



A Sysmex Group Company



Bruksanvisning (IFU)

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

EV11 (MECOM) Breakapart Probe



KUN TIL PROFESJONELL BRUK



Du finner mer informasjon og andre språk på ogt.com/IFU

Tiltent formål

CytoCell® EV11 (MECOM) Breakapart Probe er en kvalitativ, ikke-automatisert FISH-test (fluorescens *in situ*-hybridisering) som brukes til påvisning av omgrupperinger i 3q26.2-området på kromosom 3 i suspensjoner av fikserte, hematologisk deriverte celler i Carnoys løsning (3:1 metanol/eddiksyre) fra pasienter med bekreftet eller mistenkt akutt myeloid leukemi med *MECOM*-omgruppering (AML) eller myelodysplastiske neoplasmer (MDS).

Indikasjoner for bruk

Dette utstyret er designet for bruk i tillegg til andre kliniske og histopatologiske tester som foretas under godkjent diagnostisk og klinisk behandling, der kunnskap om *MECOM*-omgruppering vil være viktig for den kliniske behandlingen.

Begrensninger

Dette utstyret er designet for påvisning av omgrupperinger med brytningspunkter i området som dekkes av de røde, grønne og aqua-fargede klonene i dette probesettet, som omfatter *MECOM*-området (grønne probe), et område telomert til *MECOM*-genet (rød probe) og et område centromerisk til *MECOM*-genet (aqua-farget probe). Det er mulig at brytningspunkter utenfor disse områdene eller variantomgrupperinger som er fullstendig innenfor dette området, ikke blir påvist med dette utstyret.

Dette utstyret er ikke ment for: bruk til frittstående diagnostisering, bruk til følgediagnostikk, prenatal testing, populasjonsbasert screening, testing i pasientnære omgivelser, eller selvtesting.

Dette utstyret er ikke validert for prøvetyper, sykdomstyper eller formål utenom det som er angitt i det tiltente formålet.

Det er ment som et supplement til andre diagnostiske laboratorietester, og behandling skal ikke igangsettes kun på bakgrunn av FISH-resultatet.

Rapportering og tolking av FISH-resultater skal utføres av kvalifisert personell, i samsvar med standarder for profesjonell praksis, og andre relevante testresultater og klinisk og diagnostisk informasjon skal tas i betraktning.

Dette utstyret er kun til profesjonell laboratoriebruk.

Dersom protokollen ikke følges, kan det påvirke testen og føre til falske positive/negative resultater.

Prinsippene bak testen

Fluorescens *in situ* hybridisering (FISH) er en teknikk som gjør det mulig å påvise DNA-sekvenser på kromosomer i metafase eller kjerner i interfase ved hjelp av fikserte cytogenetiske prøver. Teknikken innebærer bruk av DNA-prober som hybridiserer til hele kromosomer eller unike enkeltsekvenser, og er effektiv som supplement til cytogenetisk G-båndsanalyse. Denne teknikken kan nå brukes som et viktig verktøy for analysing av prenatale og hematologiske kromosomer og kromosomer i solide svulster. Etter fiksering og denaturering er mål-DNA tilgjengelig for sammenkobling med en fluorescens-merket DNA-probe som er denaturert på lignende måte og som har en komplementær sekvens. Etter hybridisering blir ubundet og ikke-spesifikt bundet DNA-probe fjernet, og DNA-et blir motfarget for visualisering. Fluorescensmikroskopi gjør det da mulig å visualisere den hybridiserte proben på målmaterialet.

Probeinformasjon

MECOM-onkogenet (MDS1 og EVI1 kompleks locus) på 3q26.2 er ofte omgruppert ved hematologiske maligniteter av myeloid opprinnelse, inklusive

myelodysplastiske neoplasmer (MDS) og akutt myeloid leukemi med *MECOM*-omgruppering (AML). Ekspresjonen av det i neoplastiske myeloid celler forstyrrer myeloid-differensiering, cellesyklusregulering og celledifferensiering¹.

Denne avregulerte ekspresjonen skyldes ofte en kromosom-omgruppering som involverer 3q26.2, der de to vanligste (~40 %) avvikene er t(3;3)(q21;q26.2) og inv(3)(q21q26.2)¹. Det er beskrevet over 30 ytterligere 3q26.2-omgrupperinger, de fleste karakterisert på molekylnivå¹.

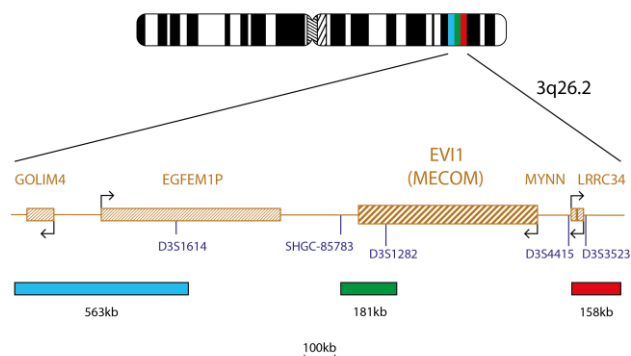
Brytningspunktene for translokasjonene og inversjonene varierer i betydelig grad. *MECOM*-omgrupperinger er svært heterogene og kan være vanskelige å påvise ved konvensjonell cytogenetikk. FISH er derfor et nyttig verktøy for å påvise dem. Brytningspunktet i variant t(3;3)(q26.2;q26.2) kan gå fra 3' proksimalt for *MECOM* til 5' distalt for MDS1-EVI1-fremmeren, noe som er dekket av den grønne proben. Forventet signalmønster for disse translokasjonene varierer derfor avhengig av brytningspunktets posisjon². Testing av *MECOM*-omgrupperinger anbefales både i MDS og AML³.

AML med *MECOM*-omgruppering er en aggressive sykdom med kort overlevelse uavhengig av blastprosent, og det er ingen forskjell i utfall mellom tilfeller med inv(3)/t(3;3) sammenlignet med *MECOM*-omgrupperinger med andre partnere¹. MDS-risikostratifisering omfatter variabler som alder, alvorlighetsgrad av cytopenier og cytogenetiske funn¹.

Probespesifikasjon

EV11, 3q26.2, rød
EV11, 3q26.2, grønn
EV11, 3q26.2, aqua-farget

CMP-H021 v008.00



Den røde komponenten av EVI1-probeblandingen består av en 158 kb probe telomerisk til D3S4415-markøren og omfatter *LRR34*-genet. Den grønne komponenten dekker et 181 kb område som omfatter centromerdelene av *EVI1*-genet (*MECOM*) og strekker seg forbi markør D3S1282. Den aqua-fargede komponenten dekker et 563 kb område centromerisk til *EVI1*-genet, som omfatter D3S1614-markøren.

Medfølgende materiell

Probe: 50 µL per ampulle (5 tester) eller 100 µL per ampulle (10 tester)
Proben leveres forhåndsblandet i hybridiseringsløsning (<65 % formamid; <20 mg dekstranulfat; <10 % av 20x natriumklorid/natriumsitrat-oppløsning (SSC)) og er klare til bruk.

Kontrafarge: 150 µL per ampulle (15 tester)

Kontrafargen er DAPI Antifade ES (0,125 µg/mL DAPI (4,6-diamidino-2-fenylindol) i glyserolbasert monteringsmedium).

Advarsler og forsiktighetsregler

1. Til *in vitro*-diagnostisk bruk. Kun til profesjonell laboratoriebruk.
2. Probeblandingen inneholder formamid, som er teratogent; ikke innånd damp, og unngå hudkontakt. Hånder forsiktig; bruk hansker og labfrakk.
3. Hånder DAPI forsiktig; bruk hansker og labfrakk.
4. Ikke bruk hvis ampullen(e) er skadet, eller hvis innholdet i ampullen er uheldig påvirket på noen måte.
5. Følg lokale avfallsbestemmelser som gjelder for ditt sted, samt anbefalingene i sikkerhetsdatabladet for å bestemme sikker avfallshåndtering av dette produktet. Dette gjelder også innhold i skadde testsett.
6. Alle brukte reagenser og alle andre kontaminerte engangsmaterialer skal kastes ved å følge prosedyrer for smittefarlig eller potensielt smittefarlig avfall. Det er ansvaret til ethvert laboratorium å håndtere fast og flytende avfall i henhold til deres art og farlighetsgrad og å behandle og kassere dem (eller få dem behandlet og kassert) i samsvar med gjeldende forskrifter.
7. Brukerne må være i stand til å skille mellom fargene rød, blå og grønn.
8. Dersom de angitte protokollene og reagensene ikke benyttes, kan det påvirke testen og føre til falske positive/negative resultater.
9. Proben skal ikke fortynnes eller blandes med andre prober.
10. Dersom det ikke brukes 10 µL av proben under protokolltrinnet med pre-denaturering, kan det påvirke testen og føre til falske positive/negative resultater.
11. Alle produkter bør valideres før bruk.
12. Internkontroll bør utføres ved å bruke upåvirkede cellepopulasjoner i testprøver.

Temperaturdefinisjoner

- -20 °C / Frosset / I fryser: -25 °C til -15 °C

- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Romtemperatur (RT): +15 °C til +25 °C

Oppbevaring og håndtering



Settlet skal oppbevares mellom -25 °C og -15 °C i fryser og kan oppbevares inntil utløpsdatoen oppgitt på settets etikett. Ampullene med probe og kontrafarge må oppbevares mørkt.



FISH-proben, DAPI Antifade ES-kontrafargen og hybridiseringsoppløsningen forblir stabile gjennom fryse-tine-sykluser som opplever under normal bruk (hvor én syklus utgjør fjerning av ampullen fra og gjeninnsetting i fryseren) – 5 sykluser for 50 µL-(5 tester)-ampullen med FISH-probe, 10 sykluser for 100 µL-(10 tester)-ampullen med FISH-probe,

og 15 sykluser for 150 µL-(15 tester)-ampullen med kontrafarge. Eksponering for lys bør minimeres og unngås der det er mulig. Oppbevar komponentene i den lysbestandige beholderen som følger med. Komponenter som brukes og lagres under andre forhold enn de som er angitt på etiketten, fungerer kanskje ikke som forventet og kan påvirke analyseresultatene negativt. Eksponering for lys og temperaturforandringer må begrenses i størst mulig grad.

Nødvendig utstyr og materialer som ikke medfølger

Det må benyttes kalibrert utstyr:

1. Varmerplate (med fast plate og nøyaktig temperaturkontroll opptil 80 °C)
2. Kalibrerte mikropipetter med forskjellige tupper og for forskjellige volum i området 1–200 µL
3. Vannbad med nøyaktig temperaturkontroll ved 37 °C og 72 °C
4. Mikrosentrifugerør (0,5 mL)
5. Fluorescensmikroskop (se avsnittet Anbefalinger for fluorescensmikroskopering)
6. Fasekontrastmikroskop
7. Rene Coplin-krukker av plast, keramikk eller varmeresistent glass
8. Pinsett
9. Kalibrert pH-måler (eller strips med pH-indikator som måler pH 6,5–8,0)
10. Fuktet kammer
11. Immersjonsolje for fluorescensmikroskopering
12. Benksentrifuge
13. Objektglass
14. 24x24 mm-dekkglass
15. Tidtager
16. 37 °C-inkubator
17. Lim (gummioppløsning)
18. Vortex-blander
19. Graderte sylinderglass
20. Magnetrører
21. Kalibrert termometer

Valgfritt utstyr som ikke medfølger

1. Cytogenetisk tørkekammer

Nødvendige reagenser som ikke medfølger

1. 20x natriumklorid/natriumsitrat-oppløsning (SSC)
2. 100 % etanol
3. Tween-20
4. 1M natriumhydroksid (NaOH)
5. 1M saltsyre (HCl)
6. Renset vann

Anbefalinger for fluorescensmikroskopering

Bruk en 100-watts kvikksølvlampe eller tilsvarende samt planslipte, apokromatiske objektglass 60/63x eller 100x for oljeimmersjon og optimal visualisering. Fluoroforene som benyttes i dette probesettet, eksiterer og emitterer ved følgende bølgelengder:

Fluorofor	Eksitasjon _{max} [nm]	Emisjon _{max} [nm]
Aqua-farget	418	467
Grønn	495	521
Rød	596	615

Sørg for at mikroskopet har egnede eksitasjons- og emisjonsfiltre som dekker bølgelengdespekteret angitt ovenfor.

Bruk et enkelt bandpassfilter (aqua-farget spektrum) for optimal visualisering av aqua-farget spektrum eller et trippelt bandpassfilter (rødt spektrum / grønt spektrum / aqua-farget spektrum) for simultan visualisering av de grønne, røde og aqua-fargede fluoroforene.

Sjekk at fluorescensmikroskopet fungerer som det skal, før det brukes. Bruk immersjonsolje som er egnet for fluorescensmikroskopering, og som er formulert for svak autofluorescens. Unngå å blande DAPI antifade i immersjonsoljen. Det gjør signalene utydelige. Følg produsentenes anbefalinger når det gjelder lampens og filternes levetid.

Prøvepreparering

Settet er designet for bruk av Carnoys løsning (3:1 metanol/eddiksyre) fikserte hematologisk-avledede cellesuspensjoner fra pasienter med bekreftet eller mistenkt akutt myeloid leukemi (AML) eller myelodysplastisk neoplasmer (MDS) som er preparert i henhold til laboratoriets eller institusjonens retningslinjer. Preparer lufttørkede prøver på objektglass i henhold til standard cytogenetiske

prosedyrer. AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* inneholder anbefalinger for prøvetaking, dyrking, høsting og prøvepreparering⁴.

Tilberedning av oppløsninger

Etanoloppløsninger

Fortynn 100 % etanol med renset vann i følgende forhold, og bland godt:

- 70 % etanol – 7 deler 100 % etanol og 3 deler renset vann
- 85 % etanol – 8,5 deler 100 % etanol og 1,5 deler renset vann

Oppløsningene kan oppbevares i opptil 6 måneder ved romtemperatur i en lufttett beholder.

2xSSC-oppløsning

Fortynn 1 del 20xSSC-oppløsning med 9 deler renset vann, og bland godt. Sjekk pH, og juster til pH 7,0 ved bruk av NaOH eller HCl etter behov. Oppløsningen kan oppbevares i opptil 4 uker ved romtemperatur i en lufttett beholder.

0,4xSSC-oppløsning

Fortynn 1 del 20xSSC-oppløsning med 49 deler renset vann, og bland godt. Sjekk pH, og juster til pH 7,0 ved bruk av NaOH eller HCl etter behov. Oppløsningen kan oppbevares i opptil 4 uker ved romtemperatur i en lufttett beholder.

2xSSC, 0,05 % Tween-20-oppløsning

Fortynn 1 del 20xSSC-oppløsning med 9 deler renset vann. Tiltsett 5 µL Tween-20 per 10S mL, og bland godt. Sjekk pH, og juster til pH 7,0 ved bruk av NaOH eller HCl etter behov. Oppløsningen kan oppbevares i opptil 4 uker ved romtemperatur i en lufttett beholder.

FISH-protokoll

(Merk: Pass alltid på at proben og kontrafargen eksponeres minst mulig for laboratoriebelysning).

Preparering av objektglass

1. Legg celleprøven på et objektglass av glass. La tørke. (**Valgfritt, hvis du bruker et cytogenetisk tørkekammer:** For optimal celleprøvepreparering skal kammeret holde omtrent 25 °C og 50 % fuktighet. Dersom et cytogenetisk tørkekammer ikke er tilgjengelig, kan en avtrekkshette være et alternativ).
2. Legg objektglasset i 2xSSC i 2 minutter ved romtemperatur (RT) uten omrøring.
3. Dehydrer i flere etanoloppløsninger (70 %, 85 % og 100 %) ved RT, 2 minutter i hver oppløsning.
4. La tørke.

Pre-denaturering

5. Ta proben ut av fryseren, og la den nå RT. Sentrifuger rørene lett før bruk.
6. Bland probeløsningen med en pipette så den blir homogen.
7. Ta ut 10 µL av probe per test, og overfør volumet til et mikrosentrifugerør. Sett straks resterende probe tilbake i fryseren.
8. Forhåndsvarm proben og prøvepreparatet til 37 °C (+/- 1 °C) på en varmerplate i 5 minutter.
9. Legg 10 µL av probeblandingen på celleprøven, og legg et dekkglass forsiktig på. Forsegl med lim (gummioppløsning), og la limet tørke helt.

Denaturering

10. Denaturer prøven og proben samtidig ved å varme objektglasset på en varmerplate ved 75 °C (+/- 1 °C) i 2 minutter.

Hybridisering

11. Oppbevar objektglasset i en fuktig, lystett beholder ved 37 °C (+/- 1 °C) over natten.

Vasking etter hybridisering

12. Ta DAPI ut fra fryseren, og la den nå RT.
13. Fjern forsiktig dekkglasset og alle limrester.
14. Legg objektglasset i 0,4xSSC (pH 7,0) ved 72 °C (+/- 1 °C) i 2 minutter uten omrøring.
15. La oppløsningen renne av, og legg objektglasset i 2xSSC, 0,05 % Tween-20 ved RT (pH 7,0) i 30 sekunder uten omrøring.
16. La oppløsningen renne av, og legg 10 µL DAPI antifade på hver prøve.
17. Legg på et dekkglass, fjern eventuelle bobler og la fargen utvikles i mørke i 10 minutter.
18. Se på prøven i et fluorescensmikroskop (se **Anbefalinger for fluorescensmikroskopering**).

Prosedyreanbefalinger

1. Uttørkede eller gamle prøver kan gi redusert signalfluorescens.
2. Hybridiseringsforholdene kan bli negativt påvirket dersom det brukes andre reagenser enn de som følger med eller anbefales av Cytocell Ltd.
3. Bruk et kalibrert termometer til måling av temperaturen i oppløsninger, vannbad og inkubatorer siden disse temperaturene er viktige for optimal ytelse.
4. Konsentrasjoner, pH-verdier og temperaturer er viktige siden lav stringens kan føre til uspesifikk binding av proben og for høy stringens kan føre til manglende signal.
5. Ufullstendig denaturering kan føre til manglende signal og overdenaturering kan også føre til uspesifikk binding.
6. Overhybridisering kan føre til ekstrasingler eller uventede signaler.
7. Brukerne bør optimalisere protokollen for egne prøver før de bruker testen til diagnostiske formål.
8. Suboptimale forhold kan føre til uspesifikk binding som kan bli feiltolket som et probesignal.

Tolkning av resultater

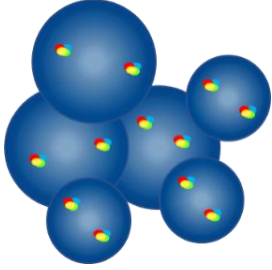
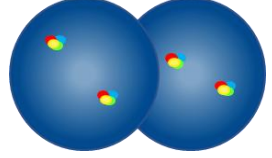
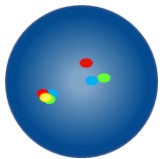
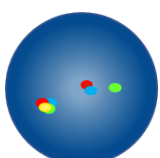
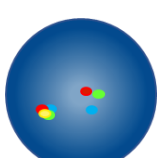
Vurdering av prøvepreparatets kvalitet

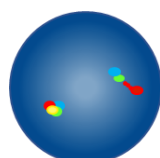
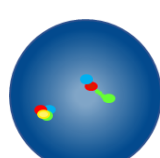
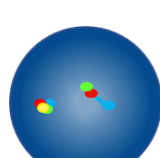
Prøvepreparatet skal ikke analyseres dersom:

- Signalene er for svake for analysering i enkle filtre. For å kunne brukes i analyse skal signalene være klare, distinkte og enkle å evaluere
- Det er mange sammenklumpede/overlappende celler som forstyrrer analysen
- >50 % av cellene ikke er hybridisert
- Det er et overskudd av fluorescerende partikler mellom celler og/eller en fluorescerende tåke som interfererer med signalene – på optimale prøvepreparater bør bakgrunnen være jevn, og mørk eller svart
- Grensen til cellekjernen ikke kan skjelnes eller ikke er intakt

Retningslinjer for analyse

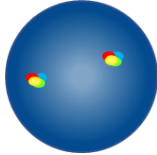
- To analytikere skal analysere og tolke hver prøve. Ved eventuell uoverensstemmelse skal det foretas en vurdering av en tredje analytiker
- Alle analytikere skal være tilstrekkelig kvalifisert i henhold til anerkjente nasjonale standarder
- Hver analytiker skal uavhengig av hverandre gi score til 100 kjerner i hver prøve. Første analytiker bør starte analysen fra venstre side av prøven og andre analytiker fra høyre side
- Begge analytikere skal dokumentere resultatene sine i separate dokumenter
- Analyser bare intakte kjerner, ikke analyser overlappende eller sammenklumpede kjerner eller kjerner som er dekket av cytoplasmarester eller som har høy grad av autofluorescens
- Unngå områder med mye cytoplasmarester eller uspesifikk hybridisering
- Signalintensiteten kan variere, også innenfor en enkelt kerne. I slike tilfeller skal det brukes enkeltfiltre og/eller det fokale planet skal justeres
- Ved suboptimale forhold kan signalene bli diffuse. Dersom to signaler med samme farge er i kontakt med hverandre, eller avstanden mellom dem ikke er større enn to signalbredder, eller når en svak tråd sammenkobler de to signalene, skal de regnes som ett signal
- Dersom det ved analysering av trefargede «breakapart»-prober er en avstand mellom 3 signaler (røde, grønne, aqua-fargede) ikke er større enn 2 signalbredder, skal de tolkes som ikke-omgrupperte/sammenkoblede signaler
- Ved tvil om hvorvidt en celle er analyserbar eller ikke, skal den ikke analyseres

Retningslinjer for analyse	
	Skal ikke telles – kjernene er for nære hverandre til at grensene kan bestemmes
	Overlappende kjerner skal ikke telles – ikke alle områder på de to kjernene er synlige
	Teller som 2 fusjonssignaler – avstanden mellom det røde og det grønne/aqua-fargede signalet er mindre enn to probebredder
	Teller som 2 fusjonssignaler – avstanden mellom det grønne og det røde/aqua-fargede signalet er mindre enn to probebredder
	Teller som 2 fusjonssignaler – avstanden mellom det aqua-fargede og det røde/grønne signalet er mindre enn to probebredder

	Teller som 2 fusjonssignaler – det røde signalet er diffust i fusjonen øverst til høyre
	Teller som 2 fusjonssignaler – det grønne signalet er diffust i fusjonen øverst til høyre
	Teller som 2 fusjonssignaler – det aqua-fargede signalet er diffust i fusjonen øverst til høyre

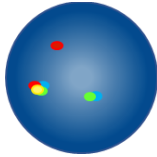
Forventede resultater

Forventet mønster av normale signaler

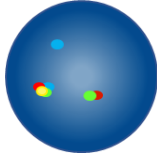


I en normal celle forventes det to røde/grønne/aqua-fargede fusjonssignaler (2RGA).

Forventet mønster av unormale signaler



I en celle med t(3;3)(q21;26.2) eller t(3;v)(q26.2;v) med brytningspunkter distalt til den grønne proben er det forventede signalmønsteret ett rødt/grønt/aqua-farget signal, ett grønt/aqua-farget fusjonssignal og ett rødt signal (1RGA1GA1R).



I en celle med inv(3)(q21q26.2) eller t(3;v)(q26.2;v) med brytningspunkter proksimalt til den grønne proben er det forventede signalmønsteret ett rødt/grønt/aqua-farget signal, ett rødt/grønt fusjonssignal og ett aqua-farget signal (1RGA1RG1A).

Andre signalmønstre er mulige i aneuploide/ubalanserte celleprøver.

Kjente relevante interferenser / interfererende stoffer

Ingen kjente relevante interferenser / interfererende stoffer.

Ingen kjente kryssreaksjoner.

Rapportering av alvorlige hendelser

Hvis pasienten/brukeren/tredjeparten er etablert i EU og i land med identisk reguleringsregime (forordning (EU) 2017/746 om *in vitro* diagnostisk medisinsk utstyr) og det oppstår en alvorlig hendelse under bruken av dette utstyret eller som følge av dets bruk, skal dette rapporteres til produsenten og til din nasjonale kompetente myndighet.

For alvorlige hendelser i andre land, skal dette rapporteres til produsenten og, hvis relevant, til din nasjonale kompetente myndighet.

Produsentkontakt: vigilance@ogt.com

Det finnes en liste over kontaktpunkter til nasjonale kompetente myndigheter i EU på:

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

Spesifikke analysekarakteristika

Analytisk spesifisitet

Analytisk spesifisitet er definert som prosentandelen signaler som viser hybridisering til korrekt locus og ingen annen lokasjon. I tju metafaseceller fra fem prøver ble det analysert to kromosomloci i hver celle, noe som tilsvarer 200 datapunkter per komponent. Plasseringen av hver hybridiserte probe ble kartlagt, og antall FISH-signaler fra kromosomer i metafase som hybridiserte til riktig locus ble registrert.

Den analytiske spesifisiteten til hver probe i settet ble beregnet som antall FISH-signaler fra kromosomer i metafase hybridisert til riktig locus delt på det totale antallet FISH-signaler fra hybridiserte kromosomer i metafase. Dette resultatet ble multiplisert med 100, uttrykt i prosent og gitt med 95 % konfidensintervall.

Tabell 1. Analytisk spesifisitet for EVI1 (MECOM) Breakapart Probe

Mål	Antall hybridiserte metafasekromosomer	Antall korrekt hybridiserte loci	Analytisk spesifisitet	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 %

Analysisk sensitivitet

Analytisk sensitivitet er prosentandelen interfase-celler som kan gis en score og som har det forventede normale signalmønsteret. Minst 200 interfaseceller ble analysert for hver av 25 fikserte cellesuspensjoner fra beinmarg som ble ansett som negative for en MECOM-omgruppering, noe som resulterer i minst 5000 analyserte kjerner for hver prøvetype. Sensitivitetsdataene ble analysert på bakgrunn av prosentandelen celler som viste et normalt forventet signalmønster, og ble uttrykt som en prosentandel med 95 % konfidensintervall.

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

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

Karakterisering av normale cut-off-verdier

Normal cut-off er definert som prosentandelen celler som viser et falskt positivt signalmønster som hos et individ ville betraktes som normalt og ikke i samsvar med en klinisk diagnose. Minst 200 interfaseceller ble analysert for hver av 25 beinmargsprøver som ble ansett som negative for MECOM-omgruppering, noe som resulterte i minst 5000 analyserte kjerner for hver prøvetype.

Cut-off-verdien ble bestemt ved bruk av β -invers-funksjonen (BETAINV) i MS Excel. Den ble beregnet som prosentandelen interfaseceller som viser et falskt positivt signalmønster, ved bruk av øvre grense av et ensidig 95 % konfidensintervall for den binomiske fordelingen i en normal prøve fra en pasient.

Tabell 3. Karakterisering av normale cut-off-verdier for EVI1 (MECOM) Breakapart Probe

Prøvetype	Cut-off-resultat
Beinmarg	4 %

Laboratorier må verifisere cut-off-verdier ved bruk av egne data ^{5,6}.

Reproduserbarhet

Reproduserbarhetsstudier ble utført for å fastslå:

- 3-steds reproduserbarhet samme dag (prøve til prøve)
- 3-steds reproduserbarhet forskjellige dager (dag til dag)
- 3-steds reproduserbarhet forskjellige steder (sted til sted)
- Ett-steds reproduserbarhet mellom batcher (batch til batch)

Reproduserbarhet ble bestemt av 3 forskjellige laboratorier som testet til sammen 12 blindede prøver, 6 per signalmønster (2 negative for omgrupperingen, 2 svakt positive prøver som var 1 til 3 ganger cut-off, og 2 svært positive prøver som inneholdt mer enn 45 % celler som var positive for omgrupperingen). Analysen ble utført ved bruk av 2 replikater av hver prøve og i løpet av 5 ikke-påfølgende dager.

Alle 3 laboratorier utførte testing av samme probetbatch på samme dag, forskjellige dager og forskjellige lokasjoner. Ett av laboratoriene utførte også testing av reproduserbarhet ved bruk av 3 forskjellige probetbatcher.

Resultatene ble presentert som det totale samsvaret med den predikerte negative klassen (for de negative prøvene) og den predikerte positive klassen (for de positive prøvene).

Tabell 4a. Reproduserbarhet og nøyaktighet for EVI1 (MECOM) Breakapart Probe – inversjonssignalmønster

Variabel	Prøvetype	Samsvar
Reproduserbarhet – samme dag (prøve til prøve), mellom dager (dag-til-dag) og mellom steder (sted-til-sted)	Beinmarg negativ	100 %
	Beinmarg svakt positiv	63 %
	Beinmarg svært positiv	100 %
Reproduserbarhet mellom partier (parti-til-parti)	Beinmarg negativ	92 %
	Beinmarg svakt positiv	67 %
	Beinmarg svært positiv	100 %

Tabell 4b. Reproduserbarhet og nøyaktighet for EVI1 (MECOM) Breakapart Probe – translokasjonssignalmønster

Variabel	Prøvetype	Samsvar
Reproduserbarhet – samme dag (prøve til prøve), mellom dager (dag-til-dag) og mellom steder (sted-til-sted)	Beinmarg negativ	100 %
	Beinmarg svakt positiv	98 %
	Beinmarg svært positiv	100 %
Reproduserbarhet mellom partier (parti-til-parti)	Beinmarg negativ	100 %
	Beinmarg svakt positiv	100 %
	Beinmarg svært positiv	100 %

Det ble utført en ekstra reproduserbarhetsstudie for å supplere de lavpositive resultatene for inversjonssignalmønsteret ved hjelp av 2 prøver med ulike lavpositivitetsnivåer (2x og 4x cut-off-verdien) og 1 negative prøve for å fastslå:

- ett-steds reproduserbarhet samme dag (prøve til prøve)
- ett-steds reproduserbarhet forskjellige dager (dag til dag)
- ett-steds reproduserbarhet mellom operatører (operatør til operatør)

Reproduserbarheten ble fastslått ved hjelp av 1 parti av proben, evaluert på 2 replikater av hver prøve, testet over 5 ikke-sammenhengende dager av 2 forskjellige operatører.

Resultatene ble presentert som det totale samsvaret med den prognostiserte positive klassen (for de positive prøvene).

Tabell 4c. Ytterligere støttestudier for reproduserbarhet og nøyaktighet for EVI1 (MECOM) Breakapart Probe – inversjonssignalmønster

Variabel	Prøvetype	Samsvar
Reproduserbarhet – samme dag (prøve til prøve), mellom dager (dag til dag), mellom operatører (operatør til operatør)	Beinmarg svakt positiv (2x cut-off)	100 %
	Beinmarg svakt positiv (4x cut-off)	100 %

Klinisk ytelse

For å sikre at produktet påviser de korrekte omgrupperingene, ble den kliniske ytelsen bestemt over 3 studier på representative prøver fra den tiltenkte populasjonen for produktet: Carnoys løsningsfikserte (3:1 metanol/eddiksyre) hematologisk-avledelede cellesuspensjoner fra pasienter med bekreftet eller mistenkt akutt myeloid leukemi (AML) eller myelodysplastisk syndrom (MDS). Studiene hadde en samlet prøvestørrelse på ett hundre og atten (118) prøver, med en målpopulasjon på sju (7) translokasjonspositive og ett hundre og elleve (111) translokasjonsnegative og et kombinert utvalg på ett hundre og nitten (119) prøver med ett hundre og elleve (111) inversjonsnegative og åtte (8) inversjonspositive prøver. Resultatene ble sammenlignet med prøvens kjente status. Konkordansen/diskordansen av resultater ble funnet å oppfylle akseptkriteriene for denne studien.

Resultatene av disse testene ble analysert for å bestemme verdier for klinisk sensitivitet, klinisk spesifisitet og falskt positiv-rate (FPR) for positive signaler, ved bruk av en endimensjonal metode.

Tabell 5. Klinisk ytelse for EVI1 (MECOM) Breakapart Probe – translokasjon

Variabel	Resultat
Klinisk sensitivitet (sann positiv rate, TPR)	99,94 %
Klinisk spesifisitet (sann negativ rate, TNR)	99,97 %
Falsk positiv rate (FPR) = 1 – Spesifisitet	0,03 %

Tabell 6. Klinisk ytelse for EVI1 (MECOM) Breakapart Probe – inversjon.

Variabel	Resultat
Klinisk sensitivitet (sann positiv rate, TPR)	96,26 %
Klinisk spesifisitet (sann negativ rate, TNR)	99,28 %
Falsk positiv rate (FPR) = 1 – Spesifisitet	0,72 %

Sammendrag av sikkerhet og ytelse (SSP)
SSP skal gjøres tilgjengelig for allmennheten via den europeiske databasen for medisinsk utstyr (Eudamed), der SSP-en er knyttet til den grunnleggende UDI-DI. Eudamed URL: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>
Grunnleggende UDI-DI: 50558449LPH036JL

Hvis Eudamed ikke er fullt ut funksjonell, skal SSP gjøres tilgjengelig for allmennheten på forespørsel ved å sende e-post til SSP@ogt.com.

Ytterligere informasjon
Ytterligere produktinformasjon kan fås ved å kontakte CytoCell Technical Support Department.
Tlf.: +44 (0)1223 294048
E: techsupport@cytocell.com
Nettsted: www.ogt.com

Referanser

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. *Precinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16–23.

Symboloversikt

NS-EN ISO 15223-1:2021 – «Medisinsk utstyr – Symboler til bruk med informasjon som skal leveres av produsenten – Del 1: Generelle krav» (© International Organization for Standardization)		
Symbol	Tittel	Referansenummer
	no: Produsent	5.1.1
	no: Autorisert representant i Det europeiske fellesskap / Den europeiske union	5.1.2
	no: Brukes innen- dato	5.1.4
	no: Batchkode	5.1.5
	no: Katalognummer	5.1.6
	no: Oppbevares beskyttet mot sollys	5.3.2
	no: Temperaturgrense	5.3.7
	no: Les bruksanvisningen	5.4.3
 ogt.com/IFU	no: Les den elektroniske bruksanvisningen	5.4.3
	no: Forsiktig	5.4.4
	no: Medisinsk utstyr til <i>in vitro</i> -diagnostikk	5.5.1
	no: Innholdet rekker til <n> tester	5.5.5
	no: Unik enhetsidentifikator	5.7.10
EDMA-symboler for IVD-reagenser og -komponenter, revisjon oktober 2009		

Symbol	Tittel	Referansenummer
	no: Innhold (eller inneholder)	N/A

Patenter og varemerker
CytoCell er et registrert varemerke for CytoCell Limited.



CytoCell Limited
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
STORBRITANNIA

Tlf.: +44 (0)1223 294048
Faks: +44 (0)1223 294986
E: probes@cytocell.com
Nettsted: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Bombarch 1
22848 Norderstedt
TYSKLAND

Tlf.: +49 40 527260
Nettsted: www.sysmex-europe.com

IFU versjonshistorikk
V001 2024-02-05: Ny bruksanvisning for forordning (EU) 2017/746
V002 2025-08-29: Fjerning av UKCA-merket