



A Sysmex Group Company



## Brugsanvisning

REF: LPH 036-S / LPH 036

## EVI1 (MECOM) Breakapart Probe



KUN TIL ERHVERVSMÆSSIG BRUG



www.cytocell.com

Yderligere information og andre sprog findes på [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

### Begrænsninger

Dette produkt er designet til at detektere rearrangementer med følsomhedsgrænser i den region, der afgrænses af de røde, grønne og blå kloner i dette probesæt, som inkluderer *EVI1* (*MECOM*)-regionen. Følsomhedsgrænser uden for denne region eller variante rearrangementer, som kun findes inde i denne region, kan muligvis ikke detekteres med dette produkt.

Testen er ikke beregnet til: brug som det eneste diagnostiske værktøj, prænatal test, populationsbaseret screening, test i nærheden af patienter eller selvtestning. Produktet er udelukkende beregnet til brug af faguddannet laboratoriepersonale; alle resultater skal fortolkes af tilstrækkeligt kvalificeret personale, og der skal tages hensyn til andre relevante testresultater.

Dette produkt er ikke valideret til brug til andre prøvetyper eller sygdomsformer ud over dem, der er specificeret under anvendelsesområdet.

Rapportering og fortolkning af FISH-resultater skal være i overensstemmelse med professionel standardpraksis og bør tage hensyn til andre kliniske og diagnostiske informationer. Dette kit er beregnet til brug som supplement til andre diagnostiske laboratorietests, og en behandling bør ikke indledes udelukkende på grundlag af FISH-resultatet.

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

Dette kit er ikke valideret til formål ud over, hvad der angives under anvendelsesområde.

### Anvendelsesområde

CytoCell *EVI1* (*MECOM*) Breakapart Probe er en kvalitativ, ikke-automatiseret fluorescens-*in situ*-hybridisering (FISH), der anvendes til at detektere kromosomale rearrangementer i 3q26.2-regionen på kromosom 3 ved brug af hæmatologisk-deriverede cellesuspensioner, der er fikseret i Carnoys opløsning (3:1 methanol/eddikesyre), fra patienter med bekræftet eller mistænkt akut myeloid leukæmi (AML) eller myelodysplastisk syndrom (MDS).

### Indikationer

Dette produkt er designet som et supplement til andre kliniske og histopatologiske tests i anerkendte diagnostiske og kliniske plejeforløb, hvor viden om status af *EVI1* (*MECOM*)-translokationer er vigtig for den kliniske håndtering.

### Testens principper

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

### Probeinformation

MECOM-onkogenet (*MDS1* og *EVI1* complex locus) ved 3q26.2 er ofte rearrangeret ved malign hæmatologisk sygdom med myeloid oprindelse.

MECOM koder for et zinkfingerprotein med uhensigtsmæssig ekspresion i leukæmiske celler hos mellem 2-5 % af AML- og MDS-patienter<sup>1</sup>. Denne deregulerede ekspresion skyldes ofte et kromosomt rearrangement, der involverer 3q26.2, og hvor de hyppigste aberrationer er t(3;3)(q21;q26.2) og inv(3)(q21q26.2)<sup>1</sup>. Følsomhedsgrænserne for translokationerne varierer betydeligt.

Inversions-følsomhedsgrænser findes i området, der er centromerisk til og i MECOM-genet, og dækker omkring 600 kb. Størstedelen af følsomhedsgrænserne i 3q26.2-translokationerne er telomerisk til MECOM-genet og dækker en region, der omfatter den telomeriske ende af *MDS1*-genet og *MYNN*-genet<sup>2</sup>.

Kromosomale rearrangementer, der involverer 3q26.2-regionen, associeres med myeloid malignitet, abnorm ekspresion af MECOM-genet, en ugunstig prognose og et aggressivt klinisk forløb<sup>2</sup>.

AML med inv(3)(q21q26.2) eller t(3;3)(q21;q26.2) udgør en anerkendt sygdomsform i henhold til WHO's (World Health Organization) klassificering af myeloide neoplasmer og akut leukæmi. Det drejer sig om transformeret eller de novo AML med et meget aggressivt klinisk forløb og aberrationer, som involverer MECOM ved 3q26.2 og RPN1 (ribophorin I) ved 3q21<sup>3</sup>.

Det er ligeledes vist, at MECOM er rearrangeret i behandlingsrelateret sygdom via t(3;21)(q26.2;q22)-translokationen, hvilket resulterer i en MECOM- RUNX1-fusion<sup>3,4</sup>.

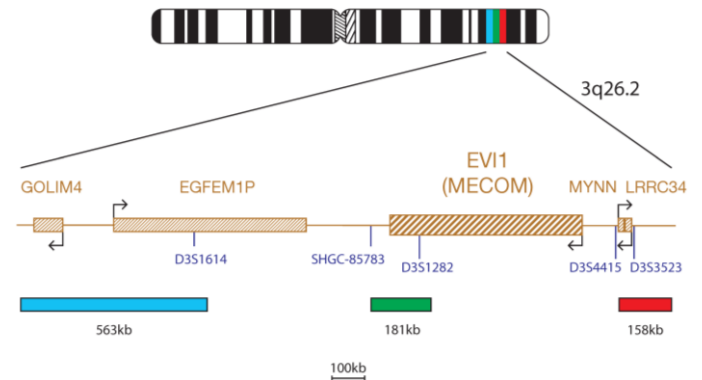
MECOM-rearrangementer er meget heterogene og kan være vanskelige at detektere ved konventionel cytogenetik, hvilket gør FISH til et nyttigt værktøj til detektion af dem.

### Probespecifikation

EVI1, 3q26.2, rød

EVI1, 3q26.2, grøn

EVI1, 3q26.2, blå



Den røde komponent af *EVI1*-probeblandingen består af en 158 kb-probe, der er telomerisk til D3S4415-markøren og omfatter *LRRC34*-genet. Den grønne komponent dækker en 181 kb-region, som omfatter den centromeriske del af *EVI1* (*MECOM*)-genet og ud over markør D3S1282. Den blå komponent dækker en 563 kb-region, der er centromerisk til *EVI1*-genet, som omfatter D3S1614-markøren.

### Medleveret materiale

**Probe:** 50 µl pr. hætteglas (5 tests) eller 100 µl pr. hætteglas (10 tests)

Probe leveres i en færdigblandet hybridiseringsopløsning (formamid, dextransulfat, salin-natriumcitrat (SSC)) og er klar til brug.

**Kontrastfarvning:** 150 µl pr. hætteglas (15 tests)

Kontrastfarvningen er DAPI-antifade-opløsning (ES: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-phenylindole)).

### Advarsler og forsigtighedsregler

1. Til brug til *in vitro*-diagnostik. Må kun anvendes af faguddannet personale.
2. Bær sikkerhedshandsker ved håndtering af DNA-prober og DAPI-kontrastfarvning.
3. Probeblandingen indeholder formamid, som er teratogent: undgå hudkontakt og at indånde dampe. Håndter med omtanke, bær handsker og laboratoriekittel.
4. DAPI er et potentielt karcinogen. Håndter med omtanke, bær handsker og laboratoriekittel.
5. Bortskaf alle farlige materialer i overensstemmelse med institutionens vejledninger om bortskaffelse af farligt materiale.
6. Brugere skal kunne skelne mellem farverne rød, blå og grøn.
7. Hvis den beskrevne protokol og de beskrevne reagenser ikke overholdes, kan det have indflydelse på funktionsevnen og føre til falsk positive/negative resultater.
8. Proben må ikke fortyndes eller blandes med andre prøber.
9. Hvis der ikke anvendes 10µl af proben under præ-denatureringen, som beskrevet i protokollen, kan det have indflydelse på funktionsevnen og føre til falsk positive/negative resultater.

### Opbevaring og håndtering

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



Proben forbliver stabil under fryse-optøningscyklusser i forbindelse med normal brug (hvor en cyklus omfatter probens udtagning fra og genindsætning i fryseren) og er fotostabil i op til 48 timer efter at være blevet eksponeret for vedvarende lys. Man skal bestræbe sig på at begrænse lyspåvirkning og temperaturforandringer.

### Nødvendigt udstyr og materialer, som ikke medleveres

Der skal anvendes kalibreret udstyr:

1. Varmeplade (med en fast plade og nøjagtig temperaturkontrol op til 80 °C)
2. Kalibrerede mikropipetter med variabel volumen og spidser fra 1 µL til 200 µL
3. Vandbad med nøjagtig temperaturkontrol ved 37 °C og 72 °C
4. Mikrocentrifugerør (0,5 ml)
5. Fluorescensmikroskop (jf. anbefalingerne i kapitlet om fluorescensmikroskopi)
6. Fasekontrast-mikroskop
7. Rene plastik, keramiske eller varmeresistente Coplin-glas
8. Tænger
9. Kalibreret pH-Meter (eller pH-indikatorstrips, der kan måle pH 6,5-8,0)
10. Befugtningsbeholder
11. Immersionsolie til fluorescensmikroskoplinser
12. Bordcentrifuge
13. Mikroskopobjektglas
14. Dækglass på 24x24 mm
15. Timer
16. Inkubator på 37 °C
17. Gummiopløsning (til forsegling af objektglas)
18. Vortex-blander
19. Måleglas
20. Magnetomrører
21. Kalibreret termometer

### Ekstraudstyr, der ikke medleveres

1. Cytogenetisk tørrekammer

### Nødvendige reagenser, der ikke medleveres

1. 20x saltvand-natriumcitrat-(SSC)-opløsning
2. 100 % ethanol
3. Tween-20
4. 1M natriumhydroxid (NaOH)
5. 1M saltsyre (HCl)
6. Renset vand

### Anbefalinger til fluorescensmikroskopi

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

Fluorforer	Excitation <sub>maks.</sub> [nm]	Emission <sub>maks.</sub> [nm]
Aqua	418	467
Grøn	495	521
Rød	596	615

Sørg for, at mikroskopet har passende excitation- og emissionsfiltre, som dækker de ovenfor nævnte bølgelængder. Benyt et tredobbelt båndpasfilter DAPI/grøn, spektrum/rød eller et dobbelt båndpasfilter grønt spektrum/rødt spektrum for at opnå optimal simultan visualisering af grønne og røde fluorforer. Brug et enkelt båndpasfilter aqua-spektrum til optimal visualisering af aqua-spektret eller et tredobbelt båndpasfilter rødt spektrum/grønt spektrum/aqua spektrum til simultan visualisering af grønne, røde og aqua fluorforer.

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

### Prøveklargøring

Kittet er designet til brug på hæmatologisk-deriverede cellesuspensioner, der er fikseret i Carnoys opløsning (3:1 methanol/eddikesyre), som er klargjort i henhold til laboratoriens eller institutionens vejledninger. Præparer lufttørrede prøver på mikroskopobjektglas i henhold til cytotogenetiske standardprocedurer. AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* indeholder anbefalinger angående prøveindsamling, dyrkning, høst og præparering af objektglas<sup>5</sup>.

### Klargøring af opløsning

#### Ethanolopløsninger

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

- 70 % ethanol – 7 dele 100 % ethanol til 3 dele rensset vand
  - 85 % ethanol – 8,5 dele 100 % ethanol til 1,5 dele rensset vand
- Opløsningerne kan opbevares i op til 6 måneder ved rumtemperatur i en lufttæt beholder.

#### 2xSSC-opløsning

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

#### 0,4xSSC-opløsning

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

#### 2xSSC; 0,05 % Tween-20-opløsning

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

#### FISH-protokol

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

#### Forberedelse af objektglas

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

#### Præ-denaturering

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

#### Denaturering

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

#### Hybridisering

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

#### Vask efter hybridisering

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

#### Holdbarheden af de færdige objektglas

Færdige objektglas kan analyseres i op til 1 måned, hvis de opbevares mørkt ved/eller under RT.

#### Anbefalinger til proceduren

1. Det kan nedsætte signalfluorescensen, hvis objektglassene får for meget varme eller er gamle
2. Hybridiseringsbetingelserne kan påvirkes negativt, hvis der bruges andre reagenser end dem, der anbefales eller leveres af Cytocell Ltd
3. Der skal anvendes et kalibreret termometer til at måle temperaturerne i opløsninger, vandbade og inkubatorer, da disse temperaturer er vigtige for at opnå bedst mulige resultater.
4. Stringens ved vaskekonzentrationerne, pH og temperaturerne er vigtig, da for lav stringens kan føre til ikke-specifik binding af proben, og for høj stringens kan føre til tab af signaler
5. Ikke-komplet denaturering kan føre til tab af signaler, og for høj denaturering kan også føre til ikke-specifik binding
6. Overhybridisering kan føre til yderligere eller uventede signaler
7. Brugere bør optimere protokollen til egne prøver, før testen bruges til diagnostiske formål
8. Suboptimale betingelser kan føre til ikke-specifik binding, som kan mistolkes som et probesignal

#### Fortolkning af resultater

##### Vurdering af objektglaskvaliteten

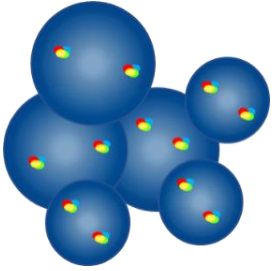
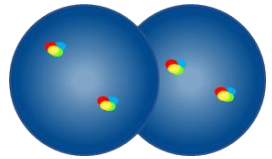
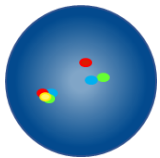
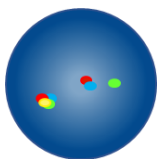
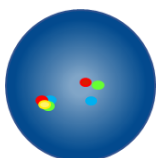
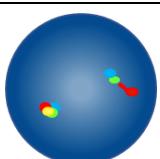
Objektglasset bør ikke analyseres, hvis:

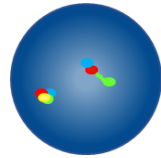
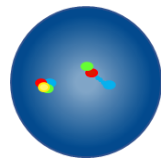
- Signalerne er for svage til, at de enkelte filtre kan analyseres – for at fortsætte med en analyse skal signalerne være lyse, klare og nemme at vurdere
- Der er et højt antal af klumpende/overlappende celler, som slører analysen
- >50 % af cellerne ikke er hybridiseret

- Der er for mange fluorescenspartikler mellem cellerne og/eller en fluorescerende dis, der forstyrrer signalerne – optimale objektglas har en enten mørk eller sort og ren baggrund
- Cellekernernes omrids ikke kan skelnes og ikke er intakt

#### Analysevejledninger

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

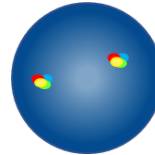
Analysevejledninger	
	Tæl ikke – cellekernerne er for tæt på hinanden til, at der kan bestemmes grænser
	Tæl ikke cellekerner, der overlapper hinanden – det er ikke alle områder af de to cellekerner, der er synlige
	Tæl som 2 fusionssignaler - hullet mellem det røde og det grøn/blå signal er mindre end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

	Tæl som 2 fusionssignaler - på fusionen øverst til højre er det grønne signal diffust
	Tæl som 2 fusionssignaler - på fusionen øverst til højre er det blå signal diffust

#### Forventede resultater

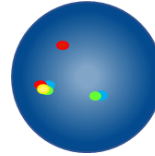
Tre-farve-strategien viser både tilstedeværelsen af en translokation eller en inversion og gør det muligt at skelne mellem hver enkelt type rearrangement.

#### Forventet normalt signalmønster

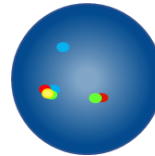


I en normal celle forventes der to røde/grønne/blå co-lokaliserede signaler (2RGB).

#### Forventede abnorme signalmønstre



I en celle med en t(3;nn)(q26.2;nn)-translokation vil det forventede signalmønster være en rød, en grøn/blå fusion og et rødt/grønt/blåt fusionssignal (1R, 1GB, 1RGB).



I en celle med en inv(3)(q21q26.2)-inversion vil det forventede signalmønster være en rød/grøn fusion, et separat blå signal og et rødt/grønt/blåt fusionssignal (1RG, 1B, 1RGB).

Andre signalmønstre er mulige i aneuploide/ubalancerede prøver.

#### Kendt krydsreaktion

Ingen kendt krydsreaktion.

#### Indberetning af utilsigtede hændelser

Hvis du mener, at dette udstyr ikke har virket korrekt eller er blevet forringet i dets ydelseskarakteristika, hvilket kan have bidraget til en utilsigtet hændelse (f.eks. forsinket eller falsk diagnose, forsinket eller uhensigtsmæssig behandling), skal producenten omgående informeres (**e-mail**: [vigilance@ogt.com](mailto:vigilance@ogt.com)).

Hvis relevant, skal hændelsen ligeledes indberettes til den nationale ansvarlige myndighed. En liste med vigilance-kontaktsteder kan findes på: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

#### Særlige ydelseskarakteristika

##### Analytisk specificitet

Analytisk specificitet er procentdelen af signaler, som kun hybridiserer til det korrekte locus og ingen anden lokalitet. Den analytiske specificitet blev etableret ved analyse af i alt 200 mål-loci. Den analytiske specificitet blev beregnet som antallet af FISH-signaler, som hybridiserer til det rette locus, delt med det samlede antal af hybridiserede FISH-signaler.

Tabel 1. Analytisk specificitet for EVI1 Breakapart Probe

Probe	Mål-locus	Antal af signaler, der er hybridiseret til det rette locus	Samlet antal af signaler, der er hybridiseret	Specificitet (%)
Rød EVI1	3q26	200	200	100
Grøn EVI1	3q26	200	200	100
Blå EVI1	3q26	200	200	100

#### Analytisk sensitivitet

Analytisk sensitivitet er procentdelen af de interfaseceller, der kan tælles med det forventede normale signalmønster. Den analytiske sensitivitet blev etableret ved at analysere interfaseceller på tværs af forskellige normale prøver. Sensitiviteten blev beregnet som procentdelen af talte celler med det forventede signalmønster (med et 95 % konfidensinterval).

Tabel 2. Analytisk sensitivitet for EVI1 Breakapart Probe

Antal celler med forventede signalmønstre	Antal celler med signaler, der kan tælles	Sensitivitet (%)	95 % konfidensinterval
4.957	5.000	99,14	98,84-99,36

#### Karakterisering af normale cut-off-værdier

Den normale cut-off-værdi i forbindelse med FISH-prober er den maksimale procentdel af interfaseceller, der kan tælles med et specifikt abnormt signalmønster, hvorved en prøve anses for at være normal for dette signalmønster.

Den normale cut-off-værdi blev etableret med prøver, der var negative over for det rearrangement, som proben er beregnet til at detektere, og beta-inversfunktionen. For hver prøve blev der registreret signalmønstre for 100 interfasekerner af to uafhængige brugere, i alt 200 pr. prøve.

Tabel 3. Karakterisering af normale cut-off-værdier for EVI1 Breakapart Probe

Abnormt signalmønster	Antal analyserede prøver til at generere cut-off	Antal evaluerede cellekerner pr. prøve	Maks. antal af falsk positive signalmønstre	Normal cut-off-værdi (%)
1R, 1GB, 1RGB	25	200	3	4
1RG, 1B, 1RGB	25	200	3	4

Laboratorier skal verificere cut-off-værdier ved at bruge deres egne data<sup>6,7</sup>.

#### Reproducerbarhed

Reproducerbarhed blev etableret af tre individuelle laboratorier, som testede seks blandede prøver (to negative for rearrangementet, to lavt positive prøver, som var 1 til 3 gange cut-off, og to højt positive prøver, som indeholdt mere end 45 % positive celler for rearrangementet). Analysen blev gennemført med to replikater af hver prøve over et forløb på fem ikke på hinanden følgende dage.

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

Reproducerbarheden blev beregnet ved brug af overensstemmelsen mellem variable, der blev undersøgt ved hver test.

Tabel 4. Reproducerbarhed og præcision af EVI1 Breakapart Probe

Signal	Reproducerbarhedsstudie	Prøve	Overensstemmelse (%)
Inversion (1RG, 1B, 1RGB)	Intra-dag / inter-dag / inter-laboratorium	Negativ	100
		Højt positiv	100
	Inter-lot	Negativ	92
		Højt positiv	100
Translokation (1R, 1GB, 1RGB)	Intra-dag / inter-dag / inter-laboratorium	Negativ	100
		Højt positiv	100
	Inter-lot	Negativ	100
		Højt positiv	100

#### Klinisk ydeevne

Den kliniske ydeevne blev etableret ved brug af et repræsentativt sæt af uselektede patienter, henvist med AML eller MDS, hvor 100 prøver blev indsamlet fra laboratoriet. Incidentrater af rearrangementerne, der blev detekteret af proben, blev sammenlignet med dem, der blev indhentet ved gennemsyn af litteraturkilder.

For at muliggøre denne sammenligning blev konfidensintervallet, indikeret i litteraturen i en populationsstørrelse på 100 prøver, beregnet med computer 1 - prøveproportionstest med kontinuitetskorrektur.

Tabel 5. Klinisk ydeevne for EVI1 Breakapart Probe

Rearrangement	Prævalens			
	Litteraturgennemgang (%)	95 % LCI (%)	Klinisk studie (%)	95 % UCL (%)
AML med inv(3)/t(3;3)/MECOM-rearrangementer	1,3	0,1	4	6,7
MDS med MECOM-rearrangementer	0,4	0		5,3










#### Yderligere information

Kontakt CytoCells afdeling for teknisk support, hvis du ønsker yderligere produktinformationer.  
 T: +44 (0)1223 294048  
 E: techsupport@cytoCELL.com  
 W: www.ogt.com

#### Referencer

- 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, 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 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.

#### Symbolvejledning

REF	da: Katalognummer
	da: Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik
	da: Batchkode
	da: Se brugsanvisningen
	da: Producent
	da: Sidste anvendelsesdato
	da: Temperaturgrænse
	da: Holdes væk fra sollys
	da: Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests
	da: Indhold

#### Patenter og varemærker

CytoCell er et registreret varemærke tilhørende CytoCELL Ltd.



**Cytocell Ltd.**  
 Oxford Gene Technology,  
 418 Cambridge Science  
 Park, Milton Road,  
 Cambridge, CB4 0PZ, Storbritannien  
 T: +44(0)1223 294048  
 F: +44(0)1223 294986  
 E: [probes@cytoCELL.com](mailto:probes@cytoCELL.com)  
 W: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)