analizinden önce her PCR ürününe eklenir ve PCR ürünlerinin fragman uzunluğunu tam olarak belirlemek için boyut regresyonu için kullanılır.

Mentype® AMLplex^{QS} Allelic Ladder: Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit için tespit edilebilir tüm allelleri temsil eden florofofor etiketli PCR fragmanlarının karışımıdır. 6-FAM™ ile etiketlenmiş 22 fragman, BTG ile etiketlenmiş 12 fragman ve BTY ile etiketlenmiş 2 fragman içerir ve kesin allel tanımlaması için bir genotipleme referansı olarak kullanılır.

Reaktif depolama ve kullanım

Kit kuru buz üzerinde gönderilir. Kitin bileşenleri, reaktifin donmasını önleyen bir tamponda saklanan Multi Taq 2 DNA Polimerayı hariç, donmuş olarak gelmelidir.

Lütfen teslim alındığında kitin eksiksiz olduğunu kontrol edin. Geldiğinde çözülmüş olan kitleri kullanmayın. Bir veya daha fazla bileşen donmamışsa veya tüpler veya ambalaj sevkiyat sırasında zarar görmüşse performans garanti edilemez. Tüm bileşenleri -25 °C ile -15 °C arasında ve ışıktan koruyarak saklayın. Özellikle Mentype® AMLplex^{QS} Primer Mix, DNA Size Standard 550 (BTO) ve Mentype® AMLplex^{QS} Allelic Ladder ışıktan korunarak saklanmalıdır.

Kontaminasyonu önlemek için, amplifikasyon öncesi bileşenlerin (RNA ve cDNA örnekleri, Mentype® AMLplex^{QS} Positive Control) ve amplifikasyon sonrası bileşenlerin (DNA Size Standard 550 (BTO) ve Mentype® AMLplex^{QS} Allelic Ladder) PCR reaktiflerinden (Nuclease-Free Water, Multi Taq 2 DNA Polimeraz, Reaction Mix A ve Mentype® AMLplex^{QS} Primer Mix) ayrı olarak saklanmasını ve kullanılmasını öneririz.

Kit kullanım süresi kit kutusu etiketinde belirtilen bilgiye göre veya açıldıktan 24 ay sonra (hangisi önce gelirse) bitecektir. Maksimum 20 dondurma-çözme döngüsünü aşmayın.

Gerekli ancak sağlanmayan malzeme ve cihazlar

Genel laboratuvar ekipmanı

- 2 mL ve 200 µL reaksiyon tüpleri için rotorlu masaüstü santrifüj
- 96 kuyucuklu reaksiyon plakaları için mikrotitre plakaları için rotorlu santrifüj
- Vorteks karıştırıcı
- Kalibre edilmiş ayarlanabilir pipetler ve atılabilir aerosol sıkı filtre uçları
- Uygun 200 µL 96 kuyucuklu reaksiyon plakaları veya 200 µL reaksiyon tüpleri ve ilgili kapatma malzemesi, PCR kademe
- 2 mL ve 200 µL reaksiyon tüpleri için uygun raflar
- 2 mL tüpler için uygun soğutma rafı
- Pudrasız tek kullanımlık eldivenler
- NanoDrop™ One Spectrophotometer veya Qubit™ Fluorometer

NOT**i**

PCR için kullanılan tüm malzemenin uygun kalitede olması gerekir (DNA'sız ve moleküler biyoloji için). Lütfen kullanılan tüm cihazların üreticinin talimatlarına ve önerilerine göre kurulduğundan, kalibre edildiğinden, kontrol edildiğinden ve bakımının yapıldığından emin olun.

Reaktifler, kitler ve sarf malzemeleri**Tablo 3 Gerekli ancak sağlanmayan reaktifler**

Lütfen bazı reaktiflerin ve sarf malzemelerinin belirli kombinasyonlarda kullanıldığını ve her çalışma için hepsinin gerekli olmadığını unutmayın.

Reaktif	Tedarikçi	Sipariş numarası
Matrix Standard BT5 multi (25 µL)	BIOTYPE GmbH	45-15100-0025
Matrix Standard BT5 multi (2 x 25 µL)	BIOTYPE GmbH	45-15100-0050
RNeasy Mini Kit	Qiagen GmbH	74104
RNeasy Plus Mini Kit	Qiagen GmbH	74134
RNeasy Midi Kit	Qiagen GmbH	75144
NucleoSpin Dx RNA Blood (50 preparations)	Macherey-Nagel	740201.50
Maxwell® CSC RNA Blood Kit (48 preparations)	Promega	AS1410
High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit with RNase Inhibitor	Thermo Fisher Scientific	4374966 4374967
SuperScript™ IV First Strand cDNA Synthesis System	Thermo Fisher Scientific	18091050, 18091200
Hi-Di™ Formamide, 25 mL	Thermo Fisher Scientific	4311320
POP-4™ Polymer for 3500/3500xL Genetic Analyzers (384 samples)	Thermo Fisher Scientific	4393715
POP-7™ Polymer for 3500/3500xL Genetic Analyzers (384 samples)	Thermo Fisher Scientific	4393708
Anode Buffer Container (ABC) 3500 Series	Thermo Fisher Scientific	4393927
Cathode Buffer Container (CBC) 3500 Series	Thermo Fisher Scientific	4408256

Reaktif	Tedarikçi	Sipariş numarası
3500 Genetic Analyzer 8-Capillary Array 36 cm	Thermo Fisher Scientific	4404683
3500 Genetic Analyzer 8-Capillary Array 50 cm	Thermo Fisher Scientific	4404685
SeqStudio™ Cartridge	Thermo Fisher Scientific	A33671 A41331
SeqStudio™ Cathode Buffer	Thermo Fisher Scientific	A33401

Cihazlar ve yazılım

Örnek Hazırlama bölümünde açıklandığı gibi, RNA ekstraksiyonu için manuel sütun bazlı ekstraksiyon yöntemlerinin yanı sıra aşağıdaki otomasyon kullanılabilir:

- Maxwell® CSC cihazı (kat. no.: AS6000, Promega)

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit, aşağıdaki PCR termal döngüleyicileriyle kullanılmak üzere doğrulanmıştır:

- ProFlex PCR System (kat. no.: 4484073 (3 x 32 Kuyucuk örnek bloğu), 4484075 (96 Kuyucuk örnek bloğu); Thermo Fisher Scientific)
- GeneAmp® PCR System 9700 Silver (kaldırıldı, Thermo Fisher Scientific)
- Mastercycler nexus gradient (kat. no.: 6331000017, Eppendorf AG)
- Mastercycler ep-S (kaldırıldı, Eppendorf AG)
- Biometra Tadvanced (kat. no.: 846-2-070-211; Analytik Jena)

Belirtilenlerin dışında PCR termal döngüleyicilerin uygulanması kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır. Aşağıdaki özellikler karşılanmalıdır:

- Isıtmalı kapak
- 200 µL reaksiyon plakaları / tüpler için uygun blok
- 4 °C/s'ye ayarlanabilir rampa

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit, aşağıdaki cihaz ve ayarlarla kullanılmak üzere doğrulanmıştır:

- Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific), yazılım sürümü 4.0.1
 - 3500/3500xL Genetic Analyzer için POP-4™ Polymer
 - 3500/3500xL Genetic Analyzer için POP-7™ Polymer
 - 3500 Genetic Analyzer 8-Capillary Array 36 cm
 - 3500 Genetic Analyzer 8-Capillary Array 50 cm
- SeqStudio™ Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific), yazılım sürümü 1.2.4

Veri analizi şu yazılımla gerçekleştirilmiştir:

- GeneMapper™ ID-X software, sürüm 1.6 (Thermo Fisher Scientific); ürüne spesifik ürünler kullanılarak:
 - Analysis Methods: AMLplexIVD_Analysis1_v1x veya AMLplexIVD_Analysis4_v1x veya AMLplexIVD_Analysis7_v1x
 - Bins: AMLplexIVD_Bins1_v1x veya AMLplexIVD_Bins4_v1x veya AMLplexIVD_Bins7_v1x
 - Panels: AMLplexIVD_Panel1_v1x veya AMLplexIVD_Panel4_v1x veya AMLplexIVD_Panel7_v1x
 - Size Standard: BTO_60-550_v1x

Veri analizi ve değerlendirmesi için tanımlanan yazılım olmadan veri toplama için verilen fsa dosyalarının veya herhangi bir sonucun manuel değerlendirmesi doğrulanmamıştır.

NOT



Lütfen kullanılan tüm cihazların üreticinin talimatlarına ve önerilerine göre kurulduğundan, kalibre edildiğinden, kontrol edildiğinden ve bakımının yapıldığından emin olun.

Örnekler ve Test Örnekleri

Aşağıdaki numuneler Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit ile doğrulanmıştır:

- İnsan periferik venöz kan örnekleri (EDTA, sitrat, heparin ve stabilizatör RNA Exact), 4 °C'de saklanır ve RNA saflaştırması için 24 saat içinde işlenir.

- Kemik iliği örnekleri (EDTA, heparin), 4 °C'de saklanır ve RNA saflaştırması için 24 saat içinde işlenir.

Elde edilen RNA, -85 °C ile -70 °C arasında seyreltilmeden saklanmalıdır.

NOT



Lütfen kan toplama için kullanılan antikoagülanın, RNA izolasyon kitinin üretici talimatlarıyla uyumlu olduğundan emin olun.

Uyarılar ve Önlemler

- Ürünü kullanmadan önce Kullanım Kılavuzunu dikkatlice okuyun.
- Tüm BIOTYPE ürünleri için güvenlik veri sayfalarını (SDS) ve tehlikesiz beyanlarını (NHS) okuyun; bunlar talep üzerine veya (www.biotype.de/en/sicherheitsdatenblätter) üzerinden temin edilebilir. Yüksek Risk Arz Eden Maddeler (SVHC) içermedikleri veya 1272/2008 (Sınıflandırma, Etiketleme ve Paketleme, CLP) Yönetmeliğinin diğer kısıtlamalarına tabi olduklarından, güvenlik bilgi formu (SDS) gerektirmeyen ürünler için, BIOTYPE, talep üzerine SDS sağlar.
- Lütfen gerekli ancak sağlanmayan malzeme ve reaktiflerin üreticilerinden, ek olarak ihtiyaç duyulan reaktifler için SDS kopyalarını istemek üzere iletişime geçin.
- Farklı kit partilerinin kit bileşenleri karıştırılmamalıdır.
- Kit bileşenlerinin diğer reaksiyon kaplarına bölünmesine izin verilmez.
- Bu ürünün kullanımı, moleküler-genetik teknikler, çoklu PCR ve Thermo Fisher Scientific Genetic Analyzer ürünlerinin kullanımı konusunda eğitim almış profesyonel laboratuvar kullanıcıları ile sınırlıdır.
- İlk kullanımdan önce, ürün ve bileşenlerini şu açılardan kontrol edin:
 - Bütünlük
 - Sayı, tür ve doluluk açısından eksiksizlik (bkz. bölüm Sağlanan malzemeler)
 - Doğru etiketleme
 - Geldiğinde donmuş olması (Multi Taq 2 DNA Polymerase hariç)
- Numuneler her zaman güvenli laboratuvar prosedürlerine uygun şekilde bulaşıcı ve/veya biyolojik tehlikeli madde olarak muamele görmelidir.
- Son kullanma tarihini geçmiş kitleri kullanmayın.

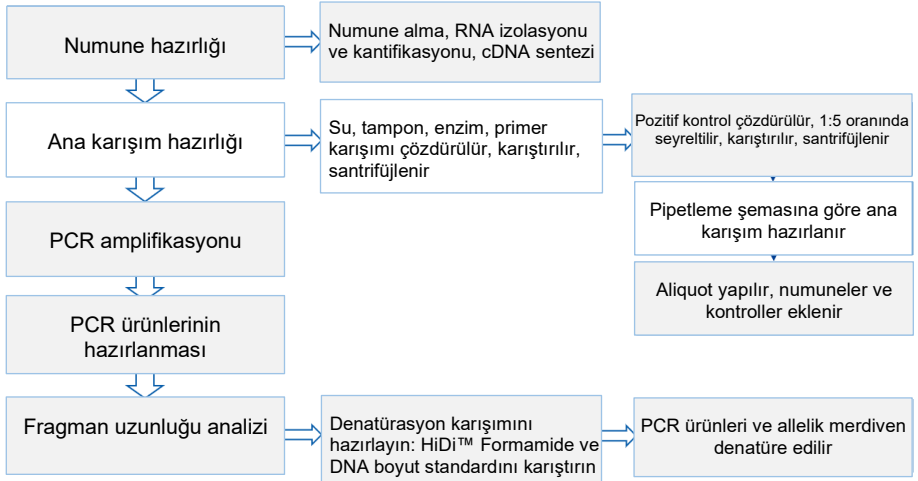
- Örnek ve test atıklarını yerel güvenlik ve bertaraf etme düzenlemelerinize göre atın.
- Kullanılan tüm cihazların üreticinin talimatlarına ve önerilerine göre kurulduğundan, kalibre edildiğinden, kontrol edildiğinden ve bakımının yapıldığından emin olun.

Kullanıcıya bildirim

Ürünle ilgili meydana gelen herhangi bir sorun, kullanıcı tarafından üreticiye bildirilmelidir. Bu kit ile ilgili herhangi bir ciddi olay, kullanıcı ve/veya hastanın bulunduğu üye devletlerin uygun yetkili makamına ve üreticiye bildirilmelidir. Güvenlik ve Performans Özeti (SSP), 2017/746 (AB) Yönetmeliği Madde 29'a uygun olarak oluşturulmuştur ve bu ürün için yalnızca laboratuvar profesyonelleri olan amaçlanan kullanıcılara cihazın güvenlik ve performansı hakkında güncellenmiş bir özet sağlamak amacıyla EUDAMED veritabanı aracılığıyla kamu erişimi sağlamayı amaçlamaktadır.

Prosedür

Deneyisel iş akışının genel görünümü



Legend

Şablonsuz alan

Şablon alan

Örnek Hazırlama

Ham örnek gereksinimleri

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit için numune, insanlardan alınan periferik venöz tam kandan veya kemik iliğinden ekstraksiyonu yapılan RNA'dan transkripsiyonu yapılmış cDNA olarak tanımlanır.

Örnek toplama sırasında RNA stabilizasyonu için reaktiflerin kullanılmasını öneririz. RNA stabilizatörleri, RNA bütünlüğünü korumaya yardımcı olur (örn. S-Monovette RNA Exact). Örnek toplandıktan sonra RNA izolasyonu derhal gerçekleştirilmelidir.

NOT



Ham örnek materyalinin uzun süreli saklanması, genetik materyalin parçalanmasına ve dolayısıyla materyalin kalitesinin yetersiz olmasına yol açabilir. Bu durum sinyallerin azalması veya geçersiz iç kontroller yoluyla örneğin analiz sonucunu kötüleştirebilir.

Kan

Aşağıdaki prosedür için en az 200 µL periferik venöz tam kan örneği alın.

Periferik venöz tam kanın işlenmesi, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kılavuzu MM05–A2 (2. baskı) önerilerine uygun olarak yapılmalıdır ve burada tam kanın oda sıcaklığında (22 °C ila 25 °C) 24 saate kadar veya 2 °C ile 6 °C arasında 72 saat veya daha fazla saklanabileceği belirtilmiştir. Ayrıca, tam kan toplama için kullanılan antikoagülanların EDTA, sitrat veya heparin olması önerilir.

Kemik iliği

Aşağıdaki prosedür için en az 200 µL kemik iliği örneği alın.

Kemik iliği aspiratlarının işlenmesi, CLSI kılavuzu MM05–A2 (2. baskı) önerilerine uygun olarak yapılmalıdır ve burada antikoagülanlı (EDTA veya sitrat) kemik iliği aspiratlarının 4 °C'de saklanması ve taşınması gerektiği

belirtilmiştir. En iyi sonuçlar için RNA ekstraksiyonu, örneklemeden sonra 1 saat - 4 saat içinde yapılmalıdır.

RNA ekstraksiyonu

Periferik tam kan (PB) veya kemik iliği (BM) aspiratlarından RNA ekstraksiyonu ve saflaştırmasını aşağıdaki kitlerden biriyle gerçekleştirin:

- RNeasy® Midi/ Mini/ Plus Mini Kit (Qiagen GmbH); Kemik iliği ve periferik kanda EDTA, Sitrat ve Heparin antikoagülanları için
- NucleoSpin® Dx RNA Blood (Macherey-Nagel); Periferik kanda RNA Exact stabilizatörü için
- Maxwell® CSC RNA Blood Kit (Promega); Kemik iliğinde EDTA ve Heparin antikoagülanları için

RNA ekstraksiyonu için lütfen üreticinin kılavuzlarını ve önerilerini takip edin. İzolasyon sırasında üreticinin talimatlarına göre bir **DNaz ile kesme** işlemi yapılması önerilir.

NOT



Kan kontaminasyonu, PCR reaksiyonunda veya izole edilen RNA'da turuncu renk kayması ile görsel olarak tespit edilebilir. Bir renk değişikliği gözlemlenirse, herhangi bir potansiyel enterferanstan kaçınmak için RNA izolasyonunu tekrarlamanızı öneririz.

NOT



Nükleik asidin elüsyonu öncesinde etanol izlerini ortadan kaldırdığınızdan emin olun. Etanol, PCR için güçlü bir inhibitördür.

RNA miktarı belirleme ve dilüsyonu

RNA konsantrasyonunu NanoDrop™ One spectrophotometer ile 260 nm'de UV/VIS spektroskopisi kullanarak veya Qubit™ Fluorometer ile floresans spektroskopisi kullanarak kantitatif olarak belirleyin.

Spektrofotometri kullanırken, boşu ölçmek için RNA ekstraksiyon kitinin elüsyon tamponunu kullanın. A260/A280 oranı 1,9 - 2,1 aralığında olmalıdır ve A260/A230 oranı ise 1,8 – 2,3 aralığında olmalıdır.

RNA'nın florometrik kantifikasyonu için Qubit™ RNA HS Assay-Kit veya Qubit™ RNA BR Assay-Kit ile Qubit™ Fluorometer kullanılabilir.

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit ile kullanım için, RNA örneklerini sonraki cDNA'ya transkripsiyon amacıyla uygun bir konsantrasyona seyreltin. Kullanımdan önce dilüsyonu taze olarak hazırlayın. Seyreltici olarak nükleazsız su kullanın.

NOT

i

cDNA'ya transkripsiyon için girdi aralığı, transkripsiyon kiti üreticisinin talimatlarına uyar. Her iki örnek türünde cDNA sentezi için 20 µL'lik nihai reaksiyon hacminde 100 ng - 1 µg RNA kullanımı doğrulanmıştır. Kemik iliği için **500 ng** ve periferik kan için **1 µg** optimum kullanım önerilir.

RNA depolama

Seyreltilmemiş RNA örneklerini RNAz içermeyen su içinde -25 °C ile -15 °C arasında 24 saate kadar veya -85 °C ile -70 °C arasında bir yıla kadar saklayın.

cDNA'ya transkripsiyon

Aşağıdaki kitlerden birini kullanarak üreticinin talimatlarına göre cDNA sentezini gerçekleştirin:

- High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit with RNase Inhibitor (Thermo Fisher Scientific)
- SuperScript™ IV First Strand cDNA Synthesis System* (Thermo Fisher Scientific)

*düşük RNA miktarı için önerilir

NOT



Ters transkriptazın **ısı ile inaktivasyonu** PCR performansı için çok önemlidir. Detaylar için lütfen üreticinin talimatlarına bakın.

cDNA depolama

cDNA örneklerini -25 °C ile -15 °C arasında bir yıla kadar depolayın.

Kontrol hazırlığı

Pozitif kontrol (PC)

Mentype® AMLplex^{QS} Positive Control ürününü çözün, dikkatlice vorteksleyerek homojenleştirin ve ardından kısa bir santrifüj uygulayın.

Mentype® AMLplex^{QS} Positive Control ürününü kitte bulunan Nuclease-Free Water ürününü kullanarak 1:5 oranında seyreltin. Örn. kontrolün 1 µL'sini 4 µL Nuclease-Free Water ile karıştırın.

Seyreltilmiş PC'yi dikkatlice vorteksleyerek homojenleştirin. Bundan sonra, seyreltilmiş PC'yi kısa bir süre santrifüjleyin (yaklaşık 5 s).

Seyreltilmiş pozitif kontrolü saklamayın.

NOT



Her zaman Mentype® AMLplex^{QS} Positive Control ürününün taze bir dilüsyonunu uygulayın.

No template control (NTC)

Örnek yerine kitte bulunan Nuclease-Free Water (Nükleaz İçermeyen Su) ürününü no template control (şablonsuz kontrol, NTC) olarak uygulayın.

Ana karışım hazırlığı

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit ürününden aşağıdaki bileşenleri çıkarın ve çözün:

- Nuclease-Free Water (açık mavi kapak)
- Reaction Mix A (mor kapak)
- Mentype® AMLplex^{QS} Primer Mix (kırmızı kapak)
- Multi Taq 2 DNA Polymerase (beyaz kapak)

Tüm dondurulmuş bileşenler oda sıcaklığında (22 °C ila 25 °C, yaklaşık 30 dakika, ışıktan korunarak) çözülmeli ve tüpleri ters çevirerek, pipetleyerek veya hafifçe vorteksleyerek homojenize edilmelidir. Bundan sonra, reaktifleri kısaca santrifüj edin (yaklaşık 5 saniye). Ana karışım hazırlığından önce, Multi Taq 2 DNA Polimeray ürününü soğutulmuş bir ortamda (örneğin soğutma rafı) mümkün olduğunca uzun süre tutmanız önerilir.

NOT



Multi Taq 2 DNA Polymerase ürününü daha uzun süreli kararlılık için hafifçe çalkalayarak karıştırın - **enzimi vortekslemeyin**.

Test edilecek toplam örnek sayısı için uygun boyutta bir mikrosantrifüj tüpünde PCR ana karışımını Tablo 4 uyarınca hazırlayın ve bunu özel bir temiz alanda yapın. Hesaplamanıza en az bir PC ve bir NTC dahil edin.

NOT



Genel bir kural olarak, 10'dan az örnek test ediyorsanız bir ekstra örnek için yeterli ana karışım kullanın. 10 veya daha fazla örnek test ediyorsanız, +%10 fazla reaktif ana karışım hacmi kullanın.

Tablo 4 PCR ana karışım reaksiyon hazırlığı

Bileşen	Hacim		
	# 1	# 5	# 10
Nuclease-Free Water*	16,1 µL	80,5 µL	161,0 µL
Reaction Mix A	5,0 µL	25,0 µL	50,0 µL
Mentype® AMLplex ^{QS} Primer Mix	2,5 µL	12,5 µL	25,0 µL
Multi Taq 2 DNA Polymerase	0,4 µL	2,0 µL	4,0 µL
cDNA şablonu veya kontrol örneği*	1,0 µL	5 x 1,0 µL	10 x 1,0 µL
Toplam hacim	25,0 µL	125,0 µL	250,0 µL

*Şablon girdisi 2 µL'ye artırılabilir ve bunun için Nükleazsız Su ürününün hacmi ayarlanmalıdır.

Ana karışımı hafifçe vorteksleyerek karıştırın ve ardından kısaca santrifüj edin.

Hazırlanmış 200 µL PCR tüplerine 24,0 µL PCR ana karışımı ayırın ve kapalı tüpleri kısaca santrifüj edin.

cDNA şablonlarının ve kontrollerin uygulanması

PCR ana karışımı içeren hazırlanmış PCR tüplerine aşağıdaki örnek türlerinden 1,0 µL ekleyin.

NTC: Örnek yerine 1,0 µL Nükleazsız Su ekleyin.

cDNA template: Seyreltilmemiş cDNA örneklerinden 1,0 µL ekleyin.

PC: Örnek yerine taze hazırlanmış, 1:5 seyreltilmiş Mentype® AMLplex^{QS} Positive Control ürününden 1,0 µL ekleyin.

NOT



Kontaminasyonlardan kaçınmak için önce NTC'yi hazırlayın. Örneklerin çapraz kontaminasyonundan kaçınmak için en son PC'yi hazırlayın.

NOT

Her çalışmada en az bir pozitif kontrol PC ve bir no template kontrol NTC kullanın. Aksi takdirde, çalışma doğrulanamaz.

Tüm PCR tüplerini kapatın, hafifçe vorteksleyin ve santrifüj edin.

PCR amplifikasyonu

PCR döngüleyiciyi aşağıdaki amplifikasyon profili ile programlayın ve rampayı 4 °C/s olarak ayarladığınızdan emin olun. Polimerazı aktive etmek ve spesifik olmayan amplifikasyon ürünlerinin oluşumunu önlemek için PCR "hot start" (sıcak başlatma) gerçekleştirin.

NOT

Kalibre edilmiş ve bakımı iyi yapılmış PCR döngüleyicilerin kullanılması esastır; çünkü sapmalar KMT2A::MLLT4 gibi hassas hedeflerin amplifikasyonunu olumsuz etkileyebilir.

Tablo 5 PCR protokolü

Sıcaklık	Süre	
96 °C	4 dakika (polimerazın aktivasyonu için sıcak başlatma)	
96 °C	30 saniye	
60 °C	120 saniye	25 döngü
72 °C	75 saniye	
68 °C	10 dakika*	
10 °C	∞	beklet

* Eğer daha fazla miktarda eksi -Adenin pikleri (-1 bp) gözlemlenirse, uzatma 60 dakikaya kadar yapılabilir.

NOT



Ayarlanabilir ısıtma ve soğutma hızlarına sahip termal döngüleyiciler kullanılıyorsa, optimal kit dengesi sağlamak için **rampalama 4 °C/s olarak ayarlanmalıdır.**

NOT



Farklı PCR cihazlarının kurulumu, programlanması ve bakımı ile ilgili temel bilgiler için lütfen ilgili cihazın kullanıcı kılavuzuna başvurun.

Kapiller jel elektroforezi

PCR ürünlerinin hazırlanması

PCR tamamlandıktan sonra, örnekleri döngüleyiciden çıkarın ve kısaca santrifüj edin.

NOT



PCR tamamlandıktan sonra, PCR ürünleri 2 °C ila 8 °C'de 4 hafta veya -25 °C ila -15 °C'de uzun süreli olarak ışıktan korunarak saklanabilir.

Reaktifleri çözün, karıştırın ve santrifüj edin:

- Hi-Di™ Formamide (kite dahil değildir)
- Mentype® AMLplex^{QS} Allelic Ladder (yeşil kapak)
- DNA Size Standard BTO (550) (turuncu kapak)

Tablo 6 kısmında tanımlanan denatürasyon karışımını hazırlayın ve pipetleme varyasyonlarını telafi etmek için bir veya iki reaksiyon ekleyin. Allelik merdiven için ekstra bir reaksiyon ekleyin.

Tablo 6 Denatürasyon karışımı

Bileşen	Reaksiyon başına hacim
Hi-Di™ Formamid	12,0 µL
DNA Size Standard BTO (550)	0,5 µL

Denatürasyon karışımından 12,0 µL'yi PCR plakasının (Genetik Analizör üzerinde kullanım için uygun) kuyucuklarına pipetleyin.

Kuyucuklara ya 1,0 µL PCR ürünü ya da 1,0 µL Mentype® AMLplex^{QS} Allelic Ladder ekleyin. PCR plakasını uygun bir folyo ile kapatın, vorteksleyin ve plakayı kısaca santrifüj edin.

NOT

Allelik merdiven, veri analizi sırasında analiz edilen fragmanların doğru bir şekilde belirlenmesi için kullanılır. Her bir fragman uzunluğu analiz çalışmasında, başarılı veri analizi sağlamak için allelik merdiven en az bir kez analiz edilmelidir.

NOT

Jel elektroforez cihazının kapillerleri asla kuru bırakılmamalıdır. Örnekler tüm kapiller pozisyonları doldurmuyorsa, plakanın ek kuyucuklarını kapiller sayısına göre 12,0 µL Hi-Di™ Formamid ile doldurun.

Hazırlanmış PCR ürünlerini 95 °C'de 3 dakika boyunca bir PCR döngüleyicide denatüre edin ve ardından örnekleri döngüleyicide 4 °C'ye soğutun. Fragman uzunluğu analizi öncesinde örnekleri kısaca santrifüj edin.

Fragman uzunluğu analizi

İlk fragman uzunluğu analizini yapmadan önce **Matrix Standard BT5 multi** (BIOTYPE GmbH) ürününü Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit için kullanılan floresan boyaların (6-FAM™, BTG, BTY, BTO) spektral hizalamasını yapmak amacıyla çalışın.

NOT

Matrix Standard BT5 multi ürününün kurulumu için kullanım kılavuzuna başvurun. Bunlar www.biotype.de/en/ifu adresinde veya support@biotype.de ile BIOTYPE GmbH üzerinden talep yoluyla mevcuttur.

Matrix Standard BT5 multi başarıyla çalışıldıktan sonra, 3500 Genetic Analyzer Tablo 7 içinde tanımlanan cihaz ayarlarını (www.biotype.de/en/template-files) içe aktarın.

Tablo 7 Genetic Analyzer ürünleri için sağlanan dosyalar
(www.biotype.de/en/template-files)

3500 Series Genetic Analyzers

Instrument Protocol	<u>POP-4™, 36 cm capillary array:</u> AMLplexIVD_Instrument436.xml
	<u>POP-7™, 50 cm capillary array:</u> AMLplexIVD_Instrument750.xml
Size Standard Protocol	BTO_60-550_SizeStandard3500.xml
Sizecalling Protocol	BTO_60-550_Sizecalling.xml
Assay	<u>POP-4™, 36 cm capillary array:</u> AMLplexIVD_Assay436.xml
	<u>POP-7™, 50 cm capillary array:</u> AMLplexIVD_Assay750.xml

Gerekli cihaz protokolü için spesifikasyonlar Tablo 8 içinde açıklanmıştır. Sadece açıklanan parametreler ayarlanmalı ve diğer parametreler varsayılan ayarda kalmalıdır. Özel çalışma parametrelerini ayarlamak için üreticinin kullanım kılavuzunu izleyin.

Tablo 8 Farklı kapiller jel elektroforez cihazlarının çalışma modülleri için parametreler

	Injection Voltage [kV]	Injection Time [s]	Run Voltage [kV]	Run Time [s]
3500 Series Genetic Analyzer	3,0	8	36 cm Capillary Array: 15 50 cm Capillary Array: 19.5	1560
SeqStudio™ Genetic Analyzer	1,2	10	9	1560

Tablo 8 içinde verilen değerlerden farklı olarak, çalışma süresi DNA Size Standard 550 (BTO) içindeki tüm fragmanların (60 - 550 bp) analiz edilmesini sağlamak için ayarlanabilir.

Bir Size Standard protocol (Büyüklik Standardı protokolü) kurmak üzere DNA Size Standard 550 (BTO) için aşağıdaki boyutlar turuncu panele atanmalıdır:

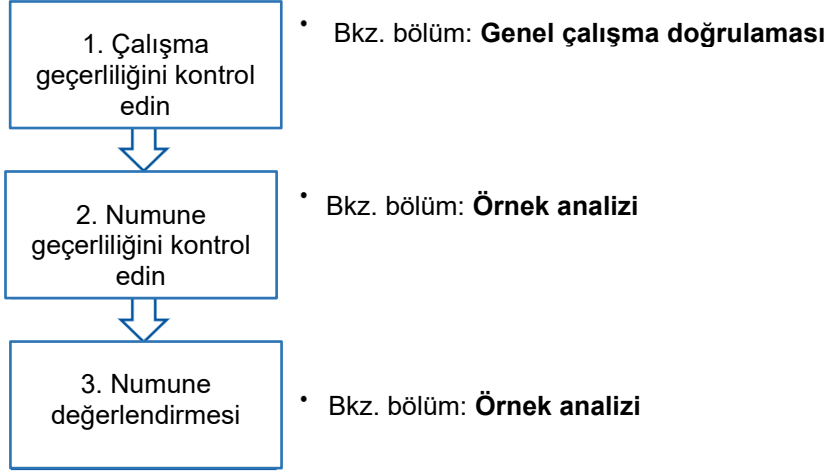
60, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 250, 260, 280, 300, 320, 340, 360, 380, 400, 425, 450, 475, 500, 525, ve 550 bp.

NOT

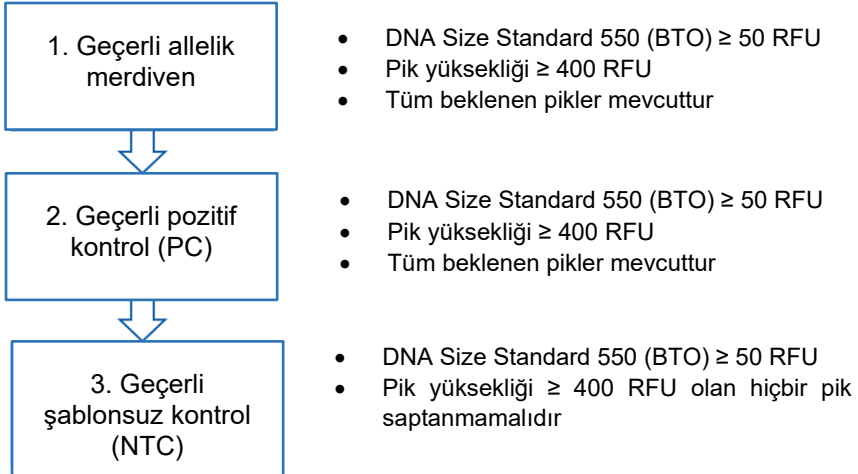
BIOTYPE GmbH, fragman uzunluğu analizi için özel çalışma ayarlarının kolay kurulumu amacıyla özel şablonlar ve GeneMapper™ ID-X ürününün basit bir yazılım kurulumu için analiz şablonları sağlar. Bu şablonlar şuradan indirilebilir: www.biotype.de/en/template-files.

Veri Analizi

Veri analizi için genel prosedür



Genel çalışma doğrulaması



NOT

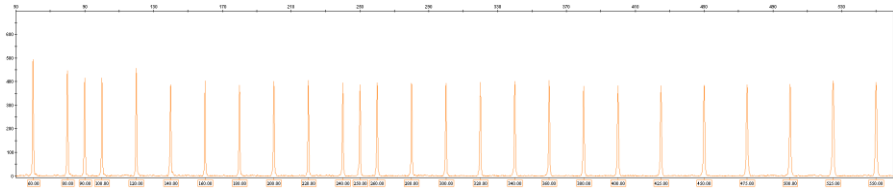
Geçerliliği değerlendirmek için 50 bp'den 560 bp'ye kadar olan tüm ölçüm aralığı analiz edilmelidir.

DNA Size Standard 550 (BTO)

Amplifiye edilmiş ürünlerin kesin uzunluklarının bulunması cihaz türüne, elektroforez koşullarına ve kullanılan DNA boyut standardına bağlıdır. Bazı hedeflerin karmaşıklığı nedeniyle, boyut belirleme eşit dağıtılmış referanslara dayanmalıdır.

Tüm örneklerde DNA Size Standard 550 (BTO) için aşağıdaki kriterleri kontrol edin:

- Aşağıdaki konumlarda tüm fragmanların varlığı: **60, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 250, 260, 280, 300, 320, 340, 360, 380, 400, 425, 450, 475, 500, 525 ve 550 bp** (bkz. [Şekil 1](#))
- Tüm fragmanlar ≥ 50 RFU ile mevcuttur
- Belirleme katsayısı $R^2 > 0,995$
(bkz. GeneMapper ID-X Size Match Editor)
- Fragmanlar, fragman uzunluğu arttıkça sürekli olarak pik yüksekliğinde azalma göstermez.



Şekil 1 DNA Size Standard 550 (BTO) elektroferogramı, bp cinsinden uzunluklarla fragmanlar

Mentype® AMLplex^{QS} Allelic Ladder

Geçerli bir boyut standardı sağlandıktan sonra, allelik merdivindeki tüm piklerin ≥ 400 RFU ile mevcut olduğundan emin olun.

NOT

Mentype® AMLplex^{QS} Allelic Ladder, tespit edilebilir her hedef için bir pik içerir. Lütfen allelleri ek Şekil 2 ile karşılaştırın.

Mentype® AMLplex^{QS} Positive Control (PC)

Geçerli bir boyut standardı sağlandıktan sonra, PC için tüm spesifik piklerin **≥ 400 RFU** ile mevcut olduğundan emin olun.

Test kitinin bir parçası olan Mentype® AMLplex^{QS} Positive Control, aşağıdaki hedefleri temsil eder (bkz. Tablo 9).

Tablo 9 Mentype® AMLplex^{QS} Positive Control pikleri

Panel	Kontrol piki
Mavi	▪ QS-Control ▪ BCR::ABL_b2a3 ▪ RUNX1::RUNX1T1 ▪ ABL-Control
Yeşil	▪ KMT2A-PTD_e11e3
Sarı	▪ PML::RARA_bcr3

NOT

Mentype® AMLplex^{QS} Positive Control kullanılan her panel için en az bir pik içerir. Lütfen allelleri ek Şekil 3 ile karşılaştırın.

No template control NTC

Geçerli bir boyut standardı sağlandıktan sonra, NTC'de **≥ 400 RFU** olan bir pik tespit edilmediğinden emin olun (bkz. ayrıca ek Şekil 4).

NOT

i

GeneMapper™ ID-X ürünü Analiz Yöntemi için sağlanan şablon dosyalarıyla birlikte kullanıldığında Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit örneklerindeki < 400 RFU olan piklere otomatik olarak allel adı atanmaz ve bu da NTC'yi kolayca değerlendirmenize yardımcı olur.

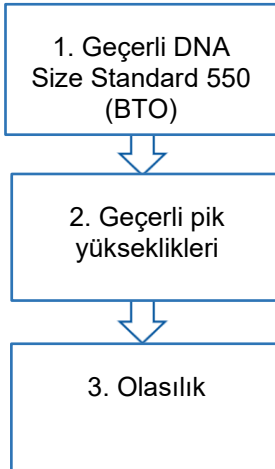
NOT

i

Küçük boya lekeleri gibi artefaktlar NTC içinde daha belirgin olabilir. Geniş pik tabanı, anormal pik şekli ve pik ataması olmaması nedeniyle ampikon piklerinden ayırt etme mümkündür.

Örnek analizi

İş akışı veri analizi Genel çalışma doğrulaması



- Bkz. bölüm: **DNA Size Standard 550 (BTO)**
- İç kontroller: QS-Control $\geq$ 400 RFU, ABL-Control $\geq$ 400 RFU
- Hedef pik yüksekliği $\geq$ 400 RFU, çekme piki olmamalıdır
- Tespit edilen translokasyon sayısı uygun olmalıdır: en fazla 2 spesifik hedef tespit edilmelidir

NOT

Birden fazla hedef tespiti kesim değerini aşarsa veya herhangi bir belirsizlikle karşılaşırsanız, lütfen sorun giderme bölümüne bakın (örneğin bilinen sinyal kombinasyonları listesi için) veya support@biotype.de adresinden müşteri desteği ile iletişime geçin.

BIOTYPE GmbH tarafından sağlanan özel şablonlarla birlikte GeneMapper™ ID-X software kullanıldığında temel doğrulama otomatik olarak yapılır.

Çalışma ve örnek geçerliliğini kontrol ettikten sonra, örnek verileri değerlendirilmelidir.

NOT

Mentype® AMLplex^{QS} **yalnızca nitel bir testtir.** Bu uygulama kopya sayısını ölçmek veya Minimal Rezidüel Hastalığı (MRD) izlemek için uygun değildir.

BIOTYPE GmbH değerlendirme şablonlarını kullanırken ve çalışmada Allelik Merdivenin başarılı bir şekilde değerlendirilmesi durumunda, tespit edilen PCR fragmanları otomatik olarak adlandırılır. PCR ürünlerinin fragman uzunluklarının bir özeti aşağıda Tablo 10 içinde bulunabilir.

Tablo 10 POP-4™ polimerinde Mentype® AMLplex^{QS} Allelic Ladder translokasyonlarının fragman uzunluklarına genel bakış. ‡ KMT2A::MLLT3_6A varyantı için iki ampikon; * Bu varyant Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit ile tespit edilebilir olmasına rağmen değişken ampikon uzunluğu (yaklaşık 173 bp) otomatik tahsisi engeller

Panel/Translokasyon	Uzunluk [bp]	Panel/Translokasyon	Uzunluk [bp]
FAM Panel (Mavi Kanal)		BTG Panel (Yeşil Kanal)	
CBFB::MYH11_TypeG	63	DEK::NUP214	78
CBFB::MYH11_TypeI	66	KMT2A-PTD_e9e3	87

Panel/Translokasyon	Uzunluk [bp]	Panel/Translokasyon	Uzunluk [bp]
QS-Control	72	KMT2A::MLLT3_6A_S†	113
BCR::ABL_b2a3	107	KMT2A::MLLT3_6B	190
CBFB::MYH11_TypeJ	141	KMT2A-PTD_e10e3	217
CBFB::MYH11_TypeC	146	KMT2A::ELL_e10e3	241
CBFB::MYH11_TypeD	160	KMT2A::MLLT3_7A	245
CBFB::MYH11_TypeH	165	KMT2A::ELL_e10e2	289
CBFB::MYH11_TypeF	175	KMT2A::MLLT4	303
BCR::ABL_b3a3	183	KMT2A-PTD_e11e3	332
BCR::ABL_e1a3	206	KMT2A::MLLT3_8A	359
MLLT10_240::PICALM_2092	265	KMT2A::MLLT3_6A_L†	497
CBFB::MYH11_TypeA	271	BTY Panel (Sarı Kanal)	
BCR::ABL_b2a2	282	PML::RARA_bcr1	220
RUNX1::RUNX1T1	301	PML::RARA_bcr3	290
BCR::ABL_b3a2	357	PML::RARA_bcr2*	
CBFB::MYH11_TypeE	366		
MLLT10_240::PICALM_1987	371		
BCR::ABL_e1a2	380		
NPM1::MLF1	389		
CBFB::MYH11_TypeB	485		
ABL-Control	519		

GeneMapper™ ID-X ile veri analizi

GeneMapper™ ID-X software ürününün hazırlanması

Bu yazılım için uygulama ve örnek analizi ile ilgili genel talimatlar için lütfen GeneMapper™ ID-X Software kullanıcı kılavuzuna başvurun.

Allel tahsisi, GeneMapper™ ID-X analiz yazılımı ile BIOTYPE GmbH'nin Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit şablon dosyaları kombinasyonu ile gerçekleştirilmelidir. BIOTYPE şablon dosyaları (bkz.

Tablo 11) ana sayfamızdan (www.biotype.de/en/template-files) indirme yoluyla veya support@biotype.de adresinden talep üzerine mevcuttur. GeneMapper™ ID-X software kullanılarak analiz iş akışı Tablo 12 içinde gösterilmiştir.

Tablo 11 GeneMapper™ ID-X Yazılımı için BIOTYPE GmbH şablonları, için özel şablonlar ¹POP-1™, ²POP-4™ and ³POP-7™ polymer

Şablon	Şablon adı	
Panels*	AMLplexIVD_Panel1_v1x ¹ AMLplexIVD_Panel4_v1x ² AMLplexIVD_Panel7_v1x ³	veya daha yüksek sürümler
BinSets*	AMLplexIVD_Bins1_v1x ¹ AMLplexIVD_Bins4_v1x ² AMLplexIVD_Bins7_v1x ³	veya daha yüksek sürümler
Size Standard*	BTO_60-550_v1x	veya daha yüksek sürümler
Analysis Method*	AMLplexIVD_Analysis1_v1x ¹ AMLplexIVD_Analysis4_v1x ² AMLplexIVD_Analysis7_v1x ³	veya daha yüksek sürümler
Plot Settings	PlotsBT5_4dyes	
Table Settings	Table for 2 Alleles Table for 10 Alleles	

*Bu şablonlar veri analizi için her zaman kullanılmalıdır. Diğer şablon dosyaları isteğe bağlıdır.

NOT

i

Sağlanan şablon dosyaları ile içe aktarma ve allel çağırısı yalnızca GeneMapper™ ID-X software kullanıldığında garanti edilir. GeneMapper™ software uygulandığında bazı şablon dosyaları ile içe aktarma sorunları yaşayabilirsiniz. Belirli cihaz kurulumunuzda allelik merdiveni bir veya birkaç kez çalışılarak Panels ve Bins ayarlaması yapmanız gerekebilir. Destek için bizimle iletişime geçin (support@biotype.de).

Tablo 12 GeneMapper™ ID-X ile veri analizi iş akışı

No	Simge	Çalışma adımı								
1	Yazılım Hazırlığı	Panel Manager Panels ve Bins için sağlanan şablon dosyalarını içe aktarın GeneMapper™ ID-X Manager Analysis Method ve Size Standard için sağlanan şablonu içe aktarın								
2	Örnek İçe Aktarma	Add Samples to Project (Örnekleri Projeye Ekle) - çalışma klasörünü bulun, seçin ve Add to List → Add (Listeye Ekle - Ekle) kullanın								
3	Örnek Analizi	Örnek sayfasının uygun sütunlarındaki şu özellikleri ve Analyze öğesini seçin. <table><tr><th>Sütun Adı</th><th>Seç</th></tr><tr><td>Sample Type</td><td>Allelik Merdiven, Pozitif Kontrol, Negatif Kontrol veya Örnek</td></tr><tr><td>Analysis Method</td><td>Önceden içe aktarılan BIOTYPE AMLplexIVD_Analysis_v1x seçin</td></tr><tr><td>Panel</td><td>Önceden içe aktarılan BIOTYPE template AMLplexIVD_Panel_v1x seçin</td></tr></table>	Sütun Adı	Seç	Sample Type	Allelik Merdiven, Pozitif Kontrol, Negatif Kontrol veya Örnek	Analysis Method	Önceden içe aktarılan BIOTYPE AMLplexIVD_Analysis_v1x seçin	Panel	Önceden içe aktarılan BIOTYPE template AMLplexIVD_Panel_v1x seçin
Sütun Adı	Seç									
Sample Type	Allelik Merdiven, Pozitif Kontrol, Negatif Kontrol veya Örnek									
Analysis Method	Önceden içe aktarılan BIOTYPE AMLplexIVD_Analysis_v1x seçin									
Panel	Önceden içe aktarılan BIOTYPE template AMLplexIVD_Panel_v1x seçin									

No	Simge	Çalışma adımı
		Size Önceden içe aktarılan BIOTYPE template Standard BTO_60-550_v1x seçin
4	Kontrolleri kontrol edin	
		Kontrol geçerliliğini kontrol edin (Allelik Merdiven, Pozitif Kontrol, Negatif Kontrol) Yeterli pik yükseklikleri ile atama, Analysis Method içindeki spesifikasyonlara göre gerçekleştirilir
5	Örnek değerlendirmesi	
		Örnek geçerliliğini kontrol edin. Yeterli pik yükseklikleri ile atama, Analysis Method içindeki spesifikasyonlara göre gerçekleştirilir

NOT**i**

Analysis Method, Bins, Panels için sağlanan şablon dosyalarını kullanarak ve ilgili örnek türünü seçerek, bu örneklerin geçerliliği yazılım tarafından otomatik olarak kontrol edilir. Geçerli bir geçerlilik durumu için SOS (Sample off-Scale), SQ (Sizing Quality), OMR (Outside Marker Range) kalite kontrol bayrakları yeşil kutular halinde olmalıdır.

ARNM	SOS	SQ	SSPK	MIX	OMR	CGQ
						

NOT**i**

Boyut standardını değerlendirmek için GeneMapper™ ID-X içindeki Size Match Editor kısmını kullanın. Bir otomatik fragman çağırısı başarısız olursa, 80/90/100 bp ve 240/250/260 bp üçlülere manuel pik atamasında bir yönlendirme için kullanılabilir.

Sorun giderme

Doğru ve güvenilir hedef tespiti için, BIOTYPE'in şablon dosyaları ile birlikte doğrulanmış GeneMapper™ ID-X software kullanılarak, otomatik hedef atama ve doğrulama dahil olmak üzere PCR sonrası analiz yapılmalıdır. Herhangi bir belirsizlik durumunda, lütfen support@biotype.de ile iletişime geçin.

Çekme pikleri

Çekme pikleri, eğer pik yükseklikleri doğrusal tespit aralığının dışındaysa veya yanlış bir matris uygulanmışsa oluşabilir. Diğer renk kanallarındaki belirli piklerin pozisyonlarında, tipik olarak daha düşük sinyal yoğunlukları ile ortaya çıkarlar. Bu etki, aşağıdaki hedeflerin yüksek amplifikasyon profilleri durumunda dikkate alınmalıdır:

- PML::RARA_bcr3 (sarı kanal), KMT2A::ELL_e10e2 (yeşil kanal) içinde çekme piki oluşturur
- RUNX1::RUNX1T1 (mavi kanal), KMT2A::MLLT4 (yeşil kanal, yalnızca POP-7™ Polymer kullanıldığında) içinde çekme piki oluşturur

Şablon bağımsız nükleotid eklenmesi

Terminal transferaz aktivitesi nedeniyle, Multi Taq 2 DNA Polymerase, amplifiye edilmiş DNA fragmanlarının 3' ucuna bir adenosin radikali ekleme eğilimindedir. Artefakt piki beklenenden bir baz daha kısadır (-1 bp pikleri). Tüm BIOTYPE primerleri bu artefaktları en aza indirmek için tasarlanmıştır. Artefakt oluşumu, PCR protokolünün son uzatma adımının 68 °C'de 60 dakika boyunca isteğe bağlı olarak uzatılmasıyla daha da azaltılır. Artefaktın pik yüksekliği cDNA miktarı ile ilişkilidir. Laboratuvarlar, piklerin analizi için kendi özel sınırlarını tanımlamalıdır.

Artefaktlar

Oda sıcaklığı, çok kapillerli cihazlarda PCR ürünlerinin performansını etkileyebilir; sonuçta omuz pikleri veya bölünmüş pikler oluşur. Ayrıca, otomatik atama bazı durumlarda etkilenebilir. Bu etkiler meydana gelirse, örneği daha yüksek oda sıcaklığında yeniden enjekte etmenizi öneririz. Her zaman üreticinin önerilerine göre taze sarf malzemeleri kullanmayı düşünün.

Polimerlerin etkisi

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit, POP-4™ polymer ile analiz için doğrulanmış ve sertifikalandırılmıştır. Diğer polimerlerin (POP-7™ veya POP-1™) kullanımı doğrulanmıştır, ancak belirli PCR ürünlerinin çalışma davranışını etkileyebilirler. Ayrıca, serbest floresan boyaaların farklı davranışı nedeniyle arka plan gürültüsü artabilir.

Pipetleme sapmaları

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit güç analizi, kitin tarif edilen küçük protokol sapmalarına (+/- %10 sapma) karşı dayanıklı olduğunu göstermiştir. Tarif edilen deneysel protokolden orta derecede sapma (+/- %20), analiz için daha kritik olabilir. PCR bileşenlerinde -%20'lik orta derecede sapmalara dikkat etmek önemlidir; çünkü bunlar sinyal yüksekliğini önemli ölçüde azaltır. Bu bağlamda en hassas hedefler KMT2A::MLLT4 ve DEK::NUP214'tür.

Herhangi bir sapmayı en aza indirmek için kalibre edilmiş pipetler kullanmayı, hassas pipetleme yapmayı ve iyice karıştırmayı öneririz.

Düşük ABL-control pikleri

ABL iç kontrolü, Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit ürününün en uzun amplikonunu oluşturur ve bu nedenle önemli bir kalite kontrol işaretidir. Düşük ABL-control pik yüksekliği durumunda en olası nedenler aşağıdakilerden biridir:

Reaksiyonda şablon girdisi çok düşük: Lütfen RNA konsantrasyonunu belirleyin ve gerekirse cDNA sentez girdisini artırın.

Fragmente RNA, yani hedeflerden gelen daha küçük amplikonlar pozitif olabilir ancak iç kontrol ABL eksiktir. Örnek hazırlama iş akışını RNAz kontaminasyonu için kontrol edin. Arşivlenmiş örnek materyallerinde RNA fragmentasyonunun meydana geldiği bilinmektedir.

Etkisiz cDNA sentezi: cDNA sentezi sırasında üreticilerin talimatlarına uyulduğundan emin olun. Doğrulanmış cDNA sentez kitlerinden birini cDNA'ya transkripsiyon bölümünde açıklandığı gibi kullanın.

Örnek aktif ters transkriptaz enzimi ile bozulmuş: cDNA sentezi sırasında ısı ile inaktivasyon adımıyla özellikle dikkat ederek üreticilerin talimatlarına uyulduğundan emin olun.

Ek amplikonlar veya çift pozitifler

Çoğu hasta örneğinin negatif bir sonuç veya tek bir translokasyon için pozitif bir sonuç göstermesi beklenir. Birden fazla translokasyon olağandışı bir sonuçtur ve daha fazla doğrulama gerektirebilir. Ancak daha önce hasta örneklerinde aşağıdaki gibi bazı kombinasyonlar gözlemlenmiştir:

BCR::ABL b2a3 hedefi, ABL-control veya BCR::ABL'nin diğer transkript varyantı için güçlü bir amplifikasyon varsa, nispeten düşük pik yüksekliği ile görünebilir (ana hedef sonucunun yaklaşık %5-10'u).

KMT2A partial tandem domain (KMT2A-PTD) durumunun diğer translokasyonlarla eşzamanlı olarak ve birden fazla KMT2A-PTD varyantı için, pozitif görünebilecek karmaşık yeniden düzenlemelerde meydana geldiği bilinmektedir.

POP7TM-Polymer kullanıldığında, CBFB::MYH11_Type A translokasyonu, RUNX1::RUNX1T1 ve CBFB::MYH11_Type F için özgül olmayan bir sinyale yol açabilir. POP4-Polymer kullanıldığında RUNX1::RUNX1T1 piki merdiven dışı olarak atanır ve ME-1 hücre hattı kullanılarak doğrulanabilir. Her iki özgül olmayan yan pik, CBFB::MYH11_Type A ile karşılaştırıldığında daha düşük RFU zirve yüksekliği gösterir. POP7TM-Polymer kullanıldığında, merdiven dışı özgül olmayan bir pik, 2000 RFU'nun altında pik yükseklikleri ile CBFB::MYH11_Type I translokasyonu olarak atanabilir.

KMT2A::MLLT4 hedefi, transkript varyantlarının örneğe spesifik yaygınlığına bağlı olarak iki farklı amplikon uzunluğu ile oluşur. Çoğu hasta örneği, KMT2A::MLLT4 hedef kutusunda çift pik olarak, üç nükleotidlik bir uzunluk farkı ile her iki amplikonu da gösterir. Bu geçerli bir sonuçtur ve düzeltici önlemler gerekli değildir.

Herhangi bir KMT2A translokasyonu, ekson 9'da (en yaygın) veya ekson 10 ve 11'de (nadir) kırılma noktası ile meydana gelebilir. Yeşil kanaldaki herhangi bir güçlü merdiven dışı pik, atipik bir KMT2A translokasyonundan kaynaklanabilir ve diğer yöntemlerle doğrulanabilir.

KMT2A::MLLT3 transkript varyantı 6A hedefi, çok yüksek girdi ve çok yüksek RNA kalitesi durumunda iki tespit edilebilir amplikon üretebilir ve karşılık gelen pikler 6A_S (short (kısa), gerekli) ve 6A_L (long (uzun), isteğe bağlı) olarak adlandırılır. Bu durum Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit

primer tasarımına özgü gerekli bir fenomendir. Bu geçerli bir sonuçtur ve düzeltici önlemler gerekli değildir.

PML::RARA_bcr1 ve bcr3 kutuları arasında sarı kanalda bir merdiven dışı pik, muhtemelen PML::RARA_bcr2 varyantından kaynaklanır. Bu hedef, PML ekson 6'da birkaç kırılma noktasına sahiptir ve bu nedenle belirli bir kutuya atanamaz.

Performans Değerlendirmesi

Analitik duyarlılık

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit örnek tipi, periferik venöz tam kandan veya kemik iliği aspiratından izole edilen hücresel RNA'dan transkripsiyon yapılmış cDNA olarak tanımlanır. Kan numunesi için, 50 ng ile 1000 ng aralığında RNA, bu performans değerlendirmesi sırasında doğrulanmış cDNA synthesis kits SuperScript™ IV First-Strand Synthesis System (Thermo Fisher Scientific) ve High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific) kullanılarak yeterli ABL-Control pik yüksekliği ile ölçülebilir. %100 transkripsiyon verimliliği varsayıldığında, bu işlem 2,5 ng/μL ile 50 ng/μL arasında bir cDNA konsantrasyon aralığı ile sonuçlanır; PCR reaksiyonunda 1 μL cDNA kullanılır. Kemik iliği numunesi için, SuperScript™ IV First-Strand Synthesis System (Thermo Fisher Scientific) kullanılarak 50 ng ile 1000 ng aralığında ve High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific) kullanılarak 100 ng ile 1000 ng aralığında, RNA, ABL kontrolünün yeterli pik yüksekliği ile ölçülebilir. %100 transkripsiyon verimliliği varsayıldığında bu işlem sırasıyla 2,5 ng/μL ve 5 ng/μL ile 50 ng/μL arasında bir cDNA konsantrasyon aralığı ile sonuçlanır; PCR reaksiyonunda 1 μL cDNA kullanılır. Optimal RNA girdisi, periferik tam kan numunesi için 1000 ng ve kemik iliği numunesi için 500 ng olarak tanımlanmıştır. Düşük RNA konsantrasyonu veya kritik hedefleri olan örneklerde, PCR'deki cDNA girdisi, örnek türünden bağımsız olarak High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific) ile transkripsiyonu yapılan cDNA için 4 μL'ye kadar artırılabilir. SuperScript™ IV First-Strand Synthesis System (Thermo Fisher Scientific) ile transkripsiyonu yapılan cDNA için cDNA girdisi maksimum 2 μL ile sınırlıdır.

Limit of Blank (LoB) (Boş Limiti), daha önce tanımlanmış optimal girdi miktarında farklı numune kökenine sahip 12 örnek üzerinde test edilmiştir. Test edilen 12 örneğin hiçbirinde 55 bp ile 550 bp aralığında 400 RFU pik yüksekliği eşiğinin üzerinde özgül olmayan pikler tespit edilmediğinden, 400 RFU eşiği belirlenebilir.

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit için Limit of Detection (LoD), primer karışımındaki tüm primer çiftlerini kapsayan cDNA arka planına sahip 6 yapay örnekle test edilmiştir ve birden fazla hedefi tespit eden primer çiftleri, en uzun ve dolayısıyla tespit edilmesi en zor hedef transkript varyantını amplifiye eder.

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit, kabul kriterlerine göre kabul edilebilir bir Tespit Limiti göstermiş ve yine de kabul edilebilir bir sonuç gösteren ve LoD değerinin 1000 kopya olduğu KMT2A::MLLT4 hariç test edilen hedefler için maksimum LoD 400 kopya olmuştur (bkz. [Tablo 13](#)). Tespit edilebilen gen füzyonlarının tüm transkript varyantları test edilemediğinden, test edilen hedeflerin en yüksek sonucu olan 1000 kopya genel LoD değerinin, güvenli bir şekilde uygulanabilir olduğu varsayılmaktadır.

Tablo 13. Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit için LoD.

Örnek	Hedef	LoD [kopya]
Örnek 1	CBFB::MYH11_TypeJ	200
	BCR::ABL_e1a2	200
	CBFB::MYH11_TypeB	200
	KMT2A-PTD_e11e3	200
	PML::RARA_bcr1	400
Örnek 2	CBFB::MYH11_TypeC	200
	CBFB::MYH11_TypeA	100
	NPM1::MLF1	200
	KMT2A::MLLT3_6A_S	100
	KMT2A::MLLT3_6A_L	200
	PML::RARA_bcr3	200
Örnek 3	CBFB::MYH11_TypeG	200

Örnek	Hedef	LoD [kopya]
	BCR::ABL_b2a3	100
	CBFB::MYH11_TypeE	200
	KMT2A::ELL_e10e3	100
Örnek 4	CBFB::MYH11_TypeI	200
	MLLT10_240::PICALM_2092	200
	RUNX1::RUNX1T1	400
	DEK::NUP214	200
Örnek 5	KMT2A::MLLT4 (short)	1000
Örnek 6	KMT2A::MLLT4 (short)	500
	KMT2A::MLLT4 (long)	500

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit, hedef analitin varlığını veya yokluğunu belirlemek için tasarlanmış nitel bir test olduğundan, Limit of Quantitation (LoQ) (Miktar Belirleme Limiti) test edilmesi amaçlanan kullanım için ilgili kabul edilmemektedir.

Analitik Özgüllük

Allelik merdiven ile otomatik allel çağırısı ve GeneMapper™ ID-X software kullanılarak translokasyon hedeflerinin yapay örnekleri ile allel atamasının uyumu test edilmiştir. Sonuçlara dayanarak, Genetic Analyzer kapiller jel elektroforezi yoluyla genotipleme için teste spesifik cihaz ayarları (bins ve panels) tanımlanmıştır.

PCR primerleri, resmi insan genomu referans DNA dizisine tamamlayıcı olarak bağlanacak şekilde tasarlanmıştır. Single Nucleotide Polymorphism (SNP'ler, INDEL'ler veya delesyonlar) gibi genetik varyantlar, spesifik primer bağlanmasını etkileyebilir ve Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit için ilgili dbSNP girdileri ile değerlendirilmiştir. Bir girdi (rs73504425), primer fonksiyon kaybına neden olur. Varyant allel, Afrika nüfusunun %0,6'sında görülür ve <%1 prevalans ile nadiren bildirilen bir füzyon geni olan PICALM::MLLT10 için primer bağlanma bölgesinde yer alır.

Ayrıca, Mentype® AMLplex^{QS} Primer mix için insan transkriptomunda bir BLAST araması yapılmış ve 0 – 600 bp aralığında özgül olmayan amplifikasyon ürünleri elde edilmemiştir.

Doğruluk ve Gerçeklik

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit analitik doğruluğu, kitin gerçeklik çalışmaları sonuçlarına dayanmaktadır. BIOTYPE GmbH, 2013 yılından beri bir Dış Kalite Değerlendirme (EQA) programına aktif olarak katılmaktadır. Örneklerde bir translokasyonun varlığı veya yokluğu, bu EQA'nın tüm katılımcılarının sonuçlarının konsensüsünden belirlenir. 2013 yılından bu yana toplam 68 örnek analiz edilmiştir.

Bu sonuçlara dayanarak, Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit sonuçlarının (pozitif/negatif) ve tüm External Quality Assessment program (Dış Kalite Değerlendirme programı) katılımcılarının konsensüsü ile doğrulanan gerçek sonuçların (pozitif/negatif) karşılaştırmasına dayalı bir olasılık matrisi oluşturulmuştur. CLSI EP12 (3. baskı) uyarınca, anahtar performans metrikleri, Tablo 14 olasılık matrisine dayanarak hesaplanmıştır.

Tablo 14 Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit analitik özellikleri.

Analitik Özellikler	Tahmin	Alt %95 Güven Aralığı	Üst %95 Güven Aralığı
Analitik Duyarlılık	%92,2	%81,5	%96,9
Analitik Özgüllük	%94,1	%73,0	%99,0
Pozitif Öngörü Değeri	%97,9	%89,1	%99,6
Negatif Öngörü Değeri	%80,0	%58,4	%91,9
Doğruluk	%92,6	%83,9	%96,8

Bu hesaplamalar, Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit için pozitif ve negatif vakaları sırasıyla %92 ve %94 olasılıkla doğru bir şekilde sınıflandırma yeteneğinin kapsamlı bir ölçütünü sağlar. Doğru sonuçların genel oranı %93 olup yüksek bir güvenilirlik göstermektedir. Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit, testin etkinliğini ve güvenilirliğini doğrulayan yüksek analitik performans sergilemektedir.

Kesinlik

ISO 5725-2:2022-05 ve CLSI EP05 (3. baskı) temel alınarak testin tekrarlanabilirliği ve yeniden üretilebilirliği değerlendirilmiştir. Beş yapay örnek ve Mentype® AMLplex^{QS} Positive Control ürünü bir 5 x 5 x 3 (gün x tekrar x merkez) çoklu merkez çalışmasında değerlendirilmiştir. Çoklu merkez çalışması, farklı operatörlerin farklı merkezlerde farklı cihazlar kullanarak ölçüm yapacağı farklı test yapılan merkezlerden kaynaklanan varyasyonun ana kaynağını (tekrarlanabilirlik ve yeniden üretilebilirlik) inceler. Sonuç olarak tekrarlanabilirlik %8,3 CV (varyasyon katsayısı) ile %15,6 CV arasında ve yeniden üretilebilirlik %14,6 CV ile %30,5 CV arasında değişmiştir. Genel olarak, Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit, yapay Örnekler 1 ila 5 ve Mentype® AMLplex^{QS} Positive Control ile test edilen tüm spesifik gen füzyonları için $SD_{\text{Tekrar}} \leq 2500$ RFU ile kabul edilebilir bir kesinlik göstermektedir.

Test Kesim Değeri

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit, uç nokta PCR ile gen füzyonlarının nitel tespitini kullanır. Bu nedenle, test için ilgili kesim değerlerinden biri, teknik arka plan gürültüsü ile gerçek hedef tespiti arasında güvenli bir şekilde ayırım yapmak için minimum pik yüksekliğidir. RFU pik yüksekliği kesim değeri, analitik duyarlılık testinden elde edilen verilerle 400 RFU olarak belirlenmiştir.

Enterferans yapan maddeler ve çapraz reaksiyonlar

Ölçüm prosedürünün sonuçlarını etkileyebilecek potansiyel enterferans yapan maddeler, CLSI kılavuzları EP07 (3. baskı) ve EP37 (1. baskı) önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir. Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit için, endojen ve eksojen enterferans yapan maddeler belirlenmiş, kılavuzlarda önerildiği gibi PCR reaksiyonundaki maksimum beklenen konsantrasyonları (C_{maks}) test edilmiş ve enterferans gözlemlendiğinde artık enterferansın tespit edilemediği konsantrasyonu belirlemek için ek konsantrasyonlar test edilmiştir.

Sonuçlar, örnek işleme sürecinin bir parçası olarak DNA kesilmesi gerçekleştirildiğinde, PCR reaksiyonunda 1 ng'de test edilen endojen enterferans oluşturunca DNA'nın bir enterferans etkisi olmadığını göstermiştir.

Endojen enterferans oluşturucu kan için, PCR reaksiyonundaki %0,87 h/h hesaplanan C_{maks} ile enterferans oluşturucu bir etki gözlemlenmiş ve enterferansın tespit edilemediği yere kadar ek dilüsyonlar test edilmiştir. %0,087 h/h kan, enterferans göstermemiştir. Ancak kan kontaminasyonu, PCR reaksiyonunda veya izole edilmiş RNA süspansiyonunda turuncu renk değişimi ile görsel olarak tespit edilebilir. Bir renk değişikliği gözlemlenirse, potansiyel enterferanstan kaçınmak için RNA izolasyonunu tekrarlamayı öneririz.

Eksojen enterferans yapan maddeler DTT, RNase İnhibitörü, DNase, Etanol, Metoklopramid, EDTA, Hidroksiüre ve Sitrat açısından, test edilen örnekler için tedavi edilmemiş gruptan gözlemlenen sapmalar kabul edilen sınırlar içinde olduğunda, ilgili C_{maks} değerlerinde enterferans etkisi görülmemiştir.

Eksojen enterferans yapan maddeler Ters Transkriptaz, heparin ve Proteinaz K açısından, CLSI EP37 (1. baskı) tarafından hesaplanan veya önerilen ilgili C_{maks} değerinde enterferans görülmemiş ve enterferansın tespit edilemediği yere kadar ek dilüsyonlar test edilmiştir. Ters Transkriptaz enzimi için test edilen C_{maks} %0,2 h/h, enzim, test edilen cDNA sentez kitlerinin üreticileri tarafından talimat verildiği gibi ısı ile inaktive edilmedikçe enterferans göstermiştir. Heparin için 3,3 U/dL ve Proteinaz K enzimi için %0,0001 h/h enterferans göstermemiştir.

Kan antikoagülanları EDTA, sodyum sitrat ve heparin, önerilen izolasyon kitleri ile ek olarak test edilmiştir. Analitik performans üzerinde bir etki tespit edilmemiştir. İzolasyon kitlerinin iş akışının, antikoagülanlardan ve RNA izolasyon reaktiflerinden türetilen test edilen enterferans yapıcı maddeleri etkili bir şekilde gidereceğini tahmin ediyoruz.

Tablo 15 Test edilen endojen ve eksojen enterferans yapıcı maddelerin enterferans oluşturmayan konsantrasyonları.

Enterferans Yapan Madde Türü	Kategori	Enterferans Yapan Madde	Enterferans yapmayan test edilen konsantrasyon
Endojen	Tam kan bileşenleri	Tam kan	PCR reaksiyonunda %0,087 h/h
Eksojen	Antikoagülanlar	EDTA	0,099 mg/dL
		Sitrat	PCR reaksiyonunda %0,004 h/h

Enterferans Yapan Madde Türü	Kategori	Enterferans Yapan Madde	Enterferans yapmayan test edilen konsantrasyon
	RNA izolasyon reaktifleri	Heparin	3,3 U/dL
		Proteinaz K	PCR reaksiyonunda %0,0001 h/h
		Etanol	PCR reaksiyonunda %0,3 h/h
		DNaz	PCR reaksiyonunda %0,16 h/h
	cDNA ters transkripsiyon reaktifleri	DTT	PCR reaksiyonunda %0,2 h/h
		RNaz İnhibitörü	PCR reaksiyonunda %0,2 h/h
		Ters Transkriptaz	PCR reaksiyonunda %0,2 h/h (ısı ile inaktive edilmiş)
	Antiemetik ajan	Metoklopramid	0,225 mg/dL
	Antineoplastik ajan	Hidroksiüre	3,08 mg/dL

Kullanımda Kararlılık

Tüm kararlılık çalışmaları, ISO 23640:2015 ve CLSI EP25-(2. baskı) kılavuzuna uygun olarak planlanmıştır. Tüm kararlılık çalışmaları için aşağıdaki prosedür uygulanmıştır: Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit, çeşitli süreler boyunca birden fazla zaman noktasında test edilmiştir. Yapay örnekler ve Mentype® AMLplex^{QS} Pozitive Control analiz edilmiştir. Çeşitli koşulların nihai değerlendirmesi, başlangıç zaman noktası (T_0) ile sonraki zaman noktaları (T_n) arasındaki ortalamaların karşılaştırmasını içeriyordu ve aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır:

$$abs. \Delta_n = |\bar{x}_{T_0} - \bar{x}_{T_n}|$$

Kullanımda kararlılık çalışması için iki deney gerçekleştirilmiştir. Biri, birkaç dondurma ve çözme döngüsünden sonra kitlerde kararlılığı test etmek ve diğeri, dondurma ve çözme ve iddia edilen raf ömrü kararlılık çalışmasının bir parçası olarak açıldıktan sonra kitlerin simüle edilmiş kullanımı sırasında kararlılığı test etmek için.

Sonuçlara dayanarak, Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit, 20 dondurma ve çözme döngüsüne kadar kararlıdır ve açıldıktan sonra 24 aya kadar kullanılabilir.

Klinik performans verileri

Çalışma tasarımı, etik ve düzenleyici konular

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit ve referans yöntemler, 297 hasta örneği ve 10 sağlıklı gönüllü üzerinde test edilmiştir. Bu çalışmanın amacı, tıbbi cihaz yasası 'Medizinproduktegesetz' §§20 ila 24'e göre klinik kanıt sağlamaktır. Sitogenetik (FISH) ve/veya içsel olarak doğrulanmış monoplex-qPCR referans yöntemleri kullanılarak cihazla uyumun ispatlanması gerekmiştir. Sorumlu etik komisyonun onayı 06.06.2012 tarihinde alınmıştır.

Referans yöntemler

Birincil hedef, referans yöntemlerle karşılaştırıldığında tanısal duyarlılık ve özgüllüğün belirlenmesidir. Referans yöntem olarak, bir dizi translokasyon için standartlaştırılmış Fluorescence-In-Situ-Hybridization (FISH) gerçekleştirilmiştir [Grimwade ve ark. Blood 116: 354-65, 2010]. Sitogenetik ile ele alınamayan translokasyonlar, test laboratuvarında kurulan ve doğrulanan monoplex-nested-PCR testleri ile test edilmiştir [Steudel ve ark. Genes Chromosomes Cancer 37: 237-51, 2003, van Dongen ve ark. Leukemia 13: 1901-28, 1999].

RNA ekstraksiyonu ve saflaştırılması

Örneklerden yoğunluk gradyan santrifüjü ile mononükleer hücreler (MNC) toplanmıştır. Ardından, ticari olarak temin edilebilen kitler kullanılarak total RNA izolasyonu ve cDNA'ya ters transkripsiyon gerçekleştirilmiştir. cDNA'nın kalitesi, gerçek zamanlı PCR ile analiz edilmiştir. Füzyon genlerini ve mutasyonları doğrulamak için doğrulanmış tekli PCR testleri kullanılmıştır.

Sonuçlar

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit, 10 sağlıklı gönüllünün test edilen cDNA'sı ile yalancı pozitif sonuç vermemiştir.

Test edilen 297 hasta örneğinden 5'i, önerilen eşik değerin altında iç ABL kontrolünün tespiti nedeniyle değerlendirilememiştir. Kalan 292 örnekten 201'i, referans yöntemlerle karşılaştırıldığında gerçek negatif sonuçlar göstermiştir.

Karşılaştırma testlerinin kendi özel sonuçları Tablo 16 içinde özetlenmiştir. PICALM::MLLT10 (CALM-AF10) ve KMT2A::MLLT4 (MLL-AF6) gen füzyonları, önceden karakterize edilmiş pozitif örnekler mevcut olmadığından tanısal duyarlılık açısından değerlendirilememiştir.

Genel olarak, %94 tanısal duyarlılık ve %99,5 tanısal özgüllük elde edilmiştir.

Tablo 16 Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit klinik performans verileri sonuçlarının özeti. *Prevalans verileri Grimwade ve ark. 2010'dan alıntılanmıştır. d.e. = değerlendirilmedi

Biyomarker				Klinik performans değerlendirmesi (n=292)					
Gen Füzyonu	Krom. aberasyon	Varyant	Prev* [%]	Gerçek pozitif	Gerçek negatif	Yanlış pozitif	Yanlış negatif	Tanısal duyarlılık [%]	Tanısal özgüllük [%]
RUNX1:: RUNX1T1	t(8;21) (q22;q22)	n. b.	7	16	275	0	1	94,1	100,0
BCR::ABL	t(9;22) (q34;q11)	e1a3 e1a2	1	1	291	0	0	100,0	100,0
		b3a2							
		b3a3							
		b2a2							
		b2a3							
PICALM:: MLLT10	t(10;11) (p13;q14)	MLLT10_24 0- PICALM_19 87	1	0	292	0	0	d.e.	100,0
		MLLT10_24 0- PICALM_20 92							
CBFB:: MYH11	inv(16) (p13;q22)	Type A Tip B	5	28	262	0	2	93,3	100,0
		Tip C							
		Tip D							
		Tip E							
		Tip F							
		Tip G							
		Tip H							
		Tip J							
DEK:: NUP214	t(6;9) (p23;q34)	n. b.	1	3	289	0	0	100,0	100,0
KMT2A:: MLLT4	t(6;11) (q27;q23)	n. b.	<0,5	0	292	0	0	d.e.	100,0
KMT2A:: MLLT3	t(9;11) (p22;q23)	6A (6A_S; 6A_L)	1	4	287	0	1	80,0	100,0
		7A							
		8A							
		6B							

Biyomarker					Klinik performans değerlendirilmesi (n=292)				
Gen Füzyonu	Krom. aberasyon	Varyant	Prev* [%]	Gerçek pozitif	Gerçek negatif	Yanlış pozitif	Yanlış negatif	Tanısal duyarlılık [%]	Tanısal özgüllük [%]
KMT2A::ELL	t(11;19)	e10e2	1	0	290	1	1	0,0	99,7
	(q23;p13.1)	e10e3							
KMT2A-PTD	Kismi	e9e3	5-7	23	269	0	0	100,0	100,0
	Tandem	e10e3							
	Çoğaltma	e11e3							
NPM1::MLF1	t(3;5) (q25.1;q34)	n. b.	<0,5	2	290	0	0	100,0	100,0
PML::RARA	t(15;17)	bcr1	13	8	284	0	0	100,0	100,0
	(q22;q21)	bcr2							
		bcr3							
Özet			37	85	201	1	5	94,4	99,5

Tanısal Değerlendirme

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit klinik performans özellikleri kabul edilebilir sonuçlar göstermiştir. Klinik performans değerlendirmesi için parametreler, [Tablo 17](#) kısmında gösterildiği gibi IVDR (AB) 2017/746 Ek I, Bölüm 9.1b uyarınca hesaplanmıştır.

Tablo 17Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit tanısal özellikleri

Tanısal Özellik	Tahmin	Alt Güven Aralığı	Üst Güven Aralığı
Tanısal Duyarlılık	%94,4	%87,7	%97,6
Tanısal Özgüllük	%99,5	%97,3	%99,9
Pozitif Öngörü Değeri	%98,8	%93,7	%99,8
Negatif Öngörü Değeri	%97,6	%94,4	%99,0
Tanısal Doğruluk	%98,0	%95,6	%99,1

Kalite Kontrol

Tüm kit bileşenleri BIOTYPE GmbH'de yoğun bir kalite güvence sürecinden geçmektedir. Test kitlerinin kalitesi, kısıtlamasız kullanılabilirliği sağlamak için sürekli izlenmektedir. Kalite güvence ile ilgili herhangi bir sorunuz varsa lütfen bizimle iletişime geçin.

Teknik Destek

Teknik tavsiye için lütfen Müşteri Destek Ekibimizle iletişime geçin:

e-posta: support@biotype.de

telefon: +49 (0)351 8838 400

Referanslar

Asou H, Tashiro S, Hamamoto K, Otsuji A, Kita K, Kamada N (1991) Establishment of a human acute myeloid leukemia cell line (Kasumi-1) with 8;21 chromosome translocation. Blood 77(9): 2031-2036.

Beillard E, Pallisgaard N, van der Velden VHJ, Bi W, Dee R, van der Schoot E, Delabesse E, Macintyre E, Gottardi E, Saglio G, Watzinger F, Lion T, van Dongen JJM, Hokland P, Gabert J (2003)

Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using 'real-time' quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR)- a Europe against cancer program. Leukemia 17:2474-2486.

Schnittger S, Kinkelin, Schoch U, Heinecke, A, Haase D, Haferlach T, Büchner T, Wörmann B, Hiddemann W & Griesinger F (2000) Screening for MLL tandem duplication in 387 unselected patients with AML identify a prognostically unfavorable subset of AML. Leukemia 14, 796–804

Van Dongen JJM, Macintyre EA, Gabert JA, Delabesse E, Rossi V, Saglio G, Gottardi E, Rambaldi A, Dotti G, Griesinger F, Parreira A, Gameiro P, Gonzalez Diaz M, Malec M, Langerak AW, San Miguel JF, Biondi A (1999) Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease - Report of the BIOMED-1 Concerted Action: Investigation of minimal residual disease in acute leukemia. Leukemia 13:1901-1928.

Kullanım Sınırlamaları

- Bu el kitabındaki prosedürler tarif edildiği gibi takip edilmelidir. Herhangi bir sapma, testin başarısız olmasına veya hatalı sonuçlara neden olabilir.
- Bu ürünün kullanımı, PCR teknikleri ve kapiller jel elektroforezi konusunda özel eğitim almış profesyonel laboratuvar kullanıcıları ile sınırlıdır.
- Bu testin optimal performansı için uygun numune toplama, taşıma, depolama ve işleme prosedürleri gereklidir.
- Bu test doğrudan numune üzerinde kullanılmamalıdır. Bu testi kullanmadan önce uygun nükleik asit ekstraksiyon yöntemleri uygulanmalıdır.
- Kit, yalnızca bölüm Gerekli ancak sağlanmayan malzeme ve cihazlar içinde tanımlanan reaktifler, cihazlar ve yazılımlar ile kullanım için doğrulanmıştır.
- Mentype® AMLplex^{QS}, AML alt tip sınıflandırması için bir tarama aracı olarak tasarlanmış, doğrulanmış ve sertifikalandırılmıştır. Bu uygulama, Minimal Residual Disease (MRD) (Minimal Rezidüel Hastalık) izleme veya diğer lösemi alt tiplerini veya pediatrik AML'yi doğrulamak için olduğu gibi, kopya sayıları belirlemeye uygun değildir.
- Genetik değişkenlik nedeniyle, single nucleotide polymorphism (SNP) (tek nükleotid polimorfizmi) veya kısa insertion deletion polymorphism (INDEL) (insersiyon delesyon polimorfizmi), primer etkinliği veya şablon erişilebilirliğini etkileyebilir. Tüm etnik gruplar için insan genomu tertibatının en son sürümünün analizinde (HG38), primer fonksiyon kaybına neden olan yalnızca bir kritik SNP bulunmuştur. Varyant allel, Afrika nüfusunun %0,6'sında görülür ve <%1 prevalans ile nadiren bildirilen bir füzyon geni olan PICALM::MLLT10 için primer bağlanma bölgesinde yer alır. Ancak, düşük gen füzyon prevalansı ile birlikte dünya nüfusunda SNP oluşma olasılığının düşük olması nedeniyle, yalancı negatif sonuç riski düşüktür. Herhangi bir belirsizlik durumunda, lütfen sonuçları referans yöntemlerle doğrulamayı düşünün.
- Kitin performansını sağlamak için iyi laboratuvar uygulamaları gereklidir.
- Sonuçlar eğitimli bir sağlık profesyoneli tarafından yorumlanmalıdır.
- Sonuçların yorumlanmasında, yalancı negatif ve yalancı pozitif sonuç olasılığı hesaba katılmalıdır.

- Son kullanma tarihi geçmiş veya yanlış depolanmış bileşenleri kullanmayın.

Sipariş bilgileri

Siparişlerinizi e-posta yoluyla sales@biotype.de adresine yönlendirin.

Ürün	Ambalaj boyutu	Sipariş numarası
Mentype® AMLplex ^{QS} PCR Amplification Kit	25 reaksiyon	45-12100-0025
	100 reaksiyon	45-12100-0100
	400 reaksiyon	45-12100-0400
Matrix Standard BT5 multi	1 x 25 µL	45-15100-0025
	2 x 25 µL	45-15100-0050

Ticari Markalar ve Sorumluluk Reddi Beyanları

Mentype®, BIOTYPE GmbH'nin tescilli ticari markasıdır.

Diğer ticari markalar: ABI PRISM®, GeneMapper®, GeneAmp® ve Applied Biosystems® (Applied Biosystems LLC grubu); QIAamp® (Qiagen); POP-4™, POP-1™, POP-7™ (Avrupa: Applied Biosystems LLC, ABD: Life Technologies Corporation). PCR, patentlerle korunmaktadır. Patent sahipleri Hoffmann-La Roche Inc. ve F. Hoffmann-La Roche (Roche).

Bu belgede kullanılan tescilli isimler, ticari markalar vb., özellikle belirtilmemiş olsa bile, yasalarla korunmuyor olarak kabul edilmemelidir.

Mentype® AMLplex^{QS} PCR Amplification Kit, Avrupa in vitro tanı düzenlemesi (AB) 2017/746'ya göre CE işaretli bir tanı kitidir.

Ürün, Health Canada tarafından lisanslanmamış ve FDA tarafından izin verilmemiş veya onaylanmamıştır.

Tüm ülkelerde mevcut değildir.

© 2025 BIOTYPE GmbH; tüm hakları saklıdır.

Sembollerin Açıklaması



İmalatçı



Lot numarası



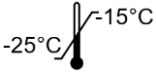
<N> test için yeterli reaktif içerir



Elektronik kullanım kılavuzuna (eIFU) bakın



Son kullanma tarihi



Sıcaklık sınırı



Katalog numarası



İn vitro tanı tıbbi cihazı



Güneş ışığından uzak tutun



Kuru tutun



Unique device identifier

Bu Kullanım Kılavuzunda kullanılan diğer işaretlemeleler:

i

Faydalı ipuçları



Dikkat, bu uyarıya uyduğunuzdan emin olun!

mavi altı çizili metin

Ana sayfalar, e-posta adresleri gibi harici içeriğe yönlendiren bağlantılar

siyah altı çizili metin

Kolay gezinme için belgede çapraz bağlantılar

girintili, italik, kalın metin

Bir yazılımda tıklanacak alanlar

Ek

Hedef gen listesi

Gen	Alternatif isimler	Transkript Kimliği
RUNX1	AML1, AMLCR1, CBFA2, PEBP2A2	ENST00000675419.1
RUNX1T1	AML1T1, CBFA2T1, CDR, ETO, MTG8, ZMYND2	ENST00000523629.7
BCR	ALL, BCR1, CML, D22S11, D22S662, PHL	ENST00000305877.13
ABL1	ABL, C-ABL, JTK7, P150	ENST00000318560.6
MLLT10	AF10	ENST00000307729.12
PICALM	CALM, CLTH	ENST00000393346.8
CBFB	PEBP2B	ENST00000412916.7
MYH11	SMHC, SMMHC, SMMS-1	ENST00000300036.6
DEK	D6S231E	ENST00000652689.1
NUP214	CAIN, CAN, D9S46E, N214	ENST00000359428.10
KMT2A	ALL-1, ALL1, CXXC7, HRX, HTRX, HTRX1, MLL, MLL1, MLL1A, TRX1	ENST00000534358.8
MLLT4	AF-6, AF6, AFDN	ENST00000683244.1
MLLT3	AF-9, AF9, YEATS3	ENST00000380338.9
ELL	C19ORF17, ELL1, MEN, PPP1R68	ENST00000262809.9
NPM1	B23, NPM	ENST00000296930.10
MLF1	-	ENST00000466246.7
PML	MYL, RNF71, TRIM19	ENST00000268058.8
RARA	NR1B1, RAR, RAR-ALPHA, RARALPHA	ENST00000254066.10

Referans örneklerin elektroferogramları

Aşağıdaki sayfalarda Mentype® AMLplex^{QS} Allelic Ladder (Şekil 2), Mentype® AMLplex^{QS} Positive Control (PC, Şekil 3) ve no template control (NTC, Şekil 4) örneklerinin elektroferogram örneklerini bulabilirsiniz.

Tüm örnekler bir ProFlex PCR döngüleyici üzerinde amplifiye edilmiş ve 3500 Genetic Analyzer (POP-4, 36 cm dizi) üzerinde doğrulanmış çalışma parametresi kullanılarak analiz edilmiştir. Veri analizi GeneMapper ID-X sürüm 1.6 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bins, Panels ve Analysis method

Tablo 11 uyarınca uygulanmıştır.

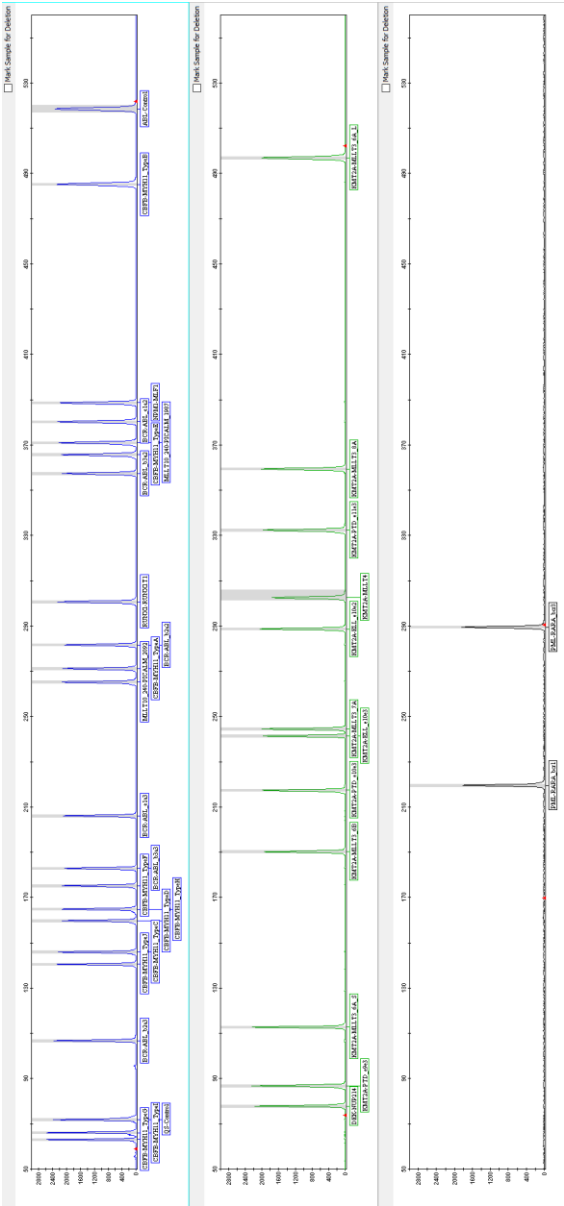
Elektroferogramlar, 50 – 560 bp (x eksen) fragman uzunluğuna yakınlştırılmıştır. Y ekseninin ölçeklendirilmesi ayrı olarak gerçekleştirilmiştir:

Şekil 2, sayfa 55: Mentype® AMLplex^{QS} Allelic Ladder: 3.000 RFU

Şekil 3, sayfa 56: Mentype® AMLplex^{QS} Positive Control: 9.000 RFU

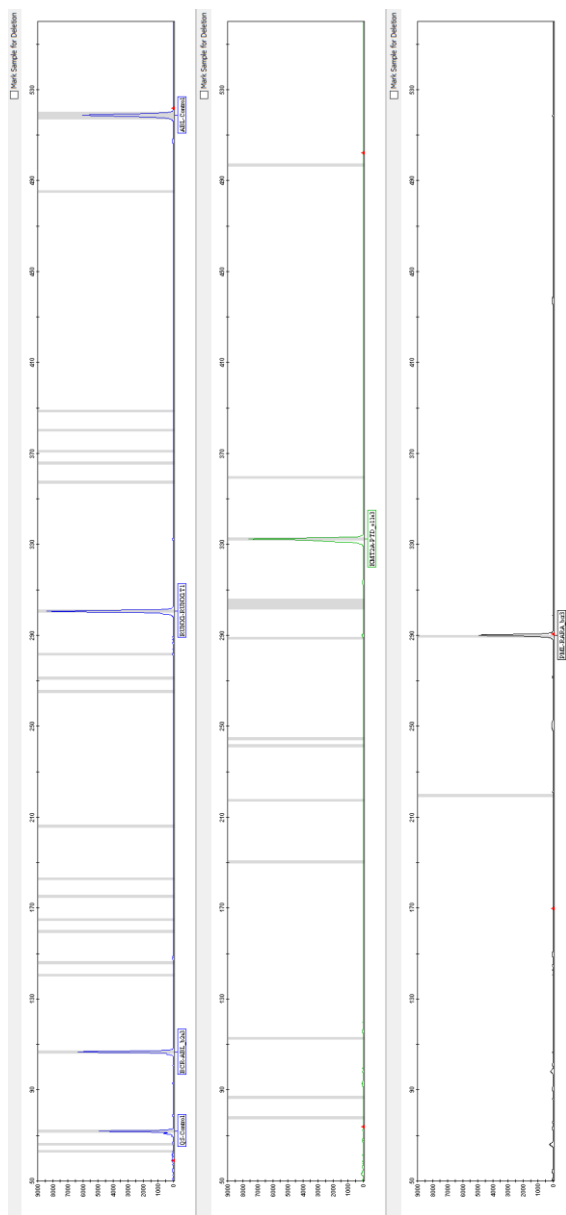
Şekil 4, sayfa 57: No template control (NTC): 9.000 RFU

Mentype® AMLplex^{QS} Allelic Ladder



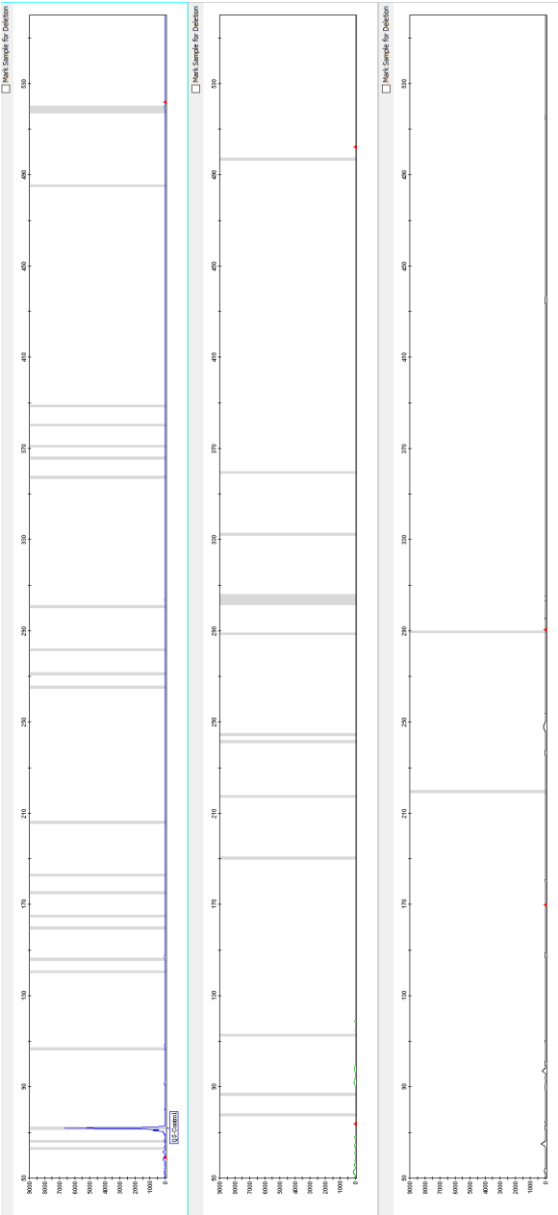
Şekil 2 Mentype® AMLplex^{QS} Allelic Ladder

Mentype® AMLplex^{QS} Positive Control (PC)



Şekil 3 Mentype® AMLplex^{QS} Positive Control (PC)

No template control (NTC)



Şekil 4 No template control (NTC)

BIOTYPE GmbH

Moritzburger Weg 67

01109 DRESDEN

GERMANY

Tel.: +49 351 8838 400

Faks: +49 351 8838 403

www.biotype.de

Sipariş

sales@biotype.de

Müşteri Hizmetleri ve Destek

support@biotype.de

