



A Sysmex Group Company



Gebruiksaanwijzing

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

EV11 (MECOM) Breakapart Probe



ALLEEN VOOR PROFESSIONEEL GEBRUIK



Meer informatie en andere talen zijn beschikbaar via ogt.com/IFU

Gebruiksdoel

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) met *MECOM*-herschikking of myelodysplastische neoplasmen (MDS) hebben of daarmee zijn gediagnosticeerd.

Indicaties voor gebruik

Dit hulpmiddel is ontworpen als aanvulling op andere klinische en histopathologische tests in erkende diagnostische en klinische zorgtrajecten waarbij het belangrijk is om de herschikkingsstatus van *MECOM* te weten voor de klinische behandeling.

Beperkingen

Dit hulpmiddel 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 *MECOM*-gebied (groene sonde), een gebied telomerisch van het *MECOM*-gen (rode sonde) en een gebied centromerisch van het *MECOM*-gen (blauwe sonde). Breekpunten buiten deze gebieden of herschikkingsvarianten die geheel binnen dit gebied liggen, worden mogelijk niet gedetecteerd door dit hulpmiddel.

Dit hulpmiddel is niet bedoeld voor gebruik als enig of aanvullend diagnostisch criterium, prenatale tests, screening op basis van populatie, 'near-patient' tests of zelftests.

Dit hulpmiddel is niet gevalideerd voor monstertypes, ziektypen of doeleinden die niet worden gespecificeerd in het gebruikdoel.

Het is bedoeld als aanvulling op andere diagnostische laboratoriumtests en er mag geen therapeutische actie worden ondernomen op basis van enkel het FISH-resultaat.

De rapportage en interpretatie van FISH-resultaten moet worden uitgevoerd door gekwalificeerd personeel, consistent zijn met professionele praktijknormen en er moet rekening worden gehouden met andere relevante testresultaten en klinische en diagnostische informatie.

Dit hulpmiddel is alleen bedoeld voor professioneel gebruik in laboratoria.

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

Testprincipes

Fluorescentie-*in situ*hybridisatie (FISH) is een techniek waarmee DNA-sequenties kunnen worden gedetecteerd op metafase chromosomen of in interfase nuclei van gefixeerde cytogenetische monsters. Deze techniek maakt gebruik van DNA-sondes die hybridiseren tot hele 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 gedenateerde 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, waaronder myelodysplastische neoplasmen (MDS) en acute myeloïde leukemie (AML) met *MECOM*-herschikking. De expressie ervan in neoplastische myeloïde cellen verstoort de myeloïde differentiatie, regulatie van de celcyclus en celsignaleringsroutes¹.

Deze gedereguleerde expressie is vaak het gevolg van een chromosoomherschikking van 3q26.2. De twee meest voorkomende (~ 40%) afwijkingen zijn t(3;3)(q21;q26.2) en inv(3)(q21q26.2)¹. Er zijn meer dan 30 extra 3q26.2-herschikkingen beschreven, waarvan de meeste op moleculair niveau zijn gekarakteriseerd¹.

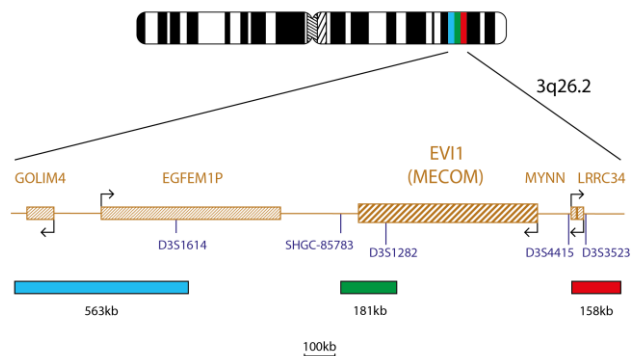
De breekpunten voor de translocaties en inversies verschillen aanzienlijk. *MECOM*-herschikkingen zijn zeer heterogeen en kunnen moeilijk te detecteren zijn met conventionele cytogenetica, waardoor FISH een handig detectiehulpmiddel is. Breekpuntgebieden van variant t(3;v)(q26.2;v) kunnen zich uitstrekken van 3' proximaal van *MECOM* tot 5' distaal van de MDS1-EVI1-promoter, die door de groene sonde worden beslagen. Daarom varieert het verwachte signaelpatroon voor deze translocaties afhankelijk van de breekpuntpositie². Testen op *MECOM*-herschikkingen wordt aanbevolen voor zowel MDS als AML³.

AML met *MECOM*-herschikking is een agressieve ziekte met een korte overleving, ongeacht het blastpercentage, zonder verschil in uitkomst tussen gevallen met inv(3)/t(3;3) in vergelijking met *MECOM*-herschikkingen met andere partners¹. De MDS-risicofactoren omvatten variabelen zoals leeftijd, ernst van de cytopenieën en cytogenetische bevindingen¹.

Sondespecificatie

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

CMP-H021 v008.00



De rode component van het EVI1-sondemengsel bestaat uit een 158kb-sonde telomerisch van de D3S4415-marker en omvat het *LRRC34*-gen. De groene component beslaat een gebied van 181 kb dat het centromerische gedeelte van het *EVI1* (*MECOM*)-gen en het deel na marker D3S1282 beslaat. De blauwe component beslaat een gebied van 563 kb centromerisch van het *EVI1*-gen, inclusief de marker D3S1614.

Geleverde materialen

Sonde: 50 µL per buisje (5 tests) of 100 µL per buisje (10 tests)

De sondes worden gemengd geleverd in een hybridisatieoplossing (< 65% formamide; < 20 mg dextraansulfaat; < 10% van 20x zout-natriumcitraat (SSC)) 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) in een inbedmiddel op basis van glycerol).

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

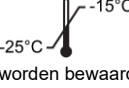
1. Voor *in-vitro*diagnostiek. Alleen voor professioneel gebruik in laboratoria.
2. De sondemengsels bevatten formamide. Dit is een teratogeen; adem de dampen niet in en voorkom huidcontact. Wees voorzichtig; draag handschoenen en een labjas.
3. Voorzichtigheid is geboden met de DAPI; draag handschoenen en een labjas.
4. Niet gebruiken als het/de buisje(s) zijn beschadigd of als de inhoud van de buisjes op wat voor manier dan ook is aangetast.
5. Houd u aan uw lokale regelgeving en raadpleeg de aanbevelingen in het veiligheidsinformatieblad om te bepalen hoe u dit product veilig kunt afvoeren. Dit geldt ook voor de inhoud van beschadigde testsets.
6. Voer alle gebruikte reagentia en alle overige besmette wegwerpmaterialen af volgens de procedures voor infectieus of mogelijk infectieus afval. Elk laboratorium is ervoor verantwoordelijk dat vast en vloeibaar afval wordt verwerkt in overeenstemming met de desbetreffende eigenschappen en de mate van gevaar dat het vormt en om het te behandelen en te (laten) afvoeren in overeenstemming met alle geldende wet- en regelgeving.
7. Gebruikers moeten de kleuren rood, blauw en groen kunnen onderscheiden.
8. De prestaties van het hulpmiddel worden mogelijk beïnvloed als het beschreven protocol niet wordt opgevolgd en de voorgeschreven reagentia

- niet worden gebruikt. Dit kan ook leiden tot foutpositieve/foutnegatieve resultaten.
- De sonde mag niet worden verdund of gemengd met andere sondes.
 - De prestaties worden mogelijk beïnvloed als er geen sonde van 10 µL wordt gebruikt tijdens het pre-denaturatiestadium van het protocol. Dit kan ook leiden tot foutpositieve/foutnegatieve resultaten.
 - Alle producten moeten voor gebruik worden gevalideerd.
 - Er dienen interne inspecties plaats te vinden met gebruik van gezonde celpopulaties in testmonsters.

Temperatuurdefinities

- 20 °C / Bevroren / In de vriezer: -25 °C tot -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Kamertemperatuur (KT): +15 °C tot +25 °C

Opslag en beheer

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



De FISH-sonde, DAPI Antifade ES-tegenkleuring en hybridisatieoplossing blijven bij normaal gebruik stabiel gedurende alle vries-dooicycli (waarbij een cyclus bestaat uit het verwijderen van het buisje uit en terugplaatsen in de vriezer). Dit zijn 5 cycli voor het buisje met 50 µL FISH-sonde (5 tests), 10 cycli voor het buisje met 100 µL FISH-sonde (10 tests)

en 15 cycli voor het buisje met 150 µL tegenkleuring (15 tests). Blootstelling aan licht dient zoveel mogelijk te worden vermeden. Bewaar de componenten in de bijgeleverde lichtdichte doos. Componenten die onder andere omstandigheden dan vermeld op het etiket worden gebruikt en opgeslagen, presteren mogelijk niet zoals verwacht en kunnen de testresultaten negatief beïnvloeden. Voorkom onnodige blootstelling aan licht en temperatuurschommelingen.

Benodigde maar niet meegeleverde materialen

Benodigde gekalibreerde apparatuur:

- Verwarmingsplaat (met een vaste plaat en nauwkeurige temperatuurbediening tot maximaal 80 °C)
- Gekalibreerde micropipetten en tips met variabel volume van 1 µL - 200 µL
- Waterbad met nauwkeurige temperatuurbediening op 37 °C en 72 °C
- Microcentrifugebuisjes (0,5 mL)
- Fluorescentiemicroscop (zie de paragraaf Aanbevelingen fluorescentiemicroscop)
- Fasecontrastmicroscop
- Schone Coplin-potjes van kunststof, keramiek of hittebestendig glas
- Tang
- Gekalibreerde pH-meter (of pH-indicatorstrips die een pH-waarde van 6,5 – 8,0 kunnen meten)
- Bevochtigde container
- Immersie-olie van fluorescentieniveau voor microscoopenlenzen
- Werkbladcentrifuge
- Objectglaasjes
- Afdekglaasjes van 24x24 mm
- Timer
- 37 °C-incubator
- Rubberen lijmplossing
- Vortexmenger
- Maatcilinders
- Magneetroerder
- Gekalibreerde thermometer

Optionele maar niet meegeleverde apparatuur

- Cytogenetische droogkamer

Benodigde maar niet meegeleverde reagentia

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

Aanbevelingen fluorescentiemicroscop

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

Fluorofoor	Excitatie _{max} [nm]	Emissie _{max} [nm]
Blauw	418	467
Groen	495	521
Rood	596	615

Zorg ervoor dat de juiste excitatie- en emissiefilters de bovenstaande golflengtes beslaan op de microscoop worden aangebracht.

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 automatische fluorescentie. Vermijd het mengen van DAPI Antifade met microscopimmersie-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 met Carnoy's oplossing (3:1 methanol/azijnzuur) met gefixeerde hematologisch verkregen celsuspensies van patiënten die vermoedelijk acute myeloïde leukemie (AML) of myelodysplastische neoplasmen (MDS) hebben of daarmee zijn gediagnosticeerd, geprepareerd volgens de richtlijn van het laboratorium of de instelling. Bereid aan de lucht gedroogde monsters voor op objectglaasjes volgens standaard cytogenetische procedures. De AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* bevat aanbevelingen voor het verzamelen, kweken en afnemen van monsters en voor het maken van objectglaasjes⁴.

Oplossingsvoorbereiding

Ethanoloplossingen

Verdun 100% ethanol met gezuiverd water volgens de volgende verhoudingen en meng grondig:

- 70% ethanol – 7 delen 100% ethanol op 3 delen gezuiverd water
 - 85% ethanol – 8,5 delen 100% ethanol op 1,5 delen gezuiverd water
- Bewaar de oplossingen maximaal 6 maanden op kamertemperatuur in een luchtdichte container.

2xSSC-oplossing

Verdun 1 deel 20xSSC-oplossing met 9 delen gezuiverd water en meng dit grondig. Controleer de pH-waarde en breng deze indien nodig met NaOH of HCl naar pH 7,0. 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 indien nodig met NaOH of HCl naar pH 7,0. 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 grondig. Controleer de pH-waarde en breng deze indien nodig met NaOH of HCl naar pH 7,0. 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 objectglaasjes

- Plaats het celmonster op een glazen objectglaasje. Laat het opdrogen. (Optioneel, bij gebruik 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).
- Dompel het glaasje 2 minuten onder in 2xSSC op kamertemperatuur (KT) zonder het te bewegen.
- Droog in een ethanolserie (70%, 85% en 100%), elk gedurende 2 minuten, op KT.
- Laat het opdrogen.

Pre-denaturatie

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

Denaturatie

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

Hybridisatie

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

Post-hybridisatiespoelbeurten

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

18. Bekijk met een fluorescentiemicroscop (zie **Aanbevelingen fluorescentiemicroscop**).

Proceduraanbevelingen

- 1. Verhitten of verouderen van de glaasjes kan de signaalfluorescentie verminderen.
- 2. Hybridisatiecondities kunnen nadelig worden beïnvloed door het gebruik van reagentia die niet door Cytocell 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 te veel 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

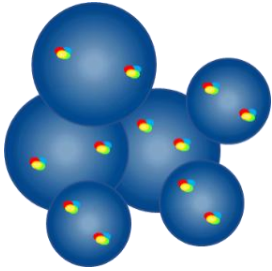
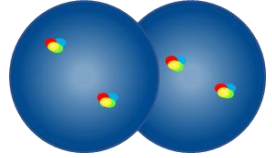
Glaasjeskwaliteit beoordelen

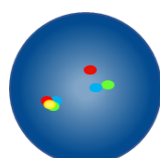
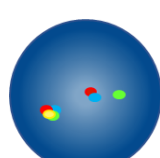
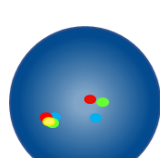
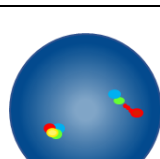
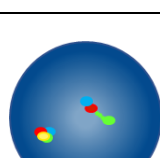
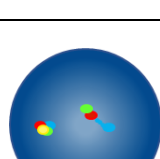
Het glaasje dient niet te worden geanalyseerd als:

- 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

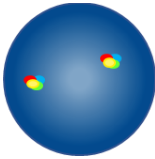
- Ieder monster dient door twee analisten te worden geanalyseerd en geïnterpreteerd. Eventuele verschillen moeten worden verholpen middels een beoordeling door een derde analist
- Iedere analist dient voldoende gekwalificeerd te zijn volgens de erkende nationale normen
- Iedere analist dient onafhankelijk 100 nucleï te scoren 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 nucleï die intact zijn en geen overlappende of opeengepakte nucleï of nucleï 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
- Als er bij het analyseren van breakapartsondes met drie kleuren een gat optreedt tussen de 3 signalen (rood, groen, blauw) dat niet groter is dan de breedte van 2 signalen, moet dit worden geteld als niet-herschikt/gefuseerd signaal
- 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 groene/blauwe signaal is minder dan twee sondebreedtes
	Tel als 2 fusiesignalen - het gat tussen het groene en rode/blauwe signaal is minder dan twee sondebreedtes
	Tel als 2 fusiesignalen - het gat tussen het blauwe en rode/groene signaal is minder dan twee sondebreedtes
	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

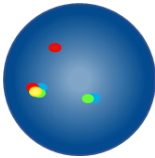
Verwachte resultaten

Verwacht normaal signaalpatroon

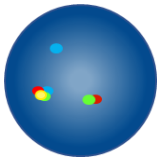


In een normale cel worden twee rood/groene/blauwe fusiesignalen verwacht (2RGB).

Verwachte abnormale signaalpatronen



In een cel met een t(3;3)(q21;26.2) of een t(3;v)(q26.2;v), met breekpunten distaal van de groene sonde, zal het verwachte signaalpatroon bestaan uit één rood/groen/blauw fusiesignaal, één groen/blauw fusiesignaal en één rood signaal (1RGB1GB1R).



In een cel met een inv(3)(q21q26.2) of een t(3;v)(q26.2;v), met breekpunten proximaal van de groene sonde, zal het verwachte signaalpatroon bestaan uit één rood/groen/blauw fusiesignaal, één rood/groene fusie en één blauw signaal (1RGB1RG1B).

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

Bekende relevante interferenties/interfererende substanties

Geen bekende relevante interferenties/interfererende substanties.

Geen bekende kruisreactiviteit.

Melden van ernstige incidenten

Voor een patiënten/gebruikers/derden in de Europese Unie en in landen met identieke regelgeving (Verordening (EU) 2017/746 betreffende medische hulpmiddelen voor *in-vitro*diagnostiek); als zich tijdens of als gevolg van het gebruik van dit hulpmiddel een ernstig incident heeft voorgedaan, dient u dit te melden aan de fabrikant en aan uw nationale bevoegde autoriteit. Ernstige incidenten in andere landen dient u te melden aan de fabrikant en, indien van toepassing, aan uw nationale bevoegde autoriteit. Contactpersoon van de fabrikant: vigilance@ogt.com Voor nationale bevoegde autoriteiten binnen de EU vindt u een lijst met meldpunten op: https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Specifieke prestatiekenmerken

Analytische specificiteit

Analytische specificiteit wordt gedefinieerd als het percentage signalen dat met de juiste locus hybridiseert en niet met andere locaties. Er zijn twee chromosomale loci van elke twintig metafasecellen van vijf monsters geanalyseerd, wat 200 gegevenspunten per component opleverde. De locatie van iedere gehybridiseerde sonde werd in kaart gebracht en het aantal metafase chromosomale FISH-signalen dat hybridiseerde met de juiste locus werd vastgelegd.

De analytische specificiteit van iedere sonde in de set werd berekend als het aantal metafase chromosomale FISH-signalen dat hybridiseerde met de juiste locus, gedeeld door het totale aantal metafase chromosomale FISH-signalen dat hybridiseerde. Dit resultaat werd met 100 vermenigvuldigd, uitgedrukt als percentage en gegeven met een 95%-betrouwbaarheidsinterval.

Tabel 1. Analytische specificiteit voor de EVI1 (MECOM) Breakapart Probe

Doel	Aantal gehybridiseerde metafase chromosomen	Aantal juist gehybridiseerde loci	Analytische specificiteit	95%-betrouwbaarheidsinterval
3q26.2	200	200	100%	98,12% - 100%
3q26.2	200	200	100%	98,12% - 100%
3q26.2	200	200	100%	98,12% - 100%

Analytische sensitiviteit

Analytische sensitiviteit is het percentage scorebare interfasecellen met het verwachte normale signaalpatroon. Er zijn minimaal 200 interfasecellen geanalyseerd voor elk van de 25 celsuspensies met gefixeerde beenmergcellen die negatief werden geacht voor een *MECOM*-herschikking, wat heeft geleid tot minimaal 5000 gescoorde nucleï voor elk monstertype. De sensitiviteitsgegevens zijn geanalyseerd aan de hand van het percentage cellen dat een normaal verwacht signaalpatroon liet zien en uitgedrukt als een percentage met een 95%-betrouwbaarheidsinterval.

Tabel 2. Analytische sensitiviteit voor de EVI1 (MECOM) Breakapart Probe

Monstertype	Sensitiviteitscriteria	Sensitiviteitsresultaat
Beenmerg	> 95%	99,14% (98,89%-99,39%)

Karakterisatie van normale drempelwaarden

De normale drempelwaarde wordt gedefinieerd als het percentage cellen dat een fout-positief signaalpatroon laat zien waarbij een individu als normaal zou worden beschouwd en niet consistent met een klinische diagnose. Er zijn minimaal 200 interfasecellen geanalyseerd voor elk van de 25 normale beenmergmonsters die negatief werden geacht voor een *MECOM*-herschikking, wat heeft geleid tot minimaal 5000 gescoorde nucleï voor elk monstertype.

De drempelwaarde werd bepaald aan de hand van de β -inverse (BETAINV) functie in MS Excel. De waarde werd berekend als het percentage interfasecellen dat een fout-positief signaalpatroon liet zien met behulp van de bovengrens van een eenzijdig 95%-betrouwbaarheidsinterval van de binomiale distributie bij een normaal patiëntmonster.

Tabel 3. Karakterisatie van normale drempelwaarden van de EVI1 (MECOM) Breakapart Probe

Monstertype	Drempelresultaat
Beenmerg	4%

Laboratoria moeten de drempelwaarden verifiëren aan de hand van hun eigen gegevens^{5,6}.

Reproduceerbaarheid

Er is reproduceerbaarheidsonderzoek uitgevoerd om het volgende vast te stellen:

- Reproduceerbaarheid op 3 locaties op dezelfde dag (tussen monsters)
- Reproduceerbaarheid op 3 locaties op een andere dag (tussen dagen)
- Reproduceerbaarheid op 3 locaties op een andere dag (tussen locaties)
- Reproduceerbaarheid op één locatie tussen partijen (tussen partijen)

Reproduceerbaarheid werd bepaald door 3 laboratoria die in totaal 12 blinde monsters hebben getest, 6 per signaalpatroon (2 negatief voor de herschikking, 2 laagpositieve monsters met 1 tot 3 maal de drempel en 2 hoogpositieve monsters met meer dan 45% van de cellen positief voor de herschikking). De analyse werd uitgevoerd met 2 replica's van ieder monster in de loop van 5 niet-openvolgende dagen.

Alle 3 de locaties hebben tests op dezelfde en een andere dag en op verschillende locaties uitgevoerd met dezelfde sondepartij. Eén van de locaties heeft ook reproduceerbaarheidtests tussen partijen uitgevoerd met 3 verschillende sondepartijen.

De resultaten werden gepresenteerd als de algehele overeenkomst met de voorspelde negatieve klasse (voor de negatieve monsters) en de voorspelde positieve klasse (voor de positieve monsters).

Tabel 4a. Reproduceerbaarheid en precisie voor de EVI1 (MECOM) Breakapart Probe – Inversiesignaalpatroon

Variabele	Monstertype	Overeenkomst
Reproduceerbaarheid op dezelfde dag (tussen monsters), op een andere dag (tussen dagen) en op verschillende locaties (tussen locaties)	Negatief beenmerg	100%
	Laag-positief beenmerg	63%
	Hoog-positief beenmerg	100%
Reproduceerbaarheid andere partij (tussen partijen)	Negatief beenmerg	92%
	Laag-positief beenmerg	67%
	Hoog-positief beenmerg	100%

Tabel 4b. Reproduceerbaarheid en precisie voor de EVI1 (MECOM) Breakapart Probe – Translocatiesignaalpatroon

Variabele	Monstertype	Overeenkomst
Reproduceerbaarheid op dezelfde dag (tussen monsters), op een andere dag (tussen dagen) en op verschillende locaties (tussen locaties)	Negatief beenmerg	100%
	Laag-positief beenmerg	98%
	Hoog-positief beenmerg	100%
Reproduceerbaarheid andere partij (tussen partijen)	Negatief beenmerg	100%
	Laag-positief beenmerg	100%
	Hoog-positief beenmerg	100%

Er werd een aanvullend reproduceerbaarheidsonderzoek uitgevoerd om de laagpositieve resultaten voor het inversiesignaalpatroon aan te vullen, waarbij 2 monsters met verschillende laagpositieve waarden (2x en 4x de drempelwaarde) en 1 negatief monster werd gebruikt om het volgende vast te stellen:

- Reproduceerbaarheid op één locatie op dezelfde dag (tussen monsters)
- Reproduceerbaarheid op één locatie op een andere dag (tussen dagen)
- Reproduceerbaarheid op één locatie met verschillende gebruikers (tussen gebruikers).

De reproduceerbaarheid werd vastgesteld met 1 partij sondes, geëvalueerd op 2 replica's van elk monster, getest op 5 niet-openvolgende dagen door 2 verschillende gebruikers.

De resultaten werden gepresenteerd als de algehele overeenkomst met de voorspelde positieve klasse (voor de positieve monsters).

Tabel 4c. Aanvullende ondersteunende gegevens voor reproduceerbaarheid en precisie van de EVI1 (MECOM) Breakapart Probe – Inversiesignaalpatroon

Variabele	Monstertype	Overeenkomst
Reproduceerbaarheid op dezelfde dag (tussen monsters), op een andere dag (tussen dagen) en met verschillende gebruikers (tussen gebruikers)	Laag-positief beenmerg (2x drempelwaarde)	100%
	Laag-positief beenmerg (4x drempelwaarde)	100%

Klinische prestaties

Om er zeker van te zijn dat het product de beoogde herschikkingen detecteert, zijn de klinische prestaties vastgesteld tijdens 3 onderzoeken van representatieve monsters van de beoogde populatie voor het product: Carnoy's oplossing (3:1 methanolazijnzuur gefixeerd hematologisch verkregen celsuspensies van patiënten die vermoedelijk acute myeloïde leukemie (AML) of myelodysplastische neoplasmen MDS) hebben of daarmee zijn gediagnosticeerd. De onderzoeken hadden een gecombineerde steekproefomvang van honderdachttien (118) monsters, met een doelpopulatie van zeven (7) translocatiepositieve en honderdelf (111) translocatienegatieve monsters en een gecombineerde steekproef van honderdnegentien (119) monsters met honderdelf (111) inversienegatieve en acht (8) inversiepositieve monsters. De resultaten zijn vergeleken met de bekende status van het monster. De concordantie/discordantie van de resultaten bleek te voldoen aan de aanvaardbaarheidscriteria voor dit onderzoek.

De resultaten van deze tests werden geanalyseerd om waarden voor klinische sensitiviteit, klinische specificiteit en het percentage fout-positieven (false positive rate, FPR) voor positieve signalen te verkrijgen met behulp van een eendimensionale aanpak.

Tabel 5. Klinische prestaties voor de EVI1 (MECOM) Breakapart Probe – Translocatie

Variabele	Resultaat
Klinische sensitiviteit (TPR [true positive rate; percentage terecht positieven])	99,94%
Klinische specificiteit (TNR [true negative rate; percentage terecht negatieven])	99,97%
Percentage fout-positieven (FPR) = 1 – Specificiteit	0,03%

Tabel 6. Klinische prestaties voor de EVI1 (MECOM) Breakapart Probe – Inversie.

Variabele	Resultaat
Klinische sensitiviteit (TPR [true positive rate; percentage terecht positieven])	96,26%
Klinische specificiteit (TNR [true negative rate; percentage terecht negatieven])	99,28%
Percentage fout-positieven (FPR) = 1 – Specificiteit	0,72%

Samenvatting van veiligheid en prestaties (SSP)

De SSP wordt via de Europese database voor medische apparatuur (Eudamed) openbaar gemaakt waar deze is gelinkt met de Basic UDI-DI.
URL Eudamed: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>
Basic UDI-DI: 50558449LPH036JL

Als Eudamed niet volledig functioneert, kan de SSP op verzoek openbaar toegankelijk worden gemaakt door een e-mail te sturen naar SSP@ogt.com.

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

- 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>
- Ottema et al. Atypical 3q26/MECOM rearrangements genocopy inv(3)/t(3;3) in acute myeloid leukemia. *Blood* (2020)136(2):224–234.
- Rack et al., Leukemia (2019) 33:1851–1867
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. *Genet Med*. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Dyke 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.

Verklaring van symbolen

EN ISO 15223-1:2021 – 'Medische hulpmiddelen – Symbolen voor het gebruik met informatievoorziening door de fabrikant – Deel 1: Algemene vereisten' (© Internationale Organisatie voor Standardisatie)		
Symbool	Titel	Referentienummer(s)
	nl: Fabrikant	5.1.1
	nl: Geautoriseerde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap/Europese Unie	5.1.2
	nl: Houdbaarheidsdatum	5.1.4
	nl: Partijnummer	5.1.5
	nl: Catalogusnummer	5.1.6
	nl: Buiten bereik van zonlicht bewaren	5.3.2
	nl: Temperatuurgrens	5.3.7
	nl: Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	5.4.3
 ogt.com/IFU	nl: Raadpleeg de elektronische gebruiksaanwijzing	5.4.3
	nl: Let op	5.4.4
	nl: Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek	5.5.1
	nl: Bevat voldoende voor <n> tests	5.5.5
	nl: Unieke hulpmiddelidentificatiecode	5.7.10
EDMA-symbolen voor IVD-reagentia en -componenten, revisie oktober 2009		
Symbool	Titel	Referentienummer(s)
	nl: Inhoud (of bevat)	N.v.t.

Patenten en handelsmerken

CytoCell is een geregistreerd handelsmerk van Cytocell Limited.

**Cytocell Limited**
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
VERENIGD KONINKRIJK

T: +44 (0)1223 294048
E: probes@cytocell.com
W: www.ogt.com

**Sysmex Europe SE**
Deelböge 19 D
22297 Hamburg
DUITSLAND

W: www.sysmex-europe.com

Versiegeschiedenis gebruiksaanwijzing
V001 2024-02-05: Nieuwe IFU voor EU Verordening 2017/746
V002 2025-08-29: Verwijdering van het UKCA-merk
V003 2025-09-09: Update van het adres van de EU-geautoriseerde vertegenwoordiger. Verwijdering van het telefoonnummer van de EU-geautoriseerde vertegenwoordiger. Verwijdering van het OGT-faxnummer