



A Sysmex Group Company



Gebruiksaanwijzing

REF: LPH 036-S / LPH 036

EV11 (MECOM) Breakapart Probe



ALLEEN VOOR PROFESSIONEEL GEBRUIK



www.cytocell.com

Meer informatie en andere talen zijn beschikbaar via www.ogt.com

Beperkingen

Dit apparaat is ontworpen om herschikkingen met breekpunten te detecteren in het gebied dat wordt begrensd door de rode, groene en blauwe klonen in deze sondeset, inclusief het gebied *EV11 (MECOM)*. Breekpunten buiten dit gebied of herschikkingvarianten die geheel binnen dit gebied liggen, worden mogelijk niet gedetecteerd door dit apparaat.

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 alleen 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 in het beoogde gebruik.

De rapportage en interpretatie van FISH-resultaten moet consistent zijn met professionele praktijknormen 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 hulpmiddel 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 EV11 (MECOM) Breakapart Probe is een kwalitatieve, niet-geautomatiseerde, fluorescentie-*in-situ*hybridisatietest (FISH) die wordt gebruikt voor het detecteren van chromosoomherschikkingen in het gebied 3q26.2 op chromosoom 3 in een Carnoy's oplossing (3:1 methanol/azijnzuur) met gefixeerde hematologisch verkregen celsuspensies van patiënten die vermoedelijk acute myeloïde leukemie (AML) of myelodysplastisch syndroom (MDS) 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 *EV11 (MECOM)* te weten voor de klinische behandeling.

Testprincipes

Fluorescentie-*in-situ*hybridisatie (FISH) is een techniek waarmee DNA-sequenties kunnen worden gedetecteerd op metafase chromosomen 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 krachtige aanvulling op cytogenetische analyse met G-banding. Deze techniek kan nu worden toegepast als essentieel onderzoekshulpmiddel voor prenatale en hematologische chromosoomanalyse en chromosoomanalyse van solide tumoren. Doel-DNA is, na fixatie en denaturatie, beschikbaar voor vasthechting aan een soortgelijk gedenatureerde 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. De gehybridiseerde sonde op het doelmateriaal kan vervolgens worden gevisualiseerd met behulp van fluorescentiemicroscopie.

Sonde-informatie

Het MECOM-*oncogen (MDS1 en EVI1 complexe locus)* op 3q26.2 is vaak herschikt bij hematologische maligniteiten van myeloïde origine.

MECOM codeert een zinkvinger-eiwit dat niet op de juiste manier tot expressie komt in leukemiecellen van tussen 2-5% van de AML- en MDS-patiënten¹. Deze gedereguleerde expressie is vaak het gevolg van een chromosoomherschikking van 3q26.2. De twee meest voorkomende afwijkingen zijn t(3;3)(q21;q26.2) en inv(3)(q21q26.2)¹. De breekpunten voor de translocaties en inversies verschillen aanzienlijk.

Inversiebreekpunten kunnen zich centromerisch van en op het MECOM-gen bevinden en beslaan ongeveer 600 kb. De meerderheid van de breekpunten in 3q26.2-translocaties bevinden zich telomerisch van het MECOM-gen en beslaan een gebied dat het telomerische uiteinde van het MDS1-gen en het MYNN-gen omvat².

Chromosoomherschikkingen van het gebied 3q26.2 worden in verband gebracht met myeloïde maligniteiten, abnormale expressie van het MECOM-gen, een ongunstige prognose en een agressief klinisch verloop².

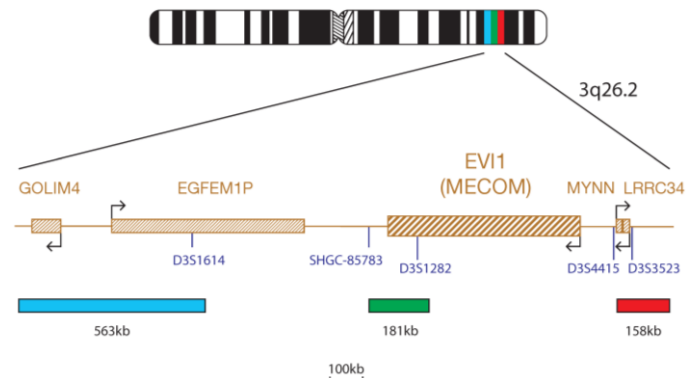
AML met inv(3)(q21q26.2) of t(3;3)(q21;q26.2) is een erkende ziekte-eenheid volgens de classificatie van myeloïde neoplasma's en acute leukemieën van de World Health Organization (WHO). Dit is een getransformeerde of de novo AML met een agressief klinisch verloop en afwijkingen die MECOM op 3q26.2 en RPN1 (ribophorin I) op 3q21 omvatten³.

Er is ook aangetoond dat MECOM herschikt kan zijn bij behandelingsgerelateerde ziektes via de t(3;21)(q26.2;q22)-translocatie, wat leidt tot een MECOM-RUNX1-fusie^{3,4}.

MECOM-herschikkingen zijn zeer heterogeen en kunnen moeilijk te detecteren zijn met conventionele cytogenetica, waardoor FISH een handig detectiehulpmiddel is.

Sondespecificatie

EV11, 3q26.2, rood
EV11, 3q26.2, groen
EV11, 3q26.2, blauw



De rode component van het EV11-sondemengsel bestaat uit een 158kb-sonde telomerisch van de D3S4415-marker en omvat het LRR34-gen. De groene component beslaat een gebied van 181 kb dat het centromerische gedeelte van het EV11 (MECOM)-gen en het deel na marker D3S1282 beslaat. De blauwe component beslaat een gebied van 563 kb centromerisch van het EV11-gen, inclusief de marker D3S1614.

Geleverde materialen

Sonde: 50 µl per buisje (5 tests) of 100 µl 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.

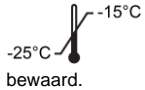
Tegenkleuring: 150 µl per buisje (15 tests)

De tegenkleuring is DAPI Antifade (ES: 0,125 µg/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.
5. Voer al het gevaarlijke materiaal af volgens de richtlijnen voor het afvoeren van gevaarlijk afval van uw instelling.
6. Gebruikers moeten de kleuren rood, blauw en groen kunnen onderscheiden.
7. 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.
8. De sonde moet niet worden verdund of gemengd met andere sondes.
9. 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 materialen

Benodigde gekalibreerde apparatuur:

1. Verwarmingsplaat (met een vaste plaat en nauwkeurige temperatuurbediening tot maximaal 80 °C)
2. Gekalibreerde micropipetten en tips met variabel volume van 1 µl - 200 µl
3. Waterbad met nauwkeurige temperatuurbediening op 37 °C en 72 °C
4. Microcentrifugebuisjes (0,5 ml)
5. Fluorescentiemicroscop (zie de paragraaf Aanbevelingen fluorescentiemicroscop)
6. Fasecontrastmicroscop
7. Schone Coplin-potjes van plastic, keramiek of hittebestendig glas
8. Tang
9. Gekalibreerde pH-meter (of pH-indicatorstrips die pH 6,5 – 8,0 kunnen meten)
10. Bevochtigde container
11. Immersie-olie van fluorescentieniveau voor microscoplenzen
12. Werkbladcentrifuge
13. Objectglasjes
14. Afdekglaasjes van 24x24 mm
15. Timer
16. 37°C-incubator
17. Rubberen lijmoplossing
18. Vortexmenger
19. Maatcilinders
20. Magneetroerder
21. Gekalibreerde thermometer

Optionele maar niet meegeleverde apparatuur

1. Cytogenetische droogkamer

Benodigde maar niet meegeleverde reagentia

1. 20x SSC-oplossing (zout-natriumcitraat)
2. 100% ethanol
3. Tween-20
4. 1M natriumhydroxide (NaOH)
5. 1M zoutzuur (HCl)
6. 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 _{max} [nm]	Emissie _{max} [nm]
Blauw	418	467
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. Gebruik een enkelvoudig bandpassfilter voor het blauwe spectrum voor optimale visualisatie van het blauwe spectrum of een drievoudige bandpassfilter voor het rode spectrum/groene spectrum/blauwe spectrum voor gelijktijdige visualisatie van de groene, rode en blauwe 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 Carnoy's fixerooplossing (3:1 methanol/azijnzuur) en zijn voorbereid volgens de richtlijnen van het laboratorium of de instelling. Bereid aan de lucht gedroogde monsters voor op objectglasjes volgens standaard cytogenetische procedures. De AGT Cytogenetics Laboratory Manual bevat aanbevelingen voor monsterverzameling, -kweken, -afname en voor het maken van objectglasjes5.

Oplossingsvoorbereiding

Ethanoloplossingen

Verdun 100% ethanol met gezuiverd water volgens onderstaande verhoudingen en meng dit 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

Verdun 1 deel 20xSSC-oplossing met 9 delen gezuiverd water en meng dit 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

Verdun 1 deel 20xSSC-oplossing met 49 delen gezuiverd water en meng dit 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

Verdun 1 deel 20xSSC-oplossing met 9 delen gezuiverd water. Voeg 5 µl Tween-20 per 10 ml toe en meng dit 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 objectglasjes

1. Plaats het celmonster op een glazen objectglasje. Laat het opdrogen. **(Optioneel, indien een cytogenetische droogkamer wordt gebruikt:** de glasjes moeten worden bevestigd met behulp van een cytogenetische droogkamer. De kamer moet voor optimale bevestiging van het celmonster ongeveer 25 °C zijn en een luchtvochtigheid van 50% hebben. Gebruik een zuurkast als er geen cytogenetische droogkamer beschikbaar is).
2. Dompel het glasje 2 minuten onder in 2xSSC op kamertemperatuur (KT) zonder het te bewegen.
3. Droog in een ethanolserie (70%, 85% en 100%), elk gedurende 2 minuten, op KT.
4. Laat het opdrogen.

Pre-denaturatie

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

Denaturatie

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

Hybridisatie

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

Post-hybridisatie spoelbeurten

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

Stabiliteit van de gereedgemaakte glasjes

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

Procedureaanbevelingen

1. Verhitten of verouderen van de glasjes kan de signaalfluorescentie verminderen.
2. Hybridisatiecondities kunnen nadelig worden beïnvloed door het gebruik van reagentia die niet door Cytozell Ltd. worden geleverd of aanbevolen.
3. Gebruik een gekalibreerde thermometer om de temperatuur van oplossingen, waterbaden en incubators te meten, omdat deze temperaturen van cruciaal belang zijn voor optimale productprestaties.
4. 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 ertoe kan leiden dat er geen signaal aanwezig is.
5. Niet-volledige denaturatie kan ertoe leiden dat er geen signaal aanwezig is en teveel denaturatie kan ook leiden tot niet-specifiek binden.
6. Te veel hybridisatie kan leiden tot aanvullende of onverwachte signalen.
7. Gebruikers dienen het protocol te optimaliseren voor de eigen monsters alvorens de test voor diagnostische doeleinden te gebruiken.

8. Suboptimale condities kunnen leiden tot niet-specifieke binding, wat verkeerd kan worden geïnterpreteerd als een sondesignaal.

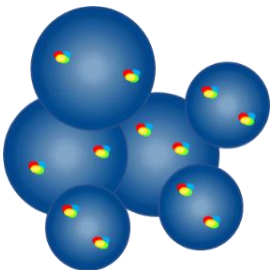
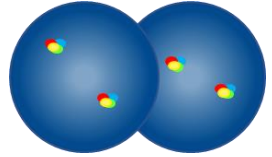
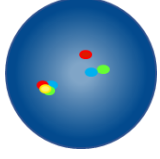
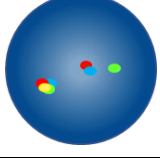
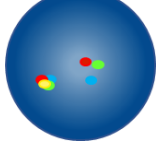
Interpretatie van resultaten
Glaasjeskwaliteit beoordelen

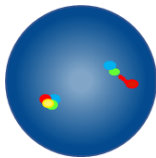
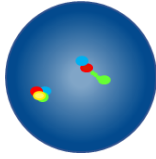
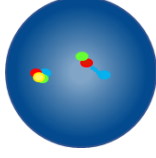
Het glaasje is niet geschikt voor analyse als:

- 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 is 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 helder;
- de randen van de celkernen 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 brandpuntvlak 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.
- Tel het tijdens het analyseren van breakapart-sondes met drie kleuren als een niet-herschikt/gefuseerd signaal als er tussen de rode, groene en blauwe signalen een gat bestaat dat niet groter is dan twee signaalbreedtes
- Analyseer een cel niet als u niet zeker bent of deze analyseerbaar is.

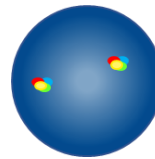
Analyserichtlijnen	
	Niet tellen – nucleï liggen te dicht bij elkaar om grenzen te kunnen bepalen
	Overlappende nucleï niet tellen – niet alle gebieden van beide nucleï zijn zichtbaar
	Tel als 2 fusiesignalen - het gat tussen het rode en groen/blauwe signaal is minder dan twee signaalbreedtes
	Tel als 2 fusiesignalen - het gat tussen het groene en rood/blauwe signaal is minder dan twee signaalbreedtes
	Tel als 2 fusiesignalen - het gat tussen het blauwe en rood/groene signaal is minder dan twee signaalbreedtes

	Tel als 2 fusiesignalen - het rode signaal is diffuus in de fusie rechtsboven
	Tel als 2 fusiesignalen - het groene signaal is diffuus in de fusie rechtsboven
	Tel als 2 fusiesignalen - het blauwe signaal is diffuus in de fusie rechtsboven

Verwachte resultaten

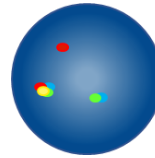
De driekleurenstrategie geeft de aanwezigheid van een translocatie of inversie aan en maakt het onderscheiden van ieder verschillend type herschikking mogelijk.

Verwacht normaal signaalpatroon

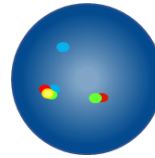


In een normale cel worden twee rood/groen/blauwe co-gelocaliseerde signalen (2RGB) verwacht.

Verwachte abnormale signaalpatronen



In een cel met een t(3;nn)(q26.2;nn)-translocatie is het verwachte signaalpatroon één rood signaal, één groen/blauw signaal en één rood/groen/blauw fusiesignaal (1R, 1GB, 1RGB).



In een cel met een inv(3)(q21q26.2)-inversie is het verwachte signaalpatroon één rood/groen fusiesignaal, één afzonderlijk blauw signaal en één rood/groen/blauw fusiesignaal (1RG, 1B, 1RGB).

Er zijn andere signaalpatronen mogelijk in aneuploïde/niet-gebalanceerde monsters.

Bekende kruisreactiviteit

Geen bekende kruisreactiviteit.

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 ongewenste gebeurtenis (bijv. vertraagde of verkeerde diagnose, vertraagde of onjuiste behandeling), dient dit onmiddellijk aan de fabrikant gemeld te worden (**e-mail**: 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 doelt 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 van de EVI1 Breakapart Probe

Sonde	Doellocus	Aant. signalen gehybridiseerd met de juiste locus	Totaal aant. gehybridiseerde signalen	Specificiteit (%)
Rood EVI1	3q26	200	200	100
Groen EVI1	3q26	200	200	100
Blauw EVI1	3q26	200	200	100

Analytische sensitiviteit

Analytische sensitiviteit is het percentage scoorbare 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 scoorbare cellen met het verwachte signaalpatroon (met een 95%-betrouwbaarheidsinterval).

Tabel 2. Analytische sensitiviteit van de EVI1 Breakapart Probe

Aant. cellen met verwachte signaalpatronen	Aant. cellen met scoorbare signalen	Sensitiviteit (%)	95%-betrouwbaarheidsinterval
4957	5000	99,14	98,84 – 99,36

Karakterisatie van normale drempelwaarden

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

De normale drempelwaarden werd bepaald aan de hand van monsters die negatief zijn voor de herschikking die de sonde moet detecteren en de bèta-inverse functie. Twee onafhankelijke analisten hebben de signaalpatronen van 100 interfase nuclei per monster vastgelegd, wat in totaal 200 patronen per monster opleverde.

Tabel 3. Karakterisatie van normale drempelwaarden van de EVI1 Breakapart Probe

Abnormaal signaalpatroon	Aantal geanalyseerde monsters om drempel te bepalen	Aantal geëvalueerde nuclei per monster	Max. aant. fout-positieve signaalpatronen	Normale drempelwaarde (%)
1R, 1GB, 1RGB	25	200	3	4
1RG, 1B, 1RGB	25	200	3	4

Laboratoria moeten de drempelwaarden verifiëren aan de hand van hun eigen gegevens^{6, 7}.

Reproduceerbaarheid

Reproduceerbaarheid werd bepaald door drie individuele laboratoria die zes blinde monsters hebben getest (twee negatief voor de herschikking, twee laag-positieve monsters met 1 tot 3 maal de drempel en twee hoog-positieve monsters met meer dan 45% van de cellen positief voor de herschikking). De analyse werd uitgevoerd met twee replica's van ieder monster in de loop van vijf niet opeenvolgende dagen.

Alle drie de locaties hebben tests op dezelfde en een andere dag en op verschillende locaties uitgevoerd met dezelfde sondepartij. Eén van de locaties heeft ook reproduceerbaarheidstests tussen partijen uitgevoerd met drie verschillende sondepartijen.

De reproduceerbaarheid is berekend aan de hand van de overeenkomst tussen de variabelen die tijdens iedere test zijn onderzocht.

Tabel 4. Reproduceerbaarheid en precisie van de EVI1 Breakapart Probe

Signaal	Reproduceerbaarheidsonderzoek	Monster	Overeenkomst (%)
Inversie (1RG, 1B, 1RGB)	Dezelfde dag / andere dag / andere locatie	Negatief	100
		Hoog-positief	100
	Andere partij	Negatief	92
		Hoog-positief	100
Translocatie (1R, 1GB, 1RGB)	Dezelfde dag / andere dag / andere locatie	Negatief	100
		Hoog-positief	100
	Andere partij	Negatief	100
		Hoog-positief	100

Klinische prestatie

De klinische prestatie werd vastgesteld aan de hand van een representatieve set niet-geselecteerde patiënten die werden doorverwezen voor AML of MDS. Er werden 100 monsters verzameld op de locatie. Het aantal incidenten van de herschikkingen die door de sonde werden waargenomen, werden vergeleken met het aantal dat voortkwam uit een beoordeling van de literatuur.

Om deze vergelijking mogelijk te maken, werd het betrouwbaarheidsinterval dat door de literatuur werd aangegeven in een populatie van 100 monsters berekend door het berekenen van 1 – sample proportions test met continuïteitscorrectie.

Tabel 5. Klinische prestaties van de EVI1 Breakapart Probe

Herschikking	Prevalentie			
	Literatuur-beoordeling (%)	95% LCI (%)	Klinisch onderzoek (%)	95% UCL (%)
AML met inv(3)/t(3;3)/MECOM-herschikkingen	1,3	0,1	4	6,7
MDS met MECOM-herschikkingen	0,4	0		5,3

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

- Soderholm *et al.*, Leukemia 1997;11:352-358
- Bobadilla *et al.*, Br J Haematol 2007;136:806-813
- Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
- Pedersen-Bjerggaard *et al.*, Leukemia 2008;22:240-248
- Arsham, MS., Barch, M.J. 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
	nl: Medisch hulpmiddel voor <i>in-vitro</i> diagnostiek
	nl: Partijnummer
	nl: Raadpleeg de gebruiksaanwijzing
	nl: Fabrikant
	nl: Houdbaarheidsdatum
	nl: Temperatuurgrens
	nl: Buiten bereik van zonlicht bewaren
	nl: Bevat voldoende voor <n> tests
	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.oqi.com