



A Sysmex Group Company



### Gebruiksaanwijzing

REF: LPH 030-S / LPH030

## IGH/FGFR3 Translocation, Dual Fusion Probe



ALLEEN VOOR PROFESSIONEEL GEBRUIK



www.cytocell.com

Meer informatie en andere talen zijn beschikbaar via [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

### Beperkingen

Dit apparaat is ontworpen om herschikkingen met breekpunten te detecteren in het gebied dat wordt beslaan door de rode en groene klonen in deze sondeset, inclusief de gebieden *IGH* en *FGFR3*. Breekpunten buiten dit gebied, of herschikkingen die geheel binnen dit gebied liggen, worden mogelijk niet gedetecteerd door dit product.

De test is niet bedoeld voor: gebruik als enig diagnostisch criterium, prenatale tests, screening op basis van populatie, decentrale ('near-patient') tests of zelftests. Dit product is uitsluitend bedoeld voor professioneel gebruik in een laboratorium; alle resultaten moeten worden geïnterpreteerd door voldoende gekwalificeerd personeel en er moet rekening worden gehouden met andere relevante testresultaten.

Dit product is niet gevalideerd voor gebruik met monstertypes of ziektypen die niet worden gespecificeerd als het beoogde gebruik.

De rapportage en interpretatie van FISH-resultaten moet consistent zijn met professionele standaardprocedures en er moet rekening worden gehouden met andere klinische en diagnostische informatie. Deze set is bedoeld als aanvulling op andere diagnostische laboratoriumtests en er mag geen therapeutische actie worden ondernomen op basis van enkel het FISH-resultaat.

De prestaties van het apparaat worden mogelijk beïnvloed als het protocol niet wordt opgevolgd. Dit kan ook leiden tot fout-positieve/negatieve resultaten.

Deze set is niet gevalideerd voor doeleinden die niet worden genoemd als het beoogde gebruik.

### Beoogd gebruik

De CytoCell IGH/FGFR3 Translocation, Dual Fusion Probe is een kwalitatieve, niet-geautomatiseerde, fluorescentie-*in-situ* hybridisatietest (FISH) die wordt gebruikt voor het detecteren van chromosoomherschikkingen tussen het gebied 4p16.3 op chromosoom 4 en het gebied 14q32.3 op chromosoom 14 in een Carnoy's oplossing (3:1 methanol/azijnzuur) met gefixeerde hematologisch verkregen celsuspensies van patiënten die vermoedelijk multipel myeloom (MM) hebben of daarmee zijn gediagnosticeerd.

### Indicaties

Dit product is bedoeld als aanvulling op andere klinische en histopathologische tests in erkende diagnostische en klinische zorgtrajecten waarbij het belangrijk is de translocatiestatus van *IGH-FGFR3* te weten voor de klinische behandeling.

### Testprincipes

Fluorescentie-*in-situ* hybridisatie (FISH) is een techniek waarmee DNA-sequenties kunnen worden gedetecteerd op metafasechromosomen of in interfase nuclei van vaste cytogenetische monsters. De techniek maakt gebruik van DNA-sondes die hybridiseren tot gehele chromosomen of enkele unieke sequenties en is een goede aanvulling op cytogenetische analyse met G-banding. Deze techniek kan nu worden toegepast als essentieel onderzoekshulpmiddel voor prenatale en hematologische chromosoomanalyse en chromosoomanalyse van solidetumoren. Doel-DNA is, na fixatie en denaturatie, beschikbaar voor vasthechting aan een soortgelijk gedeneureerde en fluorescent gelabelde DNA-sonde, die een complementaire sequentie bevat. Na de hybridisatie worden niet-gebonden en niet-specifiek gebonden DNA-sondes verwijderd en wordt het DNA tegengekleurd ter visualisatie. Fluorescentiemicroscopie maakt vervolgens de visualisatie van de gehybridiseerde sonde op het doelmateriaal mogelijk.

### Sonde-informatie

Het *FGFR3*-gen (*fibroblast growth factor receptor 3*) bevindt zich op 4p16.3 en *IGH* (*immunoglobuline zware locus*) bevindt zich op 14q32.33.

Ongeveer 50-60% van alle gevallen van multipel myeloom (MM) worden in verband gebracht met translocaties van *IGH* en één of meerdere partners, waaronder *CCND1*, *NSD2* (*MMSET*) en *FGFR3*, *CCND3*, *MAF* of *MAFB*<sup>1</sup>.

De t(4;14)(p16.3;q32.3)-translocatie is een terugkerende translocatie die in 15% van de MM-gevallen voorkomt<sup>2,3</sup>.

De translocatie leidt tot de ontregeling van twee genen op 4p16; *NSD2* (*nuclear receptor binding SET-domain eiwit 2*) en *FGFR3*. Het gevolg van de translocatie is verhoogde expressie van *FGFR3* en *NSD2*. De translocatie kan ongebalanceerd zijn (in 25% van de gevallen gaat het afgeleide chromosoom 14 verloren) en wordt in verband gebracht met het verlies van *FGFR3*-expressie<sup>2,3</sup>.

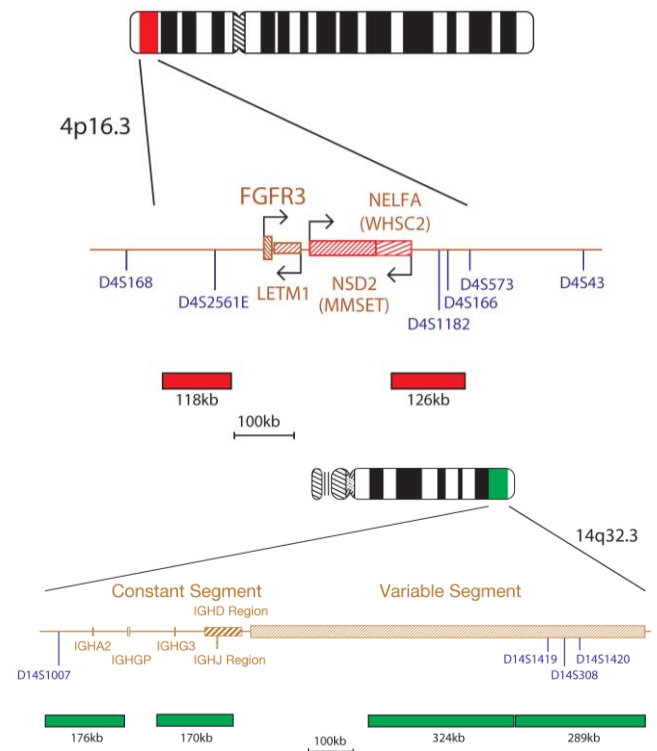
De meerderheid van de breekpunten op chromosoom 4 treden op tussen *FGFR3* en *NSD2*. Het breekpunt op chromosoom 14 bevindt zich bijna altijd in het 'switch'-gebied van constante genen. Voor de overexpressie van zowel *FGFR3* en *NSD2*, moet het breekpunt op chromosoom 14 zich bevinden tussen de  $\mu$ -enhancer en de 3' *IGH*-enhancer en tussen *FGFR3* en *NSD2*. Als gevolg daarvan bevatten beide afgeleide chromosomen een enhancer naast een oncogen<sup>4</sup>.

Deze t(4;14)-translocatie is vaak cytogenetisch cryptisch en was slecht beschreven voor de opkomst van FISH-technieken. De translocatie wordt in verband gebracht met een slechtere overlevingskans bij MM-patiënten<sup>2,3</sup>.

### Sondespecificatie

*FGFR3*, 4p16.3, rood

*IGH*, 14q32.33, groen



Het IGH/FGFR3-product bestaat uit sondes, groen gemarkeerd, die de constante, J, D, en variabele segmenten van het *IGH*-gen beslaan en *FGFR3*-sondes, rood gemarkeerd. Het *FGFR3*-sondemengsel bevat een 118kb-sonde telomeerisch van *FGFR3*, inclusief de marker D4S2561E, en een tweede sonde die het gebied van 126kb centromerisch van *MMSET* beslaat, inclusief de marker D4S1182.

### Geleverde materialen

**Sonde:** 50  $\mu$ l per buisje (5 tests) of 100  $\mu$ l per buisje (10 tests)

De sondes worden vooraf gemengd in een hybridisatieoplossing (formamide; dextraansulfaat; SSC-buffer [saline-sodium citrate; zout-natriumcitraat]) geleverd en zijn klaar voor gebruik.

**Tegenkleuring:** 150  $\mu$ l per buisje (15 tests)

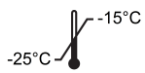
De tegenkleuring is DAPI Antifade (ES: 0,125  $\mu$ g/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenylindool)).

### Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

1. Voor *in-vitro* diagnostiek. Alleen voor professioneel gebruik.
2. Draag handschoenen bij het hanteren van DNA-sondes en DAPI-tegenkleuring.
3. De sondemengsels bevatten formamide. Dit is een teratogeen; vermijd het inademen van de dampen en huidcontact. Wees voorzichtig; draag handschoenen en een labjas.
4. DAPI is mogelijk carcinogeen. Wees voorzichtig; draag handschoenen en een labjas.

- Voer al het gevaarlijke materiaal af volgens de richtlijnen voor het afvoeren van gevaarlijk afval van uw instelling.
- Gebruikers moeten de kleuren rood, blauw en groen kunnen onderscheiden.
- De prestaties van het apparaat worden mogelijk beïnvloed als het beschreven protocol niet wordt opgevolgd en de voorgeschreven reagentia niet worden gebruikt. Dit kan ook leiden tot fout-positieve/negatieve resultaten.
- De sonde moet niet worden verdund of gemengd met andere sondes.
- De prestaties worden mogelijk beïnvloed als er geen 10 µl sonde wordt gebruikt tijdens het pre-denaturatiestadium van het protocol. Dit kan ook leiden tot fout-positieve/negatieve resultaten.

#### Opslag en beheer



De set moet worden bewaard in een vriezer bij -25 °C tot -15 °C tot de vervaldatum die is aangegeven op het setlabel. De sonde en buisjes met tegenkleuring moeten in het donker worden bewaard.



De sonde blijft stabiel gedurende bevries-ontdooicycli bij normaal gebruik (waarbij één cyclus bestaat uit het verwijderen van de sonde uit en terugplaatsen in de vriezer) en is fotostabiel gedurende maximaal 48 uur na blootstelling aan continue belichting. Voorkom onnodige blootstelling aan licht en temperatuurschommelingen.

#### Benodigde maar niet meegeleverde apparatuur en materialen

Benodigde gekalibreerde apparatuur:

- Verwarmingsplaat (met een vaste plaat en nauwkeurige temperatuurbediening tot maximaal 80 °C)
- Gekalibreerde micropipetten en tips met variabel volume van 1 µl - 200 µl
- Waterbad met nauwkeurige temperatuurbediening op 37 °C en 72 °C
- Microcentrifugebuisjes (0,5 ml)
- Florescentiemicroscop (zie de paragraaf Aanbevelingen fluorescentiemicroscop)
- Fasecontrastmicroscop
- Schone Coplin-potjes van plastic, keramiek of hittebestendig glas
- Tang
- Gekalibreerde pH-meter (of pH-indicatorstrips die pH6,5 - 8,0 kunnen meten)
- Bevochtigde container
- Immersie-olie van fluorescentieniveau voor microscoplenzen
- Werkbladcentrifuge
- Objectglasjes
- Dekglasjes van 24x24 mm
- Timer
- 37 °C-incubator
- Rubberen lijmoplossing
- Vortexmenger
- Maatcilinders
- Magneetroerder
- Gekalibreerde thermometer

#### Optionele maar niet meegeleverde apparatuur

- Cytogenetische droogkamer

#### Benodigde maar niet meegeleverde reagentia

- 20x SSC-oplossing
- 100% ethanol
- Tween-20
- 1M natriumhydroxide (NaOH)
- 1M zoutzuur (HCl)
- Gezuiverd water

#### Aanbevelingen fluorescentiemicroscop

Gebruik een kwiklamp van 100 W of gelijkwaardig en planapochromatische objectieven voor olie-immersie van 60/63x of 100x voor optimale visualisatie. De fluoroforen die in deze sondeset worden gebruikt, worden geëxciteerd en uitgezonden bij de volgende golflengtes:

Fluorofoor	Excitatie <sub>max</sub> [nm]	Emissie <sub>max</sub> [nm]
Groen	495	521
Rood	596	615

Zorg ervoor dat de juiste excitatie- en emissiefilters die de bovenstaande golflengtes beslaan op de microscop worden aangebracht. Gebruik een drievoudige bandpassfilter voor DAPI/het groene spectrum/het rode spectrum of een tweevoudige bandpassfilter voor het groene spectrum/rode spectrum voor optimale gelijktijdige visualisatie van de groene en rode fluoroforen.

Controleer de fluorescentiemicroscop voorafgaand aan gebruik op een juiste werking. Gebruik immersie-olie die geschikt is voor fluorescentiemicroscopie en is geformuleerd voor lage autofluorescentie. Vermijd het mengen van DAPI Antifade met microscopimmensie-olie, omdat dit signalen kan verstoren. Volg de richtlijnen van de fabrikant wat betreft de levensduur van de lamp en de filters.

#### Monstervoorbereiding

De set is ontworpen voor gebruik op celsuspensies die hematologisch zijn verkregen, zijn gefixeerd in Camoy's fixeroplossing (3:1 methanol/azijnzuur) en zijn voorbereid volgens de richtlijnen van het laboratorium of de instelling. Bereid aan de lucht gedroogde monsters voor op objectieflaasjes volgens standaard cytogenetische procedures. De AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* bevat aanbevelingen voor monsterverzameling, -kweken, -afname en voor het maken van glaasjes<sup>9</sup>.

#### Oplossingsvoorbereiding

##### Ethanoloplossingen

Verdund 100% ethanol met gezuiverd water volgens de volgende verhoudingen en meng grondig.

- 70% ethanol - 7 delen 100% ethanol op 3 delen gezuiverd water
- 85% ethanol - 8,5 delen 100% ethanol op 1,5 delen gezuiverd water

Bewaar de oplossingen maximaal 6 maanden op kamertemperatuur in een luchtdichte container.

##### 2xSSC-oplossing

Verdund 1 deel 20xSSC-oplossing met 9 delen gezuiverd water en meng grondig. Controleer de pH-waarde en breng deze met NaOH of HCl naar pH 7,0 indien nodig. Bewaar de oplossing maximaal 4 weken op kamertemperatuur in een luchtdichte container.

##### 0,4xSSC-oplossing

Verdund 1 deel 20xSSC-oplossing met 49 delen gezuiverd water en meng grondig. Controleer de pH-waarde en breng deze met NaOH of HCl naar pH 7,0 indien nodig. Bewaar de oplossing maximaal 4 weken op kamertemperatuur in een luchtdichte container.

##### Oplossing 2xSSC; 0,05% Tween-20

Verdund 1 deel 20xSSC-oplossing met 9 delen gezuiverd water. Voeg 5 µl Tween-20 per 10 ml toe en meng grondig. Controleer de pH-waarde en breng deze met NaOH of HCl naar pH 7,0 indien nodig. Bewaar de oplossing maximaal 4 weken op kamertemperatuur in een luchtdichte container.

#### FISH-protocol

(Opmerking: zorg ervoor dat de sonde en tegenkleuring zo min mogelijk worden blootgesteld aan laboratoriumlampen).

##### Voorbereiding objectieflaasjes

- Plaats het celmonster op een glazen objectieflaasje. Laat het opdrogen. (Optioneel, indien een cytogenetische droogkamer wordt gebruikt: de glaasjes moeten worden bevlekt met behulp van een cytogenetische droogkamer. De kamer moet voor optimale bevlekking van het celmonster ongeveer 25 °C zijn en een luchtvochtigheid van 50% hebben. Gebruik een zuurkast als er geen cytogenetische droogkamer beschikbaar is).
- Dompel het glaasje 2 minuten onder 2xSSC op kamertemperatuur (KT) zonder het te bewegen.
- Droog in een ethanolserie (70%, 85% en 100%), 2 minuten in elke oplossing, op KT.
- Laat het opdrogen.

##### Pre-denaturatie

- Haal de sonde uit de vriezer en laat deze op KT komen. Centrifugeer de buisjes kort voorafgaand aan gebruik.
- Zorg er met een pipet voor dat de sondeoplossing gelijkmatig is vermengd.
- Verwijder 10 µl sonde per test en breng dit over naar een microcentrifugebuisje. Plaats de overgebleven sonde snel terug in de vriezer.
- Plaats de sonde en het monsterglaasje op een verwarmingsplaat van 37 °C (+/- 1 °C) gedurende 5 minuten om voor te verwarmen.
- Plaats 10 µl sondemengsel op het celmonster en plaats voorzichtig een dekglasje. Dicht het af met rubberen lijmoplossing en laat de lijm volledig opdrogen.

##### Denaturatie

- Denatureer het monster en de sonde gelijktijdig door het objectieflaasje te verwarmen op een verwarmingsplaat van 75 °C (+/- 1 °C) gedurende 2 minuten.

##### Hybridisatie

- Plaats het glaasje gedurende de nacht in een vochtige en luchtdichte container bij 37 °C (+/- 1 °C).

##### Post-hybridisatie spoelbeurten

- Haal de DAPI uit de vriezer en laat deze op KT komen.
- Verwijder het dekglasje en alle sporen van lijm voorzichtig.
- Dompel het glaasje gedurende 2 minuten onder in 0,4xSSC (pH 7,0) bij 72 °C (+/- 1 °C) zonder het te bewegen.
- Laat het glaasje afdruppen en dompel het 30 seconden onder in 2xSSC; 0,05% Tween-20 op KT (pH 7,0) zonder het te bewegen.
- Laat het glaasje afdruppen en breng 10 µl DAPI Antifade aan op ieder monster.
- Bedek het met een dekglasje, verwijder eventuele luchtballen en laat de kleur 10 minuten in het donker ontwikkelen.
- Bekijk met een fluorescentiemicroscop. (Zie **Aanbevelingen fluorescentiemicroscop**.)

##### Stabiliteit van de gereedgemaakte glaasjes

Gereedgemaakte glaasjes zijn maximaal 1 maand analysebaar, indien deze in het donker worden bewaard bij/beneden KT.

#### Proceduraanbevelingen

- Verhitten of verouderen van de glaasjes kan de signaalflorescentie verminderen
- Hybridisatiecondities kunnen nadelig worden beïnvloed door het gebruik van reagentia die niet door Cytocell Ltd. worden geleverd of aanbevolen
- Gebruik een gekalibreerde thermometer om de temperatuur van oplossingen, waterbaden en incubators te meten, omdat deze temperaturen van cruciaal belang zijn voor optimale productprestaties.

- De spoelingsconcentraties, pH en temperaturen zijn belangrijk, omdat te lage naleving kan leiden tot het niet-specifiek binden van de sonde en te hoge naleving er toe kan leiden dat er geen signaal aanwezig is
- Niet-volledige denaturatie kan ertoe leiden dat er geen signaal aanwezig is en teveel denaturatie kan ook leiden tot niet-specifiek binden
- Te veel hybridisatie kan leiden tot aanvullende of onverwachte signalen
- Gebruikers dienen het protocol te optimaliseren voor de eigen monsters alvorens de test voor diagnostische doeleinden te gebruiken
- Suboptimale condities kunnen leiden tot niet-specifieke binding, wat verkeerd kan worden geïnterpreteerd als een sondesignaal

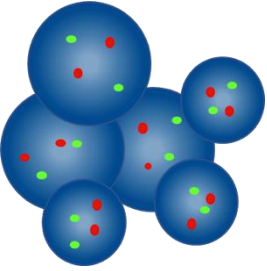
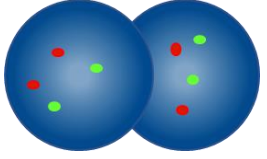
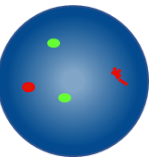
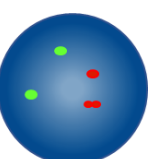
#### Interpretatie van resultaten Glaasjeskwaliteit beoordelen

Het glaasje dient niet te worden geanalyseerd indien:

- De signalen te zwak zijn om in enkelvoudige filters te worden geanalyseerd - om door te kunnen gaan met de analyse moeten signalen helder, duidelijk en eenvoudig te evalueren zijn
- De analyse wordt belemmerd door een groot aantal samengeklonterde/overlappende cellen
- >50% van de cellen niet zijn gehybridiseerd
- Er zich te veel fluorescente deeltjes bevinden tussen cellen en/of een fluorescente waas de signalen verstoort - in ideale glaasjes is de achtergrond donker of zwart en leeg
- De randen van de cellen niet kunnen worden onderscheiden en niet intact zijn

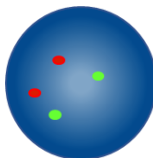
#### Analyserichtlijnen

- Ieder monster dient door twee analisten te worden geanalyseerd en geïnterpreteerd. Eventuele verschillen moeten worden verholpen door een beoordeling door een derde analist
- Iedere analist dient voldoende gekwalificeerd te zijn volgens de erkende nationale standaarden
- Iedere analist dient onafhankelijk 100 kernen te noteren voor ieder monster. De eerste analist dient de analyse te starten vanaf de linkerzijde van het glaasje en de tweede analist vanaf de rechterzijde
- Iedere analist dient zijn/haar resultaten vast te leggen op afzonderlijke bladen
- Analyseer alleen kernen die intact zijn en geen overlappende of opeengepakte kernen of kernen die worden bedekt door cytoplasmatisch gruis of een hoge mate van autofluorescentie
- Vermijd gebieden met een overmaat aan cytoplasmatisch gruis of niet-specifieke hybridisatie
- Signaalintensiteit kan afwijken, zelfs binnen een enkele kern. Gebruik in dergelijke gevallen enkelvoudige filters en/of pas het brandpuntsvlak aan
- In suboptimale condities kunnen signalen diffuus worden weergegeven. Tel het als één signaal als twee signalen van dezelfde kleur elkaar raken, als de afstand tussen de signalen niet groter is dan twee signaalbreedtes of als de twee signalen zijn verbonden door een vage draad
- Analyseer een cel niet als u niet zeker bent of deze analyseerbaar is

Analyserichtlijnen	
	Niet tellen – nucleï liggen te dicht bij elkaar om grenzen te kunnen bepalen
	Overlappende nucleï niet tellen – niet alle gebieden van beide nucleï zijn zichtbaar
	Tellen als twee rode signalen en twee groene signalen – één van de twee rode signalen is diffuus
	Tellen als twee rode signalen en twee groene signalen – het gat in één rood signaal is minder dan twee signaalbreedtes.

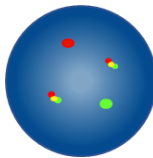
#### Verwachte resultaten

##### Verwacht normaal signaalpatroon



In een normale cel worden twee rode en twee groene signalen (2R, 2G) verwacht.

##### Verwacht abnormaal signaalpatroon



In een cel met een t(4;14)(p16.3;q32.3)-translocatie is het verwachte signaalpatroon één rood signaal, één groen signaal en twee fusies (1R, 1G, 2F).

Er zijn andere signaalpatronen mogelijk in aneuploïde/niet-gebalanceerde monsters. Let op: in de aanwezigheid van IGH-herschikkingen anders dan de IGH-FGFR3-translocatie, kan het groene IGH-signaal gesplitst lijken.

#### Bekende kruisreactiviteit

De groene IGH-sonde kan kruishybridisatie met 15q11.2 en 16p11.2 laten zien.

#### Ongewenste gebeurtenissen melden

Als u denkt dat er een storing is opgetreden bij dit apparaat of dat de prestatiekenmerken dusdanig zijn afgenomen dat dit heeft bijgedragen aan een ongewenst voorval (bijv. vertraagde of verkeerde diagnose, vertraagde of onjuiste behandeling), dient dit onmiddellijk aan de fabrikant gemeld te worden (**e-mail**: [vigilance@ogt.com](mailto:vigilance@ogt.com)).

Indien vereist dient de gebeurtenis ook te worden gemeld aan uw nationale bevoegde instantie. Een lijst met meldpunten is beschikbaar op: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

#### Specifieke prestatiekenmerken

##### Analytische specificiteit

Analytische specificiteit doet op het percentage signalen dat met de juiste locus hybridiseert en niet met andere loci. De analytische specificiteit werd bepaald door het analyseren van in totaal 200 doelloci. De analytische specificiteit werd berekend als het aantal FISH-signalen dat hybridiseerde met de juiste locus gedeeld door het totaal aantal gehybridiseerde FISH-signalen.

Tabel 1. Analytische specificiteit voor de IGH/FGFR3 Translocation, Dual Fusion Probe

Sonde	Doellocus	Aant. signalen gehybridiseerd met de juiste locus	Totaal aant. gehybridiseerde signalen	Specificiteit (%)
Rood FGFR3	4p16.3	200	200	100
Groen IGH	14q32.3	200	200	100

##### Analytische sensitiviteit

Analytische sensitiviteit is het percentage scorebare interfasecellen met het verwachte normale signaalpatroon. De analytische sensitiviteit werd bepaald door het analyseren van interfasecellen in verschillende normale monsters. De sensitiviteit werd berekend als het percentage scorebare cellen met het verwachte signaalpatroon (met een betrouwbaarheidsinterval van 95%).

Tabel 2. Analytische sensitiviteit voor de IGH/FGFR3 Translocation, Dual Fusion Probe

Aant. cellen met verwachte signaalpatronen	Aant. cellen met noteerbare signalen	Sensitiviteit (%)	95% betrouwbaarheidsinterval
469	500	93,8	2,3

#### Karakterisatie van normale drempelwaarden

De normale drempelwaarde, bij gebruik van FISH-sondes, is het maximumpercentage scorebare interfasecellen met een specifiek abnormaal signaalpatroon waarbij een monster als normaal wordt beschouwd voor dat signaalpatroon.

De normale drempelwaarde werd bepaald aan de hand van monsters van normale en positieve patiënten. Voor ieder monster werden de signaalpatronen van 100 cellen vastgelegd. De Youden-index werd berekend om de grenswaarde te bepalen waarvoor Sensitiviteit + Specificiteit - 1 is gemaximaliseerd.

Tabel 3. Karakterisatie van normale drempelwaarden voor de IGH/FGFR3 Translocation, Dual Fusion Probe

Abnormaal signaalpatroon	Youden-index	Normale drempel (%)
1R, 1G, 2F	0,99	1

Laboratoria moeten de drempelwaarden verifiëren aan de hand van hun eigen gegevens<sup>6,7</sup>.

#### Precisie en reproduceerbaarheid

Precisie is een weergave van de natuurlijke variatie van een test wanneer deze enkele keren onder dezelfde condities wordt herhaald. Dit werd bepaald door het analyseren van herhaalde tests met sondes van dezelfde partij op hetzelfde monster, die op dezelfde dag onder dezelfde condities werden uitgevoerd.

Reproduceerbaarheid is een weergave van de variabiliteit van een test en is bepaald met betrekking tot variabiliteit tussen monsters, dagen en partijen. De reproduceerbaarheid van dag tot dag werd bepaald door het analyseren van dezelfde monsters op drie verschillende dagen. De reproduceerbaarheid van partij tot partij werd bepaald door het analyseren van dezelfde monsters met sondes uit drie verschillende partijen op dezelfde dag. De reproduceerbaarheid van monster tot monster werd bepaald door het analyseren van drie replica's van een monster op één dag. Voor ieder monster werden de signaalpatronen van 100 interfasecellen vastgelegd en werd het percentage cellen met het verwachte signaalpatroon berekend.

De reproduceerbaarheid en precisie werden berekend als de standaardafwijking (STDEV) tussen replica's voor iedere variabele en als algehele gemiddelde STDEV.

Tabel 4. Reproduceerbaarheid en precisie voor de IGH/FGFR3 Translocation, Dual Fusion Probe

Variabele	Standaardafwijking (STDEV)
Precisie	0,00
Monster tot monster	0,00
Dag tot dag	0,00
Partij tot partij	0,00
Algehele afwijking	0,00

#### Klinische prestatie

De klinische prestatie werd bepaald door middel van een representatief monster voor de beoogde populatie voor dit product. Voor ieder monster werden de signaalpatronen van  $\geq 100$  interfasecellen vastgelegd. Er werd bepaald of een monster normaal/abnormaal was door het percentage cellen met het specifieke abnormaal signaalpatroon te vergelijken met de normale drempelwaarde. De resultaten werden vervolgens vergeleken met de bekende status van het monster.

De resultaten van de klinische gegevens werden geanalyseerd om de sensitiviteit, specificiteit en drempelwaarden vast te stellen aan de hand van een eendimensionale benadering.

Tabel 5. Klinische prestaties voor de IGH/FGFR3 Translocation, Dual Fusion Probe

Variabele	Resultaat
Klinische sensitiviteit (TPR [true positive rate; percentage terecht positieven])	99,9%
Klinische specificiteit (TNR [true negative rate; percentage terecht negatieven])	100%
Percentage fout-positieven (FPR) = 1 – Specificiteit	0%

#### Aanvullende informatie

Neem contact op met de afdeling Technische ondersteuning van CytoCell voor aanvullende productinformatie.

T: +44(0) 1223 294048

E: techsupport@cytoCELL.com

W: www.ogt.com

#### Referenties

- Fonseca *et al.*, Cancer Res 2004;64: 1546-58
- Fonseca *et al.*, Leukemia 2009;23(12):2210-2221
- Sawyer, Cancer Genetics 2011;204(1):3-12
- Walker *et al.*, Blood 2013;121(17):3413-3419
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
- 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.

#### Symbolenverklaring

REF	nl: Catalogusnummer
IVD	nl: Apparaat voor <i>in-vitro</i> diagnostiek
LOT	nl: Partijnummer
	nl: Raadpleeg de gebruiksaanwijzing
	nl: Fabrikant
	nl: Gebruiken voor
	nl: Temperatuurgrens
	nl: Buiten bereik van zonlicht bewaren
	nl: Voldoende voor <n> tests
CONT	nl: Inhoud

#### Patenten en handelsmerken

CytoCell is een geregistreerd handelsmerk van CytoCell Ltd.



#### CytoCell Ltd.

Oxford Gene Technology,  
418 Cambridge Science Park,  
Milton Road,  
Cambridge, CB4 0PZ, VK  
T: +44(0) 1223 294048  
F: +44(0) 1223 294986  
E: probes@cytoCELL.com  
W: www.ogt.com