



A Sysmex Group Company



Brugsanvisning

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

EV11 (MECOM) Breakapart Probe



KUN TIL ERHVERVSMÆSSIG BRUG



Yderligere information og andre sprog findes på ogt.com/IFU

Tilsigtet formål

CytoCell® EV11 (MECOM) Breakapart Probe er en kvalitativ, ikke-automatiseret fluorescens-*in situ*-hybridisering (FISH), der anvendes til at detektere kromosomale omlejninger i 3q26.2-regionen på kromosom 3 ved brug af hæmatologisk-deriverede cellesuspensioner, der er fikseret i Carnoys opløsning (3:1 methanol/eddikesyre), fra patienter med bekræftet eller mistænkt akut myeloid leukæmi (AML) eller myelodysplastisk syndrom (MDS).

Indikationer for brug

Denne enhed er designet som et supplement til andre kliniske og histopatologiske tests i anerkendte diagnostiske og kliniske plejeforløb, hvor viden om status af MECOM-omlejninger vigtig for den kliniske håndtering.

Begrænsninger

Dette produkt er designet til at detektere omlejninger med følsomhedsgrænser i den region, der afgrænses af de røde og de grønne kloner i dette probesæt, som inkluderer MECOM-regionen (grøn probe), en region, der er telomerisk til MECOM-genet (rød probe), og en region, der er centromerisk til MECOM-genet (aqua-probe). Følsomhedsgrænser uden for disse regioner eller varierte omlejninger, som kun findes inde i denne region, kan muligvis ikke detekteres med denne enhed.

Denne enhed er ikke beregnet til: brug som det eneste diagnostiske værktøj, brug som supplerende diagnostisk værktøj, prænatal test, populationsbaseret screening, test i nærheden af patienter eller selvtestning.

Denne enhed er ikke valideret til prøvetyper, sygdomstyper eller formål ud over dem, der er angivet i det tilsigtede formål.

Den er beregnet til brug som supplement til andre diagnostiske laboratorietests, og en behandling bør ikke indledes udelukkende på grundlag af FISH-resultatet.

Rapportering og fortolkning af FISH-resultater skal udføres af tilstrækkeligt kvalificeret personale, være i overensstemmelse med professionel standardpraksis og bør tage hensyn til andre relevante testresultater, kliniske og diagnostiske informationer.

Denne enhed må kun anvendes af faguddannet laboratoriepersonale.

Hvis protokollen ikke overholdes, kan det have indflydelse på funktionsevnen og føre til falsk positive/negative resultater.

Testens principper

Fluorescens *in situ*-hybridisering (FISH) er en teknik, der gør det muligt at detektere DNA-sekvenser på metafasekromosomer eller interfasekerner i fikserede cytogenetiske prøver. Teknikken gør brug af DNA-prøver, som hybridiserer hele kromosomer eller enkelte unikke sekvenser, og er et stærkt supplement til cytogenetisk analyse med G-banding-teknik. Denne teknik kan nu anvendes som et essentielt investigativt værktøj i forbindelse med prænatal analyse, hæmatologiske analyser og kromosomanalyser af solide tumorer. Mål-DNA'et er, efter fiksering og denaturering, klar til hybridisering til en lignende denatureret, fluorescens-mærket DNA-probe med en komplementærsekvens. Efter hybridisering fjernes den ubundne og ikke-specifikt bundne DNA-probe, og DNA'et

kontrastfarves med henblik på visualisering. Et fluorescensmikroskop gør det derefter muligt at visualisere den hybridiserede probe på mål-materialet.

Probeinformation

MECOM-onkogenet (MDS1 og EVI1 complex locus) ved 3q26.2 er ofte omlejret ved malign hæmatologisk sygdom med myeloid oprindelse, inklusive myelodysplastisk syndrom (MDS) og akut myeloid leukæmi MECOM-omlejninger (AML). Dets ekspresion i neoplastiske myeloidceller forstyrrer myeloiddifferentiering, celleyklusregulering og cellesignalveje¹.

Denne deregulerede ekspresion skyldes ofte en kromosomal omlejring, der involverer 3q26.2, og hvor de to hyppigste (~40 %) aberrationer er t(3;3)(q21;q26.2) og inv(3)(q21q26.2)1. Mere end 30 yderligere 3q26.2-omlejninger er blevet beskrevet, de fleste af dem karakteriseret på molekylært niveau¹.

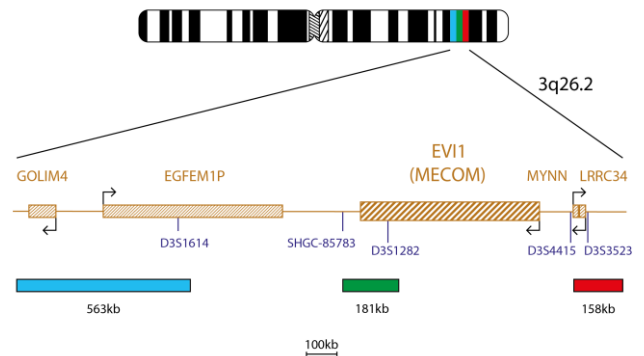
Følsomhedsgrænserne for translokationerne varierer betydeligt. MECOM-omlejninger er meget heterogene og kan være vanskelige at detektere ved konventionel cytogenetik, hvilket gør FISH til et nyttigt værktøj til detektion af dem. Regioner med variant t(3;v)(q26.2;v)-følsomhedsgrænser kan strække sig fra 3' proksimalt for MECOM til 5' distalt for MDS1-EVI1-promotoren, dækket af den grønne probe. Derfor varierer det forventede signalmønster for disse translokationer afhængigt af følsomhedsgrænsepositionen². Test for MECOM-omlejninger anbefales ved både MDS og AML³.

AML med MECOM-omlejring er en aggressiv sygdom med kort overlevelse uanset blast-procenten, uden forskel i udfaldet mellem tilfælde med inv(3)/t(3;3) sammenlignet med MECOM-omlejninger med andre partnere¹. MDS -risikostratificering inkorporerer variable såsom alder, sværhedsgraden af cytopenier og cytogenetiske fund¹.

Probespecifikation

EV11, 3q26.2, rød
EV11, 3q26.2, grøn
EV11, 3q26.2, aqua

CMP-H021 v008.00



Den røde komponent af EV11-probe-blandingen består af en 158 kb-probe, der er telomerisk til D3S4415-markøren og omfatter LRR34-genet. Den grønne komponent dækker en 181 kb-region, som omfatter den centromeriske del af EVI1 (MECOM)-genet og ud over markør D3S1282. Den aqua komponent dækker en 563 kb-region, der er centromerisk til EVI1-genet, som omfatter D3S1614-markøren.

Medfølgende materiale

Probe: 50 µl pr. hætteglas (5 tests) eller 100 µl pr. hætteglas (10 tests)
Proberne leveres i en færdigblandet hybridiseringsopløsning (<65 % formamid, <20 mg dextransulfat, <10 % 20x salin-natriumcitrat (SSC)) og er klar til brug.

Kontrastfarvning: 150 µl pr. hætteglas (15 tests)

Kontrastfarvningen er DAPI-antifade-opløsning ES (0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-phenylindol) i glycerol-baseret monteringsmedie).

Advarsler og forsigtighedsregler

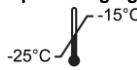
1. Til brug til *in vitro*-diagnostik. Må kun anvendes af faguddannet laboratoriepersonale.
2. Probe-blandinger indeholder formamid, som er teratogent: undgå hudkontakt og at indånde dampe. Håndter med omtanke, bær handsker og laboratoriekittel.
3. Håndter DAPI med omtanke, bær handsker og laboratoriekittel.
4. Må ikke anvendes, hvis hætteglasset/-glassene er beskadiget, eller deres indhold er kompromitteret på nogen måde.
5. Følg lokale bortskaffelsesregler for din lokalitet samt anbefalingerne i sikkerhedsdatabladet for at bestemme sikker bortskaffelse af dette produkt. Dette gælder også for indholdet af beskadigede testkits.
6. Bortskaf alle brugte reagenser og alle andre kontaminerede engangsmaterialer ved at følge procedurerne for infektiøst eller potentielt infektiøst affald. Det er det enkelte laboratoriums ansvar at håndtere fast og flydende affald i henhold til dets art og grad af farlighed og behandle og bortskaffe det (eller få det behandlet og bortskaffet) i overensstemmelse med gældende regler.
7. Brugerne skal kunne skelne mellem farverne rød, blå og grøn.
8. Hvis den beskrevne protokol og de beskrevne reagenser ikke overholdes, kan det have indflydelse på funktionsevnen og føre til falsk positive/negative resultater.
9. Proben må ikke fortyndes eller blandes med andre prober.

- Hvis der ikke anvendes 10 µl af proben under præ-denatureringen, som beskrevet i protokollen, kan det have indflydelse på funktionsevnen og føre til falsk positive/negative resultater.
- Alle produkter bør valideres før brug.
- Der bør udføres interne kontroller ved brug af upåvirkede cellepopulationer i testprøver.

Temperaturdefinitioner

- 20 °C/frossen/i fryseren: -25 °C til -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Rumtemperatur (RT): +15 °C til +25 °C

Opbevaring og håndtering

 Kittet skal opbevares mellem -25 °C og -15 °C i en fryser indtil den udløbsdag, der er anført på kittets etiket. Proben og hætteglas med kontrastfarve skal opbevares mørkt.



FISH-proben, DAPI Antifade ES-kontrastfarvning og Hybridisation Solution forbliver stabil under fryse-opvarmingscyklusser i forbindelse med normal brug (hvor en cyklus omfatter hætteglassets udtagning fra og genindsætning i fryseren) – 5 cyklusser for 50 µl (5 tests) hætteglas med FISH-probe, 10 cyklusser for 100 µl (10 tests) hætteglas med FISH-probe og 15 cyklusser for 150 µl (15 tests) hætteglas med kontrastvæske. Udsættelse for lys bør minimeres og undgås, hvor det er muligt. Opbevar komponenter i den medfølgende lysbestandige beholder. Komponent, som anvendes og opbevares under andre forhold end dem, der er angivet på mærkningen, fungerer muligvis ikke som forventet og kan påvirke analyseresultaterne negativt. Man skal bestræbe sig på at begrænse lyspåvirkning og temperaturforandringer.

Nødvendigt udstyr og materialer, som ikke medfølger

Der skal anvendes kalibreret udstyr:

- Varmeplade (med en fast plade og nøjagtig temperaturkontrol op til 80 °C)
- Kalibrerede mikropipetter med variabel volumen og spidser fra 1 µl til 200 µl
- Vandbad med nøjagtig temperaturkontrol ved 37 °C og 72 °C
- Mikrocentrifugerør (0,5 ml)
- Fluorescensmikroskop (jf. kapitlet Anbefalinger til fluorescensmikroskopi)
- Fasekontrast-mikroskop
- Rene plastik, keramiske eller varmeresistente Coplin-glas
- Tænger
- Kalibreret pH-Meter (eller pH-indikatorstrips, der kan måle pH 6,5-8,0)
- Befugtningsbeholder
- Immersionolie til fluorescensmikroskoplinser
- Bordcentrifuge
- Mikroskop-objektglas
- Dækglass på 24x24 mm
- Timer
- Inkubator på 37 °C
- Gummiopløsning (til forsegling af objektglas)
- Vortex-blander
- Måleglas
- Magnetomrører
- Kalibreret termometer

Valgfrit udstyr, der ikke medfølger

- Cytogenetisk tørrekammer

Nødvendige reagenser, der ikke medfølger

- 20x saltvand-natriumcitrat-(SSC)-opløsning
- 100 % ethanol
- Tween-20
- 1M natriumhydroxid (NaOH)
- 1M saltsyre (HCl)
- Renset vand

Anbefalinger til fluorescensmikroskopi

Der bør anvendes en 100-watt kviksløvlampe eller tilsvarende og olie-immersions-apochromat-objektiver, plan, 60/63x eller 100x for at opnå optimal visualisering. De fluoroforer, der benyttes i denne probe, vil excitere og udsende lys ved følgende bølgelængder:

Fluorofor	Excitation _{1maks.} [nm]	Emission _{1maks.} [nm]
Aqua	418	467
Grøn	495	521
Rød	596	615

Sørg for, at mikroskopet har passende excitations- og emissionsfiltre, som dækker de ovenfor nævnte bølgelængder.

Brug et enkelt båndpasfilter aqua-spektrum til optimal visualisering af aqua-spektrret eller et tredobbelbåndpasfilter rødt spektrum/grønt spektrum/aqua spektrum til simultan visualisering af grønne, røde og aqua fluoroforer.

Efterprøv før brug, at fluorescensmikroskopet virker korrekt. Benyt immersionolie, der er beregnet til fluorescensmikroskopi og formuleret til lav automatisk fluorescens. Undgå at blande DAPI-antifade med mikroskopiimmersionolie, da det vil sløre signalerne. Følg producentens anbefaling angående lampens levetid og filternes alder.

Prøveklargøring

Kittet er designet til brug på hæmatologisk derivede cellesuspensioner fikseret i Carnoys opløsning (3:1 methanol/eddikesyre) fra patienter med bekræftet eller mistænkt akut lymfatisk leukæmi (AML) eller myelodysplastisk syndrom (MDS), som er klargjort i henhold til laboratoriets eller institutionens retningslinjer. Præparer lufttørrede prøver på mikroskop-objektglas i henhold til cytogenetiske standardprocedurer. AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* indeholder anbefalinger angående prøveindsamling, dyrkning, høst og præparering af objektglas⁴.

Klargøring af opløsning

Ethanolopløsninger

Fortynd 100 % ethanol med rensset vand ved at anvende følgende blandingsforhold, og bland omhyggeligt:

- 70 % ethanol – 7 dele 100 % ethanol til 3 dele rensset vand
- 85 % ethanol – 8,5 dele 100 % ethanol til 1,5 dele rensset vand

Opløsningerne kan opbevares i op til 6 måneder ved rumtemperatur i en lufttæt beholder.

2xSSC-opløsning

Fortynd 1 del 20xSSC-opløsning med 9 dele rensset vand, og bland omhyggeligt. Efterprøv pH-værdien, og juster til pH 7,0 ved at bruge NaOH eller HCl efter behov. Opløsningen kan opbevares i op til 4 uger ved rumtemperatur i en lufttæt beholder.

0,4xSSC-opløsning

Fortynd 1 del 20xSSC-opløsning med 49 dele rensset vand, og bland omhyggeligt. Efterprøv pH-værdien, og juster til pH 7,0 ved at bruge NaOH eller HCl efter behov. Opløsningen kan opbevares i op til 4 uger ved rumtemperatur i en lufttæt beholder.

2xSSC, 0,05 % Tween-20-opløsning

Fortynd 1 del 20xSSC-opløsning med 9 dele rensset vand. Tilsæt 5 µl Tween-20 pr. 10 ml, og bland omhyggeligt. Efterprøv pH-værdien, og juster til pH 7,0 ved at bruge NaOH eller HCl efter behov. Opløsningen kan opbevares i op til 4 uger ved rumtemperatur i en lufttæt beholder.

FISH-protokol

(Bemærk: Probens og kontrastfarvningens eksponering for laboratorielys skal hele tiden begrænses så meget som muligt).

Forberedelse af objektglas

- Dryp celleprøven på et objektglas. Lad det tørre. (Valgfrit, hvis der anvendes et cytogenetisk tørrekammer: Tørrekammeret bør anvendes ved cirka 25 °C og 50 % luftfugtighed for at få optimale celleprøver. Hvis der ikke er et cytogenetisk tørrekammer til rådighed, kan der alternativt anvendes et stinkskaab).
- Nedsænk objektglasset i 2xSSC i 2 minutter ved rumtemperatur (RT) uden omrystning.
- Dehydrer i ethanol i stigende koncentrationer (70 %, 85 % og 100 %), hver i 2 minutter ved RT.
- Lad det tørre.

Præ-denaturering

- Tag proben ud af fryseren, og lad den opnå RT. Centrifuger kort rørene inden brug.
- Sørg for, at probeopløsningen er ensartet blandet med en pipette.
- Udtag 10 µl af proben pr. test, og transferer til et mikrocentrifugerør. Sæt hurtigt det resterende probemateriale tilbage i fryseren.
- Sæt proben og prøveobjektglasset til opvarmning på en varmeplade ved 37 °C (+/- 1 °C) i 5 minutter.
- Dryp 10 µl af probeblandingen på celleprøven, og dæk forsigtigt med et dækglass. Forsegl med gummiopløsning (til forsegling af objektglas), og lad det tørre fuldstændigt.

Denaturering

- Denaturer prøve og probe samtidigt ved at varme objektglasset på en varmeplade ved 75 °C (+/- 1 °C) i 2 minutter.

Hybridisering

- Anbring objektglasset i en fugtig, lystæt beholder ved 37 °C (+/- 1 °C) natten over.

Vask efter hybridisering

- Tag DAPI ud af fryseren, og lad det opnå RT.
- Fjern omhyggeligt dækglasset og alle spor af lim.
- Nedsænk objektglasset i 0,4xSSC (pH 7,0) ved 72 °C (+/- 1 °C) i 2 minutter uden omrystning.
- Lad objektglasset tørre, og nedsænk det i 2xSSC, 0,05 % Tween-20 ved RT (pH 7,0) i 30 sekunder uden omrystning.
- Lad objektglasset tørre, og tilsæt 10 µl DAPI-antifade på hver prøve.
- Dæk med et dækglass, fjern alle eventuelle bobler, og lad farven udvikle sig i mørke i 10 minutter.
- Undersøg med et fluorescensmikroskop (se **Anbefalinger til fluorescensmikroskopi**).

Anbefalinger til proceduren

- Det kan nedsætte signalflorescensen, hvis objektglassene får for meget varme eller er gamle.
- Hybridiseringsbetingelserne kan påvirkes negativt, hvis der bruges andre reagenser end dem, der anbefales eller leveres af CytoceLL Ltd.
- Der skal anvendes et kalibreret termometer til at måle temperaturerne i opløsninger, vandbade og inkubatorer, da disse temperaturer er vigtige for at opnå bedst mulige resultater.

- Stringens ved vaskekonzcentrationerne, pH og temperaturerne er vigtig, da for lav stringens kan føre til ikke-specifik binding af proben, og for høj stringens kan føre til tab af signaler.
- Ikke-komplet denaturering kan føre til tab af signaler, og for høj denaturering kan også føre til ikke-specifik binding.
- Overhybridisering kan føre til yderligere eller uventede signaler.
- Brugere bør optimere protokollen til egne prøver, før testen bruges til diagnostiske formål.
- Suboptimale betingelser kan føre til ikke-specifik binding, som kan mistolkes som et probesignal.

Fortolkning af resultater

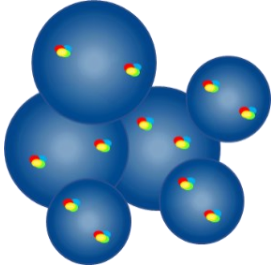
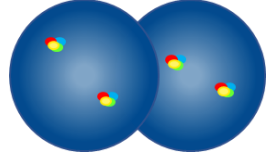
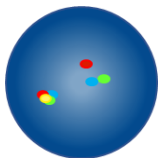
Vurdering af objektglaskvaliteten

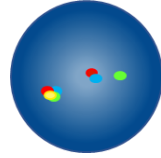
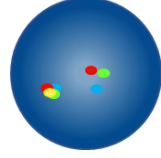
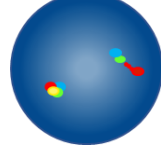
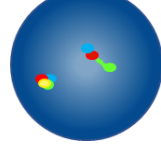
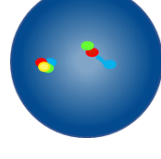
Objektglasset bør ikke analyseres, hvis:

- Signalerne er for svage til, at de enkelte filtre kan analyseres – for at fortsætte med en analyse skal signaler være lyse, klare og nemme at vurdere
- Der er et højt antal af klumpende/overlappende celler, som slører analysen
- >50 % af cellerne er ikke hybridiseret
- Der er for mange fluorescenspartikler mellem cellerne og/eller en fluorescerende dis, der forstyrrer signalerne – optimale objektglas har en enten mørk eller sort og ren baggrund
- Cellekernens omrids ikke kan skelnes og ikke er intakt

Analysevejledninger

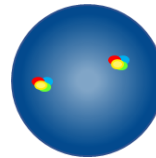
- Der skal altid være to brugere til at analysere og fortolke hver prøve. Enhver diskrepans skal afklares ved en vurdering fra en tredje bruger
- Hver bruger skal have passende faglige kvalifikationer i overensstemmelse med anerkendte nationale standarder
- Hver bruger bør uafhængigt bedømme 100 kerner for hver prøve. Den ene bruger starter analysen fra venstre side af objektglasset, og den anden bruger starter fra højre side
- Brugere skal dokumentere deres resultater skriftligt hver for sig
- Der skal kun analyseres intakte kerner, ingen overlappende eller klumpende kerner, der er dækket af cytoplasmatiske debris eller har en høj grad af autofluorescens
- Undgå områder med overskud af cytoplasmatiske debris eller ikke-specifik hybridisering
- Signalintensiteten kan variere, selv for den enkelte kerne. I sådanne tilfælde anvendes enkeltfiltre og/eller justering af det fokale plan
- Ved suboptimale betingelser kan signaler virke diffuse. Hvis to signaler med samme farve berører hinanden, eller afstanden mellem dem ikke er større end bredden på to signaler, eller hvis der er en svag streng, der forbinder de to signaler, tælles de som ét signal
- Når der analyseres trefarvede "break-apart"-prober, og der er et hul mellem nogen af de 3 signaler (røde, grønne og aqua signaler), som ikke er større end 2 signalbredder, tælles det som et ikke-omlejret/fusioneret signal
- Hvis man er i tvivl, om en celle kan analyseres eller ej, så analyseres den ikke

Analysevejledninger	
	Tæl ikke – cellekernerne er for tæt på hinanden til, at der kan bestemmes grænser
	Tæl ikke cellekerner, der overlapper hinanden – det er ikke alle områder af de to cellekerner, der er synlige
	Tæl som 2 fusionssignaler - hullet mellem det røde og det grønne/aqua signal er mindre end to probers bredde

	Tæl som 2 fusionssignaler - hullet mellem det grønne og det røde/aqua signal er mindre end to probers bredde
	Tæl som 2 fusionssignaler - hullet mellem det aqua og det røde/grønne signal er mindre end to probers bredde
	Tæl som 2 fusionssignaler – det røde signal er diffust i fusionen øverst til højre
	Tæl som 2 fusionssignaler – det grønne signal er diffust i fusionen øverst til højre
	Tæl som 2 fusionssignaler – det aqua signal er diffust i fusionen øverst til højre

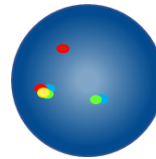
Forventede resultater

Forventet normalt signalmønster

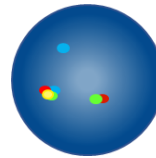


I en normal celle forventes der to røde/grønne/aqua fusionssignaler (2RGA).

Forventede abnorme signalmønstre



I en celle med en $t(3;3)(q21;q26.2)$ eller en $t(3;v)(q26.2;v)$, med følsomhedsgrænser distalt for den grønne probe, vil det forventede signalmønster være ét rødt/grønt/aqua fusionssignal, én grøn/aqua fusion og ét rødt signal (1RGA1GA1R).



I en celle med en $inv(3)(q21q26.2)$ eller en $t(3;v)(q26.2;v)$, med følsomhedsgrænser proksimalt for den grønne probe, vil det forventede signalmønster være ét rødt/grønt/aqua fusionssignal, én rød/grøn fusion og ét aqua signal (1RGA1RG1A).

Andre signalmønstre er mulige i aneuploide/ubalancerede prøver.

Kendte relevante interferencer/interfererende stoffer

Ingen kendte relevante interferencer/interfererende stoffer.

Ingen kendt krydsreaktivitet.

Indberetning af alvorlige hændelser

For patienter/brugere/tredjeparter i EU og lande med identisk reguleringsordning (forordning (EU) 2017/746 om *in vitro*-diagnostisk medicinsk udstyr) gælder det, at hvis der er opstået en alvorlig hændelse under brugen af denne enhed eller som følge af dens brug, skal det rapporteres til producenten og til den nationale kompetente myndighed.

Alvorlige hændelser i andre lande skal rapporteres til producenten og, hvis det er relevant, til den nationale kompetente myndighed.

Producentens vigilance-kontakt: vigilance@ogt.com

En liste med vigilance-kontaktsteder for nationale kompetente myndigheder i EU kan findes på:

https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Særlige ydelseskarakteristika

Analytisk specificitet

Analytisk specificitet er defineret som procentdelen af signaler, som kun hybridiserer til det korrekte locus og ingen anden lokalitet. Der blev analyseret to kromosomale loci i hver af tyve metafaseceller fra fem prøver, hvilket gav 200 data points pr. komponent. Lokationen for hver hybridiseret probe blev kortlagt, og antallet af FISH metafasekromosomsignaler, som hybridiseredes til det korrekte locus, blev registreret.

Den analytiske specificitet af hver probe i kittet blev beregnet som antallet af FISH-metafasekromosomsignaler, som hybridiseredes til det rette locus, delt med det samlede antal af hybridiserede FISH-metafasekromosomsignaler, og dette resultat blev multipliceret med 100, udtrykt som procentdel og givet med et 95 % konfidensinterval.

Table 1. Analytisk specificitet for EVI1 (MECOM) Breakapart Probe

Mål	Antal hybridiserede metafasekromosomer	Antal korrekt hybridiserede loci	Analytisk specificitet	95 % konfidensinterval
3q26.2	200	200	100 %	98,12 %–100 %
3q26.2	200	200	100 %	98,12 %–100 %
3q26.2	200	200	100 %	98,12 %–100 %

Analytisk sensitivitet

Analytisk sensitivitet er procentdelen af de interfaseceller, der kan tælles med det forventede normale signalmønster. Der blev analyseret mindst 200 interfaseceller for hver af 25 fikserede cellessuspensioner fra knoglemarv, som blev anset som negative for en MECOM-omlejring, hvilket resulterede i minimum 5.000 kerner i en score for hver prøvetype. Sensitivitetsdata blev analyseret på grundlag af procentdelen af celler, der viste et normalt, forventet signalmønster, og blev udtrykt som en procentdel med et 95 % konfidensinterval.

Table 2. Analytisk sensitivitet for EVI1 (MECOM) Breakapart Probe

Prøvetype	Sensitivitetskriterier	Sensitivitetsresultater
Knoglemarv	>95 %	99,14 % (98,89 %–99,39%)

Karakterisering af normale cut-off-værdier

Normalt cut-off er defineret som procentdelen af celler, der udviser et falskt-positivt signalmønster, der fører til, at det hos en person ville blive betragtet som normalt og ikke svarer til en klinisk diagnose. Der blev analyseret mindst 200 interfaseceller for hver af 25 knoglemarvsprøver, som blev anset som negative for en MECOM-omlejring, hvilket resulterede i minimum 5.000 kerner i en score for hver prøvetype.

Cut-off-værdien blev bestemt ved brug af β -invers-funktionen (BETAINV) i MS Excel. Den blev beregnet som procentdelen af interfaseceller, der viste et falskt-positivt signalmønster ved brug af den øvre grænse af et en-sidet 95 % konfidensinterval af den binominale fordeling i en normal patientprøve.

Table 3. Karakterisering af normale cut-off-værdier for EVI1 (MECOM) Breakapart Probe

Prøvetype	Cut-off-resultat
Knoglemarv	4 %

Laboratorier skal verificere cut-off-værdier ved at bruge deres egne data.^{5.6}

Reproducerbarhed

Reproducerbarhedsstudier blev udført for at fastslå:

- Intra-dag reproducerbarhed (prøve-til-prøve) på 3 laboratorier
- Inter-dag reproducerbarhed (dag-til-dag) på 3 laboratorier
- Inter-laboratorium reproducerbarhed (laboratorium til laboratorium) på 3 laboratorier
- Inter-lot reproducerbarhed (lot-til-lot) på en enkelt laboratorier

Reproducerbarhed blev fastlagt af 3 individuelle laboratorier, som testede i alt 12 blinde prøver, 6 pr. signalmønster (2 negative for omlejringen, 2 lavt positive prøver, som var 1 til 3 gange cut-off-værdien, og 2 højt positive prøver, som

indeholdt mere end 45 % celler, der var positive for omlejringen). Analysen blev gennemført med 2 replikater af hver prøve over et forløb på 5 ikke på hinanden følgende dage.

På alle 3 laboratorier blev der udført intra-dag-, inter-dag- og inter-laboratorie-testning med samme probelot samtidig med, at et af laboratorierne også udførte inter-lot-reproducerbarhed ved brug af 3 forskellige probelots.

Resultaterne blev præsenteret som samlet overensstemmelse med den forudsagte negative klasse (for de negative prøver) og den forudsagte positive klasse (for de positive prøver).

Table 4a. Reproducerbarhed og præcision af EVI1 (MECOM) Breakapart Probe – inversionssignalmønster

Variabel	Prøvetype	Overensstemmelse
Intra-dag (prøve til prøve)-, inter-dag- (dag til dag) og inter-laboratorium-reproducerbarhed (laboratorium til laboratorium)	Knoglemarv negativ	100 %
	Knoglemarv lavt positiv	63 %
	Knoglemarv højt positiv	100 %
Inter-lot (lot til lot)-reproducerbarhed	Knoglemarv negativ	92 %
	Knoglemarv lavt positiv	67 %
	Knoglemarv højt positiv	100 %

Table 4b. Reproducerbarhed og præcision af EVI1 (MECOM) Breakapart Probe – translokationssignalmønster

Variabel	Prøvetype	Overensstemmelse
Intra-dag (prøve til prøve)-, inter-dag- (dag til dag) og inter-laboratorium-reproducerbarhed (laboratorium til laboratorium)	Knoglemarv negativ	100 %
	Knoglemarv lavt positiv	98 %
	Knoglemarv højt positiv	100 %
Inter-lot (lot til lot)-reproducerbarhed	Knoglemarv negativ	100 %
	Knoglemarv lavt positiv	100 %
	Knoglemarv højt positiv	100 %

Der blev udført en ekstra reproducerbarhedsundersøgelse for at supplere de lavt positive resultater for inversionssignalmønsteret ved hjælp af 2 prøver med forskellige lavt positive resultater (2x og 4x cut-off-værdi) og 1 negativ prøve med henblik på at fastslå:

- Intra-dag-reproducerbarhed (prøve til prøve) på ét laboratorier
- Inter-dag-reproducerbarhed (dag til dag) på ét laboratorier
- Inter-bruger-reproducerbarhed (lot til lot) på ét laboratorier

Reproducerbarheden blev fastlagt ved hjælp af 1 probelot og evalueret på 2 replikater pr. prøve, der blev analyseret over 5 ikke-sammenhængende dage af 2 forskellige brugere.

Resultaterne blev præsenteret som samlet overensstemmelse med den forudsagte positive klasse (for de positive prøver).

Table 4c. Yderligere understøttende data for reproducerbarhed og præcision af EVI1 (MECOM) Breakapart Probe – inversionssignalmønster

Variabel	Prøvetype	Overensstemmelse
Intra-dag (prøve til prøve)-, inter-dag- (dag til dag) og inter-bruger-reproducerbarhed (bruger til bruger)	Knoglemarv lavt positiv (2x cut-off)	100 %
	Knoglemarv lavt positiv (4x cut-off)	100 %

Klinisk ydeevne

For at sikre, at produktet detekterer de påtænkte omlejringer, blev den kliniske ydeevne fastslået ved 3 undersøgelser af repræsentative prøver fra den påtænkte population for produktet: Carnoys opløsning (3:1 methanol/eddikesyre) fikserede hæmatologisk-deriverede cellessuspensioner i en opløsning fra patienter med bekræftet eller formodet akut lymfatisk leukæmi (AML) eller myelodysplastisk syndrom (MDS). Undersøgelserne havde et kombineret antal prøver på hundrede og atten (118) prøver med en målpopulation på syv (7) translokationspositive og hundrede og elleve (111) translokationsnegative og en kombineret antal prøver på et hundrede og nitten (119) prøver, der omfattede hundrede og elleve (111) inversionsnegative og otte (8) inversionspositive prøver. Resultaterne blev derefter sammenlignet med den kendte status for prøven. Overensstemmelsen/diskordansen af resultater blev fundet at opfylde acceptkriterierne for denne undersøgelse.

Resultatet af disse tests blev analyseret for at se klinisk sensitivitet, klinisk specificitet og værdier for falsk-positiv-raten (FPR) af positive signaler ved brug af en endimensionel fremgangsmåde.

Tabel 5. Klinisk ydeevne for EVI1 (MECOM) Breakapart Probe – translokation

Variabel	Resultat
Klinisk sensitivitet (sand positiv rate, TPR (True Positive rate))	99,94 %
Klinisk specificitet (sand negativ rate, TNR (True Negative rate))	99,97 %
Falsk positiv rate (FPR, False Positive rate) = 1 – Specificitet	0,03 %

Tabel 6. Klinisk ydeevne for EVI1 (MECOM) Breakapart Probe – inversion.

Variabel	Resultat
Klinisk sensitivitet (sand positiv rate, TPR (True Positive rate))	96,26 %
Klinisk specificitet (sand negativ rate, TNR (True Negative rate))	99,28 %
Falsk positiv rate (FPR, False Positive rate) = 1 – Specificitet	0,72 %

Sammenfatning af sikkerhed og ydeevne (SSP)

SSP'et skal gøres tilgængeligt for offentligheden via den europæiske database over medicinsk udstyr (Eudamed), hvor det knyttes til Basic UDI-DI'et.

Eudamed-URL: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Basic UDI-DI: 50558449LPH036JL

Hvis Eudamed ikke er fuldt funktionelt, skal SSP'et gøres tilgængeligt for offentligheden på anmodning ved at sende en e-mail til SSP@ogt.com.

Yderligere information

Kontakt CytoCell Technical Support Department, hvis du ønsker yderligere produktinformationer.

T: +44 (0)1223 294048

E: techsupport@cytozell.com

W: www.ogt.com

Referencer

1. WHO Classification of Tumours Editorial Board. *Haematolymphoid tumours* [Internet; beta version ahead of print]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2022 [cited 2023 December 21]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
2. Ottema et al. Atypical 3q26/MECOM rearrangements genocopy inv(3)/t(3;3) in acute myeloid leukemia. *Blood* (2020)136(2):224–234.
3. Rack et al., *Leukemia* (2019) 33:1851–1867
4. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
5. Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. *Genet Med*. 2011;13(7):667–675.
6. Wiktor AE, Dyke DL Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. *Genetics in Medicine*. 2006;8(1):16–23.

Symbolordliste

EN ISO 15223-1:2021 – "Medicinsk udstyr – symboler, der skal bruges sammen med oplysninger fra producenten – del 1: Generelle krav" (© International Organization for Standardization)		
Symbol	Titel	Referencenummer/-numre
	da: Producent	5.1.1
	da: Autoriseret repræsentant i Det Europæiske Fællesskab/Den Europæiske Union	5.1.2
	da: Sidste anvendelsesdato	5.1.4
	da: Batch-kode	5.1.5
	da: Katalognummer	5.1.6
	da: Holdes væk fra sollys	5.3.2
	da: Temperaturgrænse	5.3.7

	da: Se brugsanvisningen	5.4.3
	da: Se den elektroniske udgave af brugsanvisningen	5.4.3
	da: Forsigtig	5.4.4
	da: Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik	5.5.1
	da: Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests	5.5.5
	da: Unik enhedsidentifikator	5.7.10
EDMA-symboler til IVD-reagenser og -komponenter, revision fra oktober 2009		
Symbol	Titel	Referencenummer/-numre
	da: Indhold (eller indeholder)	N/A

Patenter og varemærker

CytoCell er et registreret varemærke tilhørende CytoCell Limited.



CytoCell Limited

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

T: +44 (0)1223 294048

F: +44 (0)1223 294986

E: probes@cytozell.com

W: www.ogt.com



Sysmex Europe SE

Bornbarch 1
22848 Norderstedt
TYSKLAND

T: +49 40 527260

W: www.sysmex-europe.com

IFU-versionshistorik

V001 05-02-2024: Ny IFU til forordning (EU) 2017/746