



A Sysmex Group Company



## Bruksanvisning

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

### EV11 (MECOM) Breakapart Probe



ENDAST FÖR PROFESSIONELLT BRUK



Mer information och andra språkversioner finns på [ogt.com/IFU](http://ogt.com/IFU)

#### Avsett ändamål

CytoCell® EV11 (MECOM) Breakapart Probe är ett kvalitativt, icke-automatiserat, fluorescerande *in situ*-hybridiseringsstest (FISH) som används för att upptäcka kromosomala rearrangemang i region 3q26.2 på kromosom 3 i fixerad hematologiskt erhållna cellsuspensioner fixerade i Carnoys lösning (3:1 metanol/ättiksyra) från patienter med fastställd eller misstänkt akut myeloisk leukemi med *MECOM* rearrangemang (AML) eller myelodysplastiska neoplasmer (MDS).

#### Användningsindikatorer

Enheten är avsedd att vara ett komplement till övriga kliniska och histopatologiska undersökningar inom ramen för sedvanlig diagnostik och sjukvård där kännedom om rearrangemang av *MECOM* skulle ha betydelse för den kliniska handläggningen.

#### Begränsningar

Enheten är utformad för detektion av rearrangemang med brytpunkter inom den region som begränsas av de röda, gröna och aquafärgade klonerna i denna sonduppsättning, vilket innefattar *MECOM*-regionen (grön sond), en region som är telomerisk till *MECOM*-genen (röd sond) samt en region som är centromerisk till *MECOM*-genen (aquafärgad sond). Brytpunkter utanför denna region eller varianter av rearrangemang som ligger helt inom denna region upptäcks inte alltid med den här enheten.

Enheten är inte avsedd för fristående diagnostisering, behandlingsvägledande diagnostik, prenatal testning, populationsbaserad screening, patientnära testning eller egentestning.

Enheten har inte validerats för användning på andra prov- eller sjukdomstyper, eller för ändamål som faller utanför det avsedda ändamål som anges.

Den är avsedd som komplement till andra diagnostiska laboratorietester och behandling bör inte sättas in enbart på grundval av FISH-resultaten.

Rapportering och tolkning av FISH-resultat ska utföras av kvalificerad personal i enlighet med professionell praxis och annan klinisk och diagnostisk information samt andra relevanta testresultat bör beaktas.

Den här enheten är endast avsedd för professionellt bruk i laboratorium.

Underlåtenhet att följa anvisningarna kan påverka prestanda och leda till falskt positiva/negativa resultat.

#### Principer för testet

*In situ*-hybridisering med fluorescens (FISH) är en teknik som gör att DNA-sekvenser kan upptäckas på metafaskromosomer eller i interfaskärnor från fixerade cytogenetiska prover. Med den här tekniken används DNA-sonden som hybridiserar till hela kromosomer eller enstaka unika sekvenser och fungerar som ett kraftfullt komplement till cytogenetisk analys med Giemsa-färgning. Tekniken går nu att tillämpa som ett viktigt undersökningsverktyg vid prenatala och hematologiska kromosomanalyser liksom vid kromosomanalyser av solida tumörer. Mål-DNA kan efter fixering och denaturering hybridisera till en likaledes denaturerad, fluorescensmärkt DNA-sond med en komplementär sekvens. Efter hybridisering avlägsnas obunden och ospecifikt bunden DNA-sond och DNA

kontrasträdfärgas för visualisering. Fluorescensmikroskopi synliggör sedan den hybridiserade sonden på målmaterialet.

#### Information om sonden

Onkogenen *MECOM* (MDS1 and EV11 complex locus) på 3q26.2 är ofta rearrangerad vid hematologiska maligniteter med myeloiskt ursprung, inklusive myelodysplastiska neoplasmer (MDS) samt akut myeloisk leukemi med *MECOM*-rearrangemang (AML). Dess uttryck i neoplastiska myeloiska celler avbryter myeloisk differentiering, cellcykelreglering och cellsignaleringsvägar<sup>1</sup>.

Detta felreglerade uttryck beror ofta på ett kromosomalt rearrangemang som involverar 3q26.2, där de två vanligaste avvikelserna (~40 %) är t(3;3)(q21;q26.2) och inv(3)(q21q26.2)<sup>1</sup>. Mer än 30 ytterligare 3q26.2 rearrangemang har beskrivits där de flesta karakteriserats på molekylär nivå<sup>1</sup>.

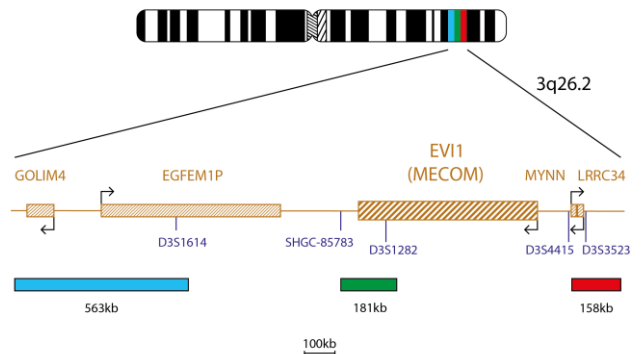
Brytpunkterna för translokationerna och inverteringarna varierar kraftigt. Rearrangemang av *MECOM* är mycket heterogena och kan vara svåra att upptäcka med hjälp av vanlig cytogenetik. Därför kan FISH vara ett användbart verktyg för detektion. Brytpunktsregioner för variant t(3;v)(q26.2;v) kan sträcka sig från 3' proximalt om *MECOM* till 5' distalt om MDS1-EV11-promotorn som omfattas av den gröna sonden. Därmed varierar det förväntade signalmönstret för dessa translokationer beroende på brytpunktspositionen<sup>2</sup>. Testning för *MECOM*-rearrangemang rekommenderas vid både MDS och AML<sup>3</sup>.

AML med *MECOM*-rearrangemang är en aggressiv sjukdom med kort överlevnad oavsett blastprocent, utan skillnad i utfall mellan fall med inv(3)/t(3;3) jämfört med *MECOM*-rearrangemang med andra partner<sup>1</sup>. Riskstratifiering för MDS tar med variabler som ålder, allvarlighetsgrad för cytopenier och cytogenetiska fynd<sup>1</sup>.

#### Sondens specifikationer

EV11, 3q26.2, Röd  
EV11, 3q26.2, Grön  
EV11, 3q26.2, Aqua

CMP-H021 v008.00



Den röda komponenten i sondblandningen för EV11 består av en 158 kb stor sond telomeriskt om markören D3S4415 och innefattar genen *LRR34*. Den gröna komponenten täcker en 181 kb stor region som innefattar den centromeriska delen av genen *EV11 (MECOM)* och räcker bortom markören D3S1282. Den blå komponenten täcker en 563 kb stor region, centromeriskt om genen *EV11*, som innefattar markören D3S1614.

#### Material som medföljer

**Sond:** 50 µL per flaska (5 tester) eller 100 µL per flaska (10 tester)  
Sonderna tillhandahålls förblandade i hybridiseringslösning (< 65 % formamid, < 20 mg dextransulfat, < 10 % av 20x natriumklorid-natriumcitrat (SSC-buffert)) och är färdiga att användas.

**Kontrasträdfärg:** 150 µL per flaska (15 tester)

Kontrasträdfärgen är DAPI antifade ES (0,125 µg/mL DAPI (4,6-diamidino-2-fenylindol) i glycerolbaserat fästmedel).

#### Varningar och försiktighetsåtgärder

1. För användning vid *in vitro*-diagnostik. Endast för professionellt bruk i laboratorium.
2. Sondblandningarna innehåller formamid som är en teratogen (fosterskadande). Undvik att andas in ångorna och undvik hudkontakt. Hanteras varsamt. Använd handskar och laboratorierock.
3. Hantera DAPI varsamt. Använd handskar och laboratorierock.
4. Använd inte skadade flaskor eller om dess innehåll har äventyrats på något sätt.
5. Kassera produkten på ett säkert sätt genom att följa lokala bestämmelser samt rekommendationerna i säkerhetsdatabladet. Detta gäller även för skadat testkitsinnehåll.
6. Kassera använd reagens och annat kontaminerat material för engångsbruk på samma sätt som vid kassering av smittfarligt eller potentiellt smittfarligt avfall. Det är laboratoriets ansvar att hantera fast och flytande avfall i enlighet med dess typ och hur pass farligt det är. Avfallet ska hanteras och kasseras (av personal eller via extern hjälp) i enlighet med tillämpliga bestämmelser.
7. Alla användare måste kunna skilja mellan färgerna rött, blått och grönt.
8. Underlåtenhet att följa det föreskrivna protokollet och reagenserna kan påverka prestandan och leda till falskt positiva/negativa resultat.
9. Sonderna får inte spädas ut eller blandas med andra sonder.
10. Underlåtenhet att använda 10 µL sond i protokollsteget före denaturering kan påverka prestandan och leda till falskt positiva/negativa resultat.

- Alla produkter måste valideras före användning.
- Interna kontroller med opåverkade cellpopulationer i testproverna ska utföras.

#### Temperatursdefinitioner

- 20 °C/frys/i frysk: -25 °C till -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Rumstemperatur (RT): +15 °C till +25 °C

#### Förvaring och hantering



Kitet ska förvaras mellan -25 °C och -15 °C i ett frysskåp fram till det utgångsdatum som anges på etiketten. Sonden och flaskorna med kontrastfärg måste förvaras mörkt.



FISH-sonden, DAPI Antifade ES-kontrastfärgen och hybridiseringslösningen är stabila under frysnings- och upptiningscykler vid normal användning (när en cykel utgörs av att flaskan tas ut och sätts tillbaka i frysen) – fem cykler för FISH-sondflaskor på 50 µL (5 tester), tio cykler för FISH-sondflaskor på 100 µL (10 tester) och 15 cykler för kontrastfärgsflaskor på 150 µL (15 tester). Minimera risken för ljusexponering och undvik om möjligt. Förvara komponenterna i den medföljande ljusskyddade behållaren. Om komponenterna hanteras eller förvaras i förhållanden utöver de som anges på etiketten är det möjligt att de inte fungerar som de ska, vilket kan påverka analysresultaten. Se till att undvika exponering för ljus och temperaturförändringar.

#### Utrustning och material som behövs men inte medföljer

Utrustningen som används måste vara kalibrerad:

- Värmeplatta (med en fast platta och exakt temperaturreglering upp till 80 °C)
- Kalibrerade mikropipetter och spetsar med varierande volym mellan 1–200 µL
- Vattenbad med exakt temperaturreglering vid 37 °C och 72 °C
- Mikrocentrifugrör (0,5 mL)
- Fluorescensmikroskop (se avsnittet om rekommendationer för fluorescensmikroskop)
- Faskontrastmikroskop
- Rena kyvetter av plast, keramiskt material eller värmeståligt glas
- Tång
- Kalibrerad pH-mätare (eller pH-indikatorremсор som mäter pH 6,5–8,0)
- Behållare med beuktning
- Immersionsojla för linser till fluorescensmikroskop
- Bänkcenrifug
- Objektglas
- Täckglas 24 x 24 mm
- Tidur
- 37 °C inkubator
- Gummilim
- Vortexblandare
- Mätglas
- Magnetisk omrörare
- Kalibrerad termometer

#### Valfri utrustning som inte medföljer

- Cytogenetisk torkkammare

#### Reagenser som behövs men inte medföljer

- 20 x salt-natriumcitratlösning (SSC)
- 100 % etanol
- Tween-20
- 1 M natriumhydroxid (NaOH)
- 1 M saltsyra (HCl)
- Renat vatten

#### Rekommendationer för fluorescensmikroskop

Använd en 100 W kvicksilverlampa eller motsvarande och plana inoljade akromatiska objektiv 60/63 x eller 100 x för optimal visualisering. De fluoroforer som används i denna sonduppsättning exciteras och emitteras vid följande våglängder:

Fluorofor	Excitation <sub>max</sub> [nm]	Emission <sub>max</sub> [nm]
Aqua	418	467
Grön	495	521
Röd	596	615

Se till att mikroskopet är försett med rätt excitations- och emissionsfilter för de ovan angivna våglängderna.

Använd ett enkelt bandpassfilter för aquaspektrumet för optimal visualisering av aquaspektrumet, eller ett tredubbel bandpassfilter för rött/grönt/aquafärgat spektrum för samtidig visualisering av de gröna, röda och aquafärgade fluoroforer.

Kontrollera fluorescensmikroskopet före användning för att säkerställa att det fungerar felfritt. Använd immersionsojla som lämpar sig för fluorescensmikroskopi och har en sammansättning med låg autofluorescens. Undvik att blanda DAPI antifade med immersionsojla för mikroskopet eftersom detta gör signalerna otydliga. Följ tillverkarnas rekommendationer beträffande lampans livslängd och filtrens ålder.

#### Provberedning

Kitet är utformat för att användas på fixerade i Carnoy's lösning (3:1 metanol/ättiksyra) från patienter med fastställd eller misstänkt akut myeloid leukemi (AML) eller myelodysplastiska neoplasmer (MDS) som är beredda enligt laboratoriets eller institutionens riktlinjer. Förbered lufttorkade prover på objektglas i enlighet med cytogenetiska standardprocedurer. AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* innehåller rekommendationer för provansamling, odling, insamling och objektglas-framställning<sup>4</sup>.

#### Lösningberedning

##### Etanollösningar

Späd 100 % etanol med renat vatten i följande förhållanden och blanda noggrant:

- 70 % etanol – 7 delar 100 % etanol med 3 delar renat vatten
- 85 % etanol – 8,5 delar 100 % etanol med 1,5 delar renat vatten

Förvara lösningarna upp till 6 månader i rumstemperatur i en lufttät behållare.

##### 2 x SSC-lösning

Späd ut 1 del 20 x SSC-lösning med 9 delar renat vatten och blanda väl. Kontrollera pH-värdet och justera till pH 7,0 med den mängd NaOH eller HCl som krävs. Förvara lösningen upp till 4 veckor i rumstemperatur i en lufttät behållare.

##### 0,4 x SSC-lösning

Späd ut 1 del 20 x SSC-lösning med 49 delar renat vatten och blanda väl. Kontrollera pH-värdet och justera till pH 7,0 med den mängd NaOH eller HCl som krävs. Förvara lösningen upp till 4 veckor i rumstemperatur i en lufttät behållare.

##### 2 x SSC, 0,05 % Tween-20-lösning

Späd 1 del 20 x SSC-lösning med 9 delar renat vatten. Tillsätt 5 µL Tween-20 per 10 mL och blanda väl. Kontrollera pH-värdet och justera till pH 7,0 med den mängd NaOH eller HCl som krävs. Förvara lösningen upp till 4 veckor i rumstemperatur i en lufttät behållare.

#### FISH-protokoll

(Obs! Se till att sonden och kontrastfärgen aldrig utsätts för mer än begränsat med laboratoriebelysning).

#### Förberedelse av objektglas

- Applicera cellprovet på ett objektglas för mikroskop. Låt det torka. (Vid användning av cytotenetisk torkkammare: Kammaren ska användas vid cirka 25 °C och 50 % luftfuktighet för optimal applicering av cellprovet. Om en cytotenetisk torkkammare inte finns tillgängligt är ett dragskåp ett alternativ.)
- Sänk ned objektglaset i 2 x SSC i 2 minuter i rumstemperatur (RT) utan beröring.
- Dehydrera i tre etanolbad efter varandra (70 %, 85 % och 100 %), vart och ett under 2 minuter i rumstemperatur.
- Låt det torka.

#### Före denaturering

- Ta ut sonden ur frysskåpet och låt den värmas upp till rumstemperatur. Centrifugera rören lätt före användning.
- Säkerställ att sondlösningen är väl blandad med en pipett.
- Avlägsna 10 µL av sonden per test och överför till ett mikrocentrifugrör. Lägg snabbt tillbaka återstående sond i frysen.
- Låt sonden och objektglaset förvärmas på en värmeplatta vid 37 °C (+/- 1 °C) i 5 minuter.
- Applicera 10 µL av sondblandningen på cellprovet och lägg försiktigt på ett täckglas. Försegla med gummilim och låt limmet torka helt.

#### Denaturering

- Denaturera provet och sonden samtidigt genom att värma objektglaset på en värmeplatta vid 75 °C (+/- 1 °C) i 2 minuter.

#### Hybridisering

- Lägg objektglaset över natten i en fuktig, ljusstät behållare vid 37 °C (+/- 1 °C).

#### Tvättar efter hybridisering

- Ta ut DAPI ur frysskåpet och låt den värmas upp till rumstemperatur (RT).
- Ta bort täckglaset och alla spår av lim noggrant.
- Låt objektglaset ligga i 0,4 x SSC (pH 7,0) vid 72 °C (+/- 1 °C) i 2 minuter utan beröring.
- Låt objektglaset rinna av och låt det ligga stilla i 2 x SSC, 0,05 % Tween-20 i rumstemperatur (pH 7,0) under 30 sekunder.
- Låt objektglaset rinna av och applicera 10 µL DAPI mot blekning (antifade) på varje prov.
- Lägg ett täckglas över, avlägsna eventuella bubblor och låt färgen utvecklas i mörker i 10 minuter.
- Granska i ett fluorescensmikroskop (se **Rekommendationer för fluorescensmikroskop**).

#### Rekommendationer för förfarande

- Ugnshärdade eller äldre objektglas kan reducera fluorescenssignal.
- Hybridiseringen kan påverkas negativt vid användning av andra reagenser än de som tillhandahålls eller rekommenderas av Cytocell Ltd.
- Använd en kalibrerad termometer för att mäta temperaturen på lösningar, vattenbad och inkubatorer eftersom dessa temperaturer är avgörande för att produkten ska fungera optimalt.
- Tvättkoncentrationer, pH-värden och temperaturer är viktiga eftersom för låg noggrannhet kan resultera i icke-specifik bindning av sonden och för hög noggrannhet kan innebära att signalen uteblir.
- Ofullständig denaturering kan resultera i att signalerna uteblir och överdenaturering kan även leda till icke-specifik bindning.
- Överhybridisering kan resultera i extra eller oväntade signaler.

7. Användaren bör optimera protokollet för sina egna prover innan testet används för diagnostik.
8. Icke optimala förhållanden kan resultera i en icke-specifik bindning som kan misstolkas som en sondsignal.

#### Tolkning av resultaten

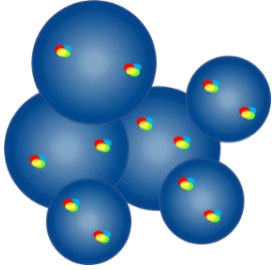
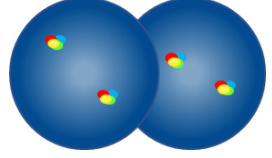
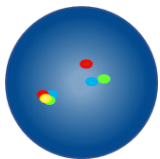
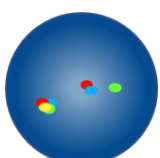
##### Bedömning av objektglaskvalitet

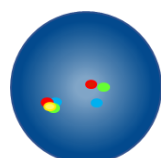
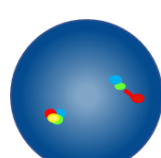
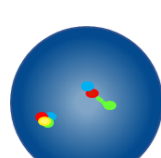
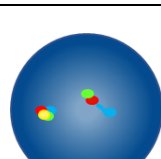
Objektglaset ska inte analyseras i följande fall:

- signalerna är för svaga för analys i enstaka filter – för att fortsätta analysen ska signalerna framträda klart och tydligt och vara lätta att utvärdera
- det finns ett stort antal hopklumpade/överlappande celler som försvårar analysen
- om > 50 % av cellerna inte är hybridiserade
- det finns en stor mängd fluorescerande partiklar mellan cellerna och/eller en fluorescerande dimma som stör signalerna – optimalt ska bakgrunden framstå mörk eller svart och ren
- cellkärnornas gränser går inte att urskilja och är inte intakta

##### Riktlinjer för analysen

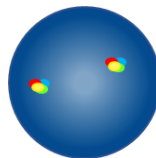
- Två analytiker bör analysera och tolka varje prov. Eventuella avvikelser bör avgöras av en tredje analytikers utvärdering
- Alla analytiker ska ha lämpliga kvalifikationer enligt godkända nationella standarder
- Varje analytiker ska oberoende av de andra bedöma 100 kärnor i varje prov. Den första analytikern ska börja analysen från vänster sida av objektglaset och den andra analytikern från höger
- Varje analytiker ska dokumentera sina resultat i separata utskrifter
- Analysera endast hela kärnor, inte kärnor som är överlappande, hopklumpade eller täckta av cytoplasmiskt skräp eller hög grad av autofluorescens
- Undvik områden med överskott av cytoplasmiskt skräp eller icke-specifik hybridisering
- Signalintensiteten kan variera även med en enstaka kärna. Använd i så fall enstaka filter och/eller justera fokalplanet
- Under icke optimala förhållanden kan signalerna verka otydliga. Om två signaler med samma färg vidrör varandra eller om avståndet mellan dem inte är högre än två signalbredder eller om en tunn sträng förbinder de två signalerna ska de betraktas som en signal
- Vid analys av de trefärgade separationssonderna gäller att om mellanrummet mellan någon av de tre signalerna (röda, gröna och aquafärgade) inte är större än två signalbredder ska signalen räknas som icke rearrangerad/sammanslagen
- Om det finns tvivel om huruvida en cell går att analysera eller inte, låt bli att analysera den

Riktlinjer för analysen	
	Räkna inte – kärnorna ligger för nära varandra för att avgränsningarna ska kunna bedömas
	Räkna inte överlappande kärnor – alla områden för båda kärnorna är inte synliga
	Räkna som 2 fusionssignaler – mellanrummet mellan den röda och den gröna/aquafärgade signalen är mindre än två signalbredder
	Räkna som 2 fusionssignaler – mellanrummet mellan den gröna och den röda/aquafärgade signalen är mindre än två signalbredder

	Räkna som 2 fusionssignaler – mellanrummet mellan den aquafärgade och den röda/gröna signalen är mindre än två signalbredder
	Räkna som 2 fusionssignaler – den röda signalen är diffus i den övre högra fusionen
	Räkna som 2 fusionssignaler – den gröna signalen är diffus i den övre högra fusionen
	Räkna som 2 fusionssignaler – den aquafärgade signalen är diffus i den övre högra fusionen

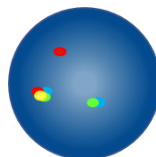
#### Förväntade resultat

##### Förväntat normalt signalmönster

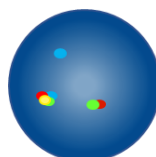


I en normal cell förväntas två röda/gröna/aquafärgade fusionssignaler (2RGA).

##### Förväntade onormala signalmönster



I en cell med en  $t(3;3)(q21;q26.2)$  eller en  $t(3;v)(q26.2;v)$ , med brytpunkter som är distala mot den gröna sonden, kommer det förväntade signalmönstret att vara en röd/grön/aquafärgad fusionssignal, en grön/aquafärgad fusion och en röd signal (1RGA1GA1R).



I en cell med en  $inv(3)(q21q26.2)$  eller en  $t(3;v)(q26.2;v)$ , med brytpunkter som är proximala mot den gröna sonden, kommer det förväntade signalmönstret att vara en röd/grön/aquafärgad fusionssignal, en röd/grön fusion och en aquafärgad signal (1RGA1RG1A).

Andra signalmönster är möjliga i aneuploida/obalanserade prover.

#### Kända relevanta störningar/störande ämnen

Inga kända relevanta störningar/störande ämnen.

Ingen känd korsreaktivitet.

#### Rapportering av allvarliga incidenter

För patienter/användare/tredje part inom EU och i länder med samma bestämmelser ((EU) 2017/746-direktiv om medicintekniska produkter för *in vitro*-diagnostik): allvarliga incidenter som sker i samband med användning av den här enheten ska rapporteras till tillverkaren och behörig nationell myndighet.

Allvarliga incidenter som sker i andra länder ska rapporteras till tillverkaren och behörig nationell myndighet (om tillämpligt).

Kontakta tillverkare angående säkerhetsövervakning: [vigilance@ogt.com](mailto:vigilance@ogt.com)

En förteckning över kontaktpunkter för säkerhetsövervakning för behöriga nationella myndigheter inom EU finns på:

[https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts\\_en](https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en)

## Specifika prestandaegenskaper

### Analytisk specificitet

Analytisk specificitet definieras som den procentandel signaler som hybridiserar till rätt locus och ingen annan plats. Två kromosomloci i var och en av tjugo metafasceller från fem prover analyserades, vilket gav 200 datapunkter per komponent. Placeringen av varje hybridiserad sond kartlades och antalet FISH-signaler i metafaskromosomer som hybridiserade till rätt locus registrerades.

Den analytiska specificiteten hos varje sond i uppsättningen beräknades som antal FISH-signaler i metafaskromosomer som hybridiserats till rätt locus, dividerat med det totala antalet hybridiserade FISH-signaler i metafaskromosomer. Detta resultat multiplicerades med 100, uttrycktes som procent och angavs med 95 % konfidensintervall.

Tabell 1. Analytisk specificitet för EV11 (MECOM) Breakapart Probe

Mål	Antal hybridiserade metafaskromosomer	Antal korrekt hybridiserade loci	Analytisk specificitet	95 % konfidensintervall
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 är den procentandel bedömningsbara interfasceller som har det förväntade normala signalmönstret. Minst 200 interfasceller analyserades för vart och ett av 25 fixerade cellsuspensioner från benmärgsprover som bedömdes som negativa för MECOM-rearrangemang, vilket gav minst 5 000 bedömda cellkärnor för varje provtyp. Sensitivitetsdata analyserades baserat på procentandelen celler som uppvisade ett normalt förväntat signalmönster och uttrycktes som procent med 95 % konfidensintervall.

Tabell 2. Analytisk sensitivitet för EV11 (MECOM) Breakapart Probe

Provtyp	Sensitivitetskriterier	Sensitivitetsresultat
Benmärg	> 95 %	99,14 % (98,89 %–99,39 %)

### Beskrivning av normala cut-off-värden

Det normala cut-off-värdet definieras som procentandelen celler som uppvisar ett falskt positivt signalmönster med vilket en individ skulle anses normal och som inte stämmer överens med en klinisk diagnos. Minst 200 interfasceller analyserades för vart och ett av 25 benmärgsprov som bedömdes som negativa för MECOM-rearrangemang, vilket gav minst 5 000 bedömda cellkärnor för varje provtyp.

Cut-off-värdet beräknades med  $\beta$ -invers-funktionen (BETAINV) i MS Excel. Det beräknades som procentandelen interfasceller som uppvisade ett falskt positivt signalmönster. Den övre gränsen av ett ensidigt 95 % konfidensintervall av binomialfördelningen i ett normalt patientprov användes.

Tabell 3. Beskrivning av normala cut-off-värden för EV11 (MECOM) Breakapart Probe

Provtyp	Cut-off-resultat
Benmärg	4 %

Laboratorierna måste verifiera cutoff-värden med hjälp av sina egna data <sup>5,6</sup>.

### Reproducerbarhet

Reproducerbarhetsstudier utfördes för att fastställa:

- Reproducerbarhet inom samma dag på 3 laboratorier (prov till prov)
- Reproducerbarhet mellan dagar på 3 laboratorier (dag till dag)
- Reproducerbarhet mellan dagar på 3 laboratorier (plats till plats)
- Reproducerbarhet mellan loter på enskilt laboratorium (lot till lot)

Reproducerbarheten fastställdes av tre fristående laboratorier som testade totalt 12 blindprover, 6 per signalmönster (två negativa för rearrangemanget, två lågt positiva prover som var 1 till 3 gånger cutoff-värdet samt två starkt positiva prover som innehöll mer än 45 % celler som var positiva för rearrangemanget). Analysen utfördes på två replikat av varje prov under fem icke på varandra följande dagar.

Alla tre laboratorier jämförde tester inom samma dag, mellan dagar och mellan laboratorier med samma lot av sond. Ett av laboratorierna testade även reproducerbarhet mellan olika loter där sond från tre olika loter användes.

Resultaten presenterades som övergripande överensstämmelse med den förutspått negativa klassen (för de negativa proverna) och den förutspått positiva klassen (för de positiva proverna).

Tabell 4a. Reproducerbarhet och precision för EV11 (MECOM) Breakapart Probe – signalmönster för invertering

Variabel	Provtyp	Överensstämmelse
Reproducerbarhet inom samma dag (prov till prov), mellan dagar (dag till dag) och mellan platser (plats till plats)	Benmärg, negativt	100 %
	Benmärg, lågt positivt	63 %
	Benmärg, starkt positivt	100 %
Reproducerbarhet mellan loter (lot till lot)	Benmärg, negativt	92 %
	Benmärg, lågt positivt	67 %
	Benmärg, starkt positivt	100 %

Tabell 4b. Reproducerbarhet och precision för EV11 (MECOM) Breakapart Probe – signalmönster för translokation

Variabel	Provtyp	Överensstämmelse
Reproducerbarhet inom samma dag (prov till prov), mellan dagar (dag till dag) och mellan platser (plats till plats)	Benmärg, negativt	100 %
	Benmärg, lågt positivt	98 %
	Benmärg, starkt positivt	100 %
Reproducerbarhet mellan loter (lot till lot)	Benmärg, negativt	100 %
	Benmärg, lågt positivt	100 %
	Benmärg, starkt positivt	100 %

En ytterligare reproducerbarhetsstudie utfördes för att komplettera de lågt positiva resultaten för signalmönstret för invertering med två prover med olika lågt positiva nivåer (2x och 4x cutoff-värdet) och ett negativt prov för att fastställa:

- Reproducerbarhet inom samma dag (prov till prov)
- Reproducerbarhet mellan dagar på enskilt laboratorium (dag till dag)
- Reproducerbarhet mellan operatörer (operatör till operatör).

Reproducerbarheten fastställdes med en lot sond som utvärderats på två replikat av varje prov, testade under fem icke sammanhängande dagar av två olika operatörer.

Resultaten presenterades som övergripande överensstämmelse med den förutspått positiva klassen (för de positiva proverna).

Tabell 4c. Ytterligare stödande data för reproducerbarhet och precision för EV11 (MECOM) Breakapart Probe – signalmönster för invertering

Variabel	Provtyp	Överensstämmelse
Reproducerbarhet inom samma dag (prov till prov), mellan dagar (dag till dag) och mellan operatörer (operatör till operatör)	Benmärg, lågt positiv (2x cutoff)	100 %
	Benmärg, lågt positiv (4x cutoff)	100 %

### Kliniska prestanda

För att säkerställa att produkten upptäcker de avsedda rearrangemangen fastställdes dess kliniska prestanda i 3 studier av representativa prover från den avsedda populationen för produkten: Cellsuspensioner fixerade i Carnoys lösning (3:1 metanol/ättiksyra) från patienter med fastställt eller misstänkt akut myeloisk leukemi (AML) eller myeloplastiska neoplasmer (MDS). Studierna hade en kombinerad omfattning på etthundraarton (118) prover med en målpopulation på sju (7) translokationspositiva och etthundraelva (111) translokationsnegativa samt en kombinerad omfattning med etthundranitton (119) prover med etthundraelva (111) inverteringsnegativa och åtta (8) inverteringspositiva prover. Resultaten jämfördes med provets kända status. Resultatens konkordans/diskordans föll inom de godkända kriterierna för studien.

Resultaten av dessa tester analyserades för att fastställa klinisk sensitivitet, klinisk specificitet och frekvensen av falskt positiva resultat (false positive rate, FPR) för positiva signaler med hjälp av en endimensionell metod.

Tabell 5. Kliniska prestanda för EV11 (MECOM) Breakapart Probe – Translokation

Variabel	Resultat
Klinisk sensitivitet (sant positivt resultat, TPR)	99,94 %
Klinisk specificitet (sant negativt resultat, TNR)	99,97 %
Falskt positivt resultat (FPR) = 1 – specificitet	0,03 %

Tabell 6. Kliniska prestanda för EV11 (MECOM) Breakapart Probe – invertering.

Variabel	Resultat
Klinisk sensitivitet (sant positivt resultat, TPR)	96,26 %
Klinisk specificitet (sant negativt resultat, TNR)	99,28 %
Falskt positivt resultat (FPR) = 1 – specificitet	0,72 %

## Säkerhets- och prestandasammanfattning (SSP, Summary of Safety and Performance)

Säkerhets- och prestandasammanfattningen ska vara tillgänglig via den europeiska databasen för medicintekniska produkter (Eudamed) och länkat till grundläggande UDI-DI.

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

Grundläggande UDI-DI: 50558449LPH036JL

Om Eudamed inte är fullt funktionell ska säkerhets- och prestandasammanfattningen göras offentlig via e-postbegäran till [SSP@ogt.com](mailto:SSP@ogt.com).

### Mer information

Kontakta CytoCells tekniska support för att få mer information om produkten.

Tfn: +44 (0)1223 294048














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

Hemsida: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

### Referenser

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, M.J. 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.

### Symbolordlista

SS-EN ISO 15223-1:2021 – "Medicintekniska produkter – Symboler att användas med information som tillhandahålls av tillverkare – Del 1: Allmänna krav" (© International Organization for Standardization)		
Symbol	Titel	Referensnummer
	sv: Tillverkare	5.1.1
	sv: Auktoriserad representant inom den europeiska gemenskapen/EU	5.1.2
	sv: Sista användningsdatum	5.1.4
	sv: Kod för tillverkningsplatsen	5.1.5
	sv: Katalognummer	5.1.6
	sv: Skyddas mot solljus	5.3.2
	sv: Temperaturgräns	5.3.7
	sv: Se bruksanvisningen	5.4.3
 <a href="http://ogt.com/FU">ogt.com/FU</a>	sv: Se bruksanvisning i elektronisk form	5.4.3
	sv: laktta försiktighet	5.4.4
	sv: Medicinteknisk enhet för <i>in vitro</i> -diagnostik	5.5.1
	sv: Innehåller tillräckligt för <n> tester	5.5.5
	sv: Unik produktidentifiering	5.7.10

## EDMA-symboler för IVD-reagens och -komponenter – reviderade i oktober 2009

Symbol	Titel	Referensnummer
	sv: Innehåll (eller innehåller)	Ej tillämpligt

### Patent och varumärken

CytoCell är registrerat varumärke som tillhör Cytozell Limited.



#### Cytozell Limited

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

Tfn: +44 (0)1223 294048

Fax: +44 (0)1223 294986

E-post: [probes@cytozell.com](mailto:probes@cytozell.com)

Hemsida: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)



#### Sysmex Europe SE

Bornbarch 1  
22848 Norderstedt  
TYSKLAND

Tfn: +49 40 527260

Hemsida: [www.sysmex-europe.com](http://www.sysmex-europe.com)

### Bruksanvisningsversion

V001 2024-02-05: Ny bruksanvisning för bestämmelsen (EU) 2017/746