



A Sysmex Group Company



Brugsanvisning

REF: CE-LPH 022-S / CE-LPH 022

CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe



KUN TIL ERHVERVSMÆSSIG BRUG



Yderligere information og andre sprog findes på ogt.com/IFU

Tilsigtet formål

CytoCell® CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion probe er en kvalitativ, ikke-automatiseret FISH-test (fluorescerende *in situ*-hybridisering), der anvendes til at detektere kromosomale rearrangementer mellem 16p13.1-regionen på kromosom 16 og 16q22-regionen på kromosom 16 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).

Indikationer for brug

Denne enhed er designet som et supplement til andre kliniske og histopatologiske tests i anerkendte diagnostiske og kliniske plejeforløb, hvor viden om status af *CBFB::MYH11*-translokation er vigtig for den kliniske håndtering.

Begrænsninger

Dette produkt er designet til at detektere rearrangementer med følsomhedsgrenser i den region, der dækkes af de røde og de grønne kloner i dette probesæt, som omfatter *CBFB*- og *MYH11*-regionerne. Følsomhedsgrenser uden for denne region, eller variante rearrangementer, som kun findes inde i denne region, kan muligvis ikke detekteres med denne enhed.

Denne enhed er ikke beregnet til: brug som det eneste diagnostiske værktøj, brug som supplerende diagnostisk værktøj, prænatal test, populationsbaseret screening, test i nærheden af patienter eller selvtestning.

Denne enhed er ikke valideret til prøvetyper, sygdomstyper eller formål ud over dem, der er angivet i det tilsigtede formål.

Den er beregnet til brug som supplement til andre diagnostiske laboratorietests, og en behandling bør ikke indledes udelukkende på grundlag af FISH-resultatet.

Rapportering og fortolkning af FISH-resultater skal udføres af tilstrækkeligt kvalificeret personale, være i overensstemmelse med professionel standardpraksis og bør tage hensyn til andre relevante testresultater, kliniske og diagnostiske informationer.

Denne må kun anvendes af faguddannet laboratoriepersonale.

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

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.

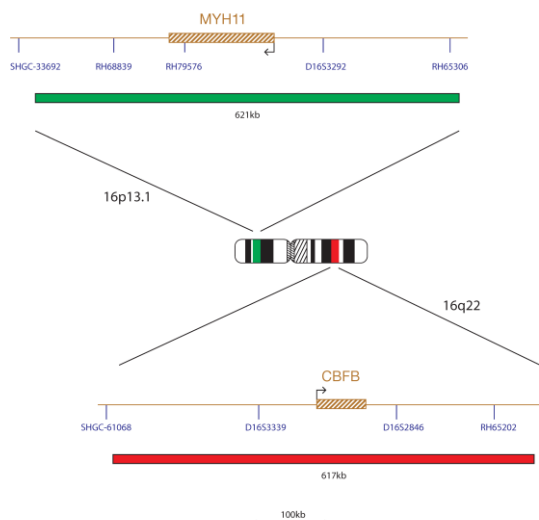
Probeinformation

CBFB-genet (corebinding factor subunit beta) befinder sig ved 16q22, *MYH11*-genet (myosin heavy chain 11) ved 16p13.1. Inversionen *inv(16)(p13.1q22)* og translokationen *t(16;16)(p13.1;q22)* danner *CBFB::MYH11*-fusionsgenet. Akut myeloid leukæmi med *CBFB::MYH11*-fusion er en anerkendt sygdomsenhed i henhold til WHO's klassificering¹. Denne AML-type omfatter 5-8 % af tilfældene hos unge voksne og falder i frekvens hos ældre voksne¹. *Inv(16)(p13.1q22)* er den mest almindelige cytogenetiske ændring, som detekteres hos ca. 95 % af *CBFB::MYH11*-patienter¹. Prognosen for AML med *CBFB::MYH11* er gunstig og har langsigtede overlevelsesser på ca. 50 % hos voksne^{1,2}.

Probespecifikation

CBFB, 16q22, rød
MYH11, 16p13.1, grøn

CMP-H077 v005.00



CBFB-proben, der er mærket med rødt, dækker en 617kb-region i 16q22 og omfatter *CBFB*-genet. MYH11-proben, der er mærket med grønt, dækker en 621kb-region inde i 16p13.1 og omfatter *MYH11*-genet.

Medleveret materiale

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

Proberne leveres i en færdigblandet hybridiserings-opløsning (<65 % formamid, <20 mg dextransulfat, <10 % 20x saline-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-fenylindole) i glycerol-baseret monteringsmedie).

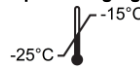
Advarsler og forsigtighedsregler

1. Til brug til *in vitro*-diagnostik. Må kun anvendes af faguddannet laboratoriepersonale.
2. Probe-blandinger indeholder formamid, som er teratogent: undgå hudkontakt og at indånde dampe. Håndter med omtanke, bær handsker og laboratoriekittel.
3. Håndter DAPI med omtanke, bær handsker og laboratoriekittel.
4. Må ikke anvendes, hvis hætteglasset/glassene er beskadiget, eller deres indhold er kompromitteret på nogen måde.
5. Følg lokale bortskaffelsesregler for din lokalitet samt anbefalingerne i sikkerhedsdatabladet for at bestemme sikker bortskaffelse af dette produkt. Dette gælder også for indholdet af beskadigede testkits.
6. Bortskaf alle brugte reagenser og alle andre kontaminerede engangsmaterialer ved at følge procedureerne for infektiøst eller potentielt infektiøst affald. Det er det enkelte laboratoriums ansvar at håndtere fast og flydende affald i henhold til dets art og grad af farlighed og behandle og bortskaffe det (eller få det behandlet og bortskaffet) i overensstemmelse med gældende regler.
7. Brugerne skal kunne skelne mellem farverne rød, blå og grøn.
8. Hvis den beskrevne protokol og de beskrevne reagenser ikke overholdes, kan det have indflydelse på funktionsevnen og føre til falsk positive/negative resultater.
9. Proben må ikke fortyndes eller blandes med andre prober.
10. Hvis der ikke anvendes 10 µL af proben under præ-denatureringen, som beskrevet i protokollen, kan det have indflydelse på funktionsevnen og føre til falsk positive/negative resultater.
11. Alle produkter bør valideres før brug.
12. Der bør udføres interne kontroller ved brug af upåvirkede cellepopulationer i testprøver.

Temperaturdefinitioner

- -20 °C/frossen/i fryseren: -25 °C til -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Rumtemperatur (RT): +15 °C til +25 °C

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.

 FISH-proben, DAPI Antifade ES-kontrastfarvning og Hybridisation Solution forbliver stabil under fryse-oplysningscyklusser i forbindelse med normal brug (hvor en cyklus omfatter hætteglassets udtagning fra og genindsætning i fryseren) – 5 cyklusser for 50 µL (5 tests) hætteglas med FISH-probe, 10 cyklusser for 100 µL (10 tests) hætteglas med FISH-probe og 15 cyklusser for 150 µL (15 tests) hætteglas med kontrastvæske. Udsættelse for lys bør minimeres og undgås, hvor det er muligt. Opbevar komponenter i den medfølgende lysbestandige beholder. Komponent, som anvendes og opbevares under andre forhold end dem, der er angivet på mærkningen, fungerer muligvis ikke som forventet og kan påvirke analyseresultaterne negativt. 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. kapitlet Anbefalinger til 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. Mikroskop-objektglas
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

Optionalt udstyr, 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 kviksløv-lampe eller tilsvarende og olie-immersions-apochromat-objektiver, plan, 60/63x eller 100x for at opnå optimal visualisering. De fluoroforer, der benyttes i denne probe, vil excitere og udsende lys ved følgende bølgelængder:

Fluoroforer	Excitation _{maks.} [nm]	Emission _{maks.} [nm]
DAPI	364	454
Aqua	418	467
Grøn	495	521
Rød	596	615
Guldfarvet	539	561
Orange	551	572

Sørg for, at mikroskopet har passende excitations- 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 fluoroforer.

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 filternes alder.

Prøveklargøring

Kittet er designet til brug på hæmatologisk-deriverede cellesuspensioner fikseret i Carnoy's opløsning (3:1 methanol/eddikesyre) fra patienter med bekræftet eller mistænkt akut lymfatisk leukæmi (AML), som er klargjort i henhold til laboratoriets eller institutionens vejledninger. Præparer lufttørrede prøver på mikroskop-objektglas i henhold til cytogetiske standardprocedurer. AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* indeholder anbefalinger angående prøveindsamling, dyrkning, høst og præparering af objektglas³.

Klargøring af opløsning

Ethanolopløsninger

Fortynd 100 % ethanol med rensat vand ved at anvende følgende blandingsforhold, og bland omhyggeligt:

- 70 % ethanol – 7 dele 100 % ethanol til 3 dele rensat vand
- 85 % ethanol – 8,5 dele 100 % ethanol til 1,5 dele rensat 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 rensat 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 rensat 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 rensat 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 objektglas. Lad det tørre. (**Valgfrit, hvis der anvendes et cytogetisk tørrekammer:** Tørrekammeret bør anvendes ved cirka 25 °C og 50 % luftfugtighed for at få optimale celleprøver. Hvis der ikke er et cytogetisk tørrekammer til rådighed, kan der alternativt anvendes et stinkskaab).
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 opná RT. 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 opná RT.
13. Fjern omhyggeligt dækglasset og alle spor af lim.
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 (se **Anbefalinger til fluorescensmikroskopi**).

Anbefalinger til proceduren

1. Det kan nedsætte signalflorescensen, 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.

- Stringens ved vaskekonzcentrationerne, 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.
- Ikke-komplet denaturering kan føre til tab af signaler, og for høj denaturering kan også føre til ikke-specifik binding.
- Overhybridisering kan føre til yderligere eller uforventede signaler.
- Brugere bør optimere protokollen til egne prøver, før testen bruges til diagnostiske formål.
- Suboptimale betingelser kan føre til ikke-specifik binding, som kan mistolkes som et probesignal.

Fortolkning af resultater

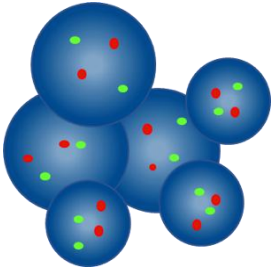
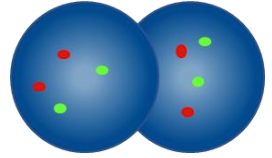
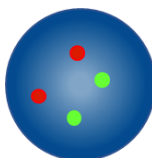
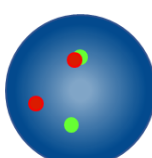
Vurdering af objektglaskvaliteten

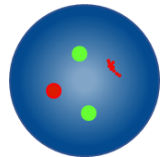
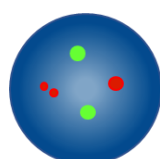
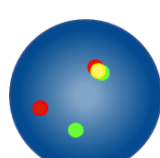
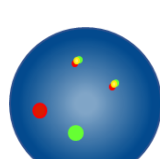
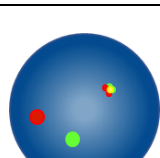
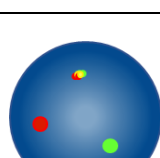
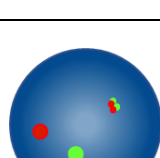
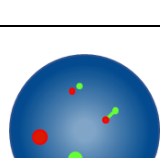
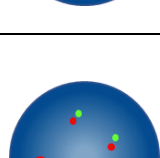
Objektglasset bør ikke analyseres, hvis:

- 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 er ikke 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

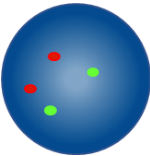
Analysevejledninger

- 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
- Brugerne 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 cytoplasmatisk 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
- 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
	Forventet normalt signalmønster (2R2G)
	Normalt signalmønster (2R2G) – et rødt og et grønt signal sidder sammen

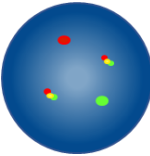
	Normalt signalmønster (2R2G) – et af de to røde signaler er diffust
	Normalt signalmønster (2R2G) – hullet i et rødt signal er mindre end to probebredder
	Normalt signalmønster (2R2G) – et rødt og et grønt signal sidder sammen
	Forventet abnormt signalmønster (1R1G2F) – røde og grønne fusionssignaler er proportionelt mindre
	Forventet abnormt signalmønster (1R1G2F) – fusionssignaler sidder sammen
	Forventet abnormt signalmønster (1R1G2F) – fusionssignaler sidder sammen
	Forventet abnormt signalmønster (1R1G2F) – to fusionssignaler ved siden af hinanden
	Tæl som et rødt, et grønt og to fusionssignaler - et fusionssignal er diffust
	Tæl som et rødt signal, et grønt signal og to fusionssignaler - hullet mellem det røde og det grønne signal i fusionen er mindre end to probebredder, og de grønne og røde fusionssignaler er proportionelt mindre

Forventede resultater
Forventet normalt signalmønster



I en normal celle forventes der to røde og to grønne signaler (2R2G)

Forventede abnorme signalmønstre



I en celle med inv(16)(p13.1;q22) eller t(16;16)(p13.1;q22) vil det forventede signalmønster være et rødt, et grønt og to fusioner (1R1G2F).

Andre signalmønstre er mulige i aneuploide/ubalancerede prøver.

Kendte relevante interferencer/interfererende stoffer
Ingen kendte relevante interferencer/interfererende stoffer.

Kendt krydsreaktivitet
Ingen kendt krydsreaktivitet.

Indberetning af alvorlige hændelser
For patienter/brugere/tredjeparter i EU og lande med identisk reguleringsordning (forordning (EU) 2017/746 om *in vitro*-diagnostisk medicinsk udstyr) gælder det, at hvis der er opstået en alvorlig hændelse under brugen af denne enhed eller som følge af dens brug, skal det rapporteres til producenten og til den nationale kompetente myndighed.
Alvorlige hændelser i andre lande skal rapporteres til producenten og, hvis det er relevant, til den nationale kompetente myndighed.
Producentens vigilance-kontakt: vigilance@ogt.com
En liste med vigilance-kontaktsteder for nationale kompetente myndigheder i EU kan findes på:
https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Særlige ydelseskarakteristika
Analytisk specificitet
Analytisk specificitet er defineret som procentdelen af signaler, som kun hybridiserer til det korrekte locus og ingen anden lokalitet. Der blev analyseret to kromosomale loci i hver af tyve metafaseceller fra fem prøver, hvilket gav 200 data points. Lokationen for hver hybridiseret probe blev kortlagt, og antallet af FISH metafasekromosomsignaler, som hybridiseredes til det korrekte locus, blev registreret.

Den analytiske specificitet af hvert produkt blev beregnet som antallet af FISH-metafasekromosomsignaler, som hybridiseredes til det rette locus, delt med det samlede antal af hybridiserede FISH-metafasekromosomsignaler, og dette resultat blev multipliceret med 100, udtrykt som procentdel og givet med et konfidensinterval på 95 %.

Tabel 1. Analytisk specificitet for CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Mål	Antal hybridiserede metafase-kromosomer	Antal korrekt hybridiserede loci	Analytisk specificitet	95 % konfidens-interval
16q22	200	200	100 %	98,12 %–100 %
16p13.1	200	200	100 %	98,12 %–100 %

Analytisk sensitivitet
Analytisk sensitivitet er procentdelen af de interfaseceller, der kan tælles med det forventede normale signalmønster. Der blev analyseret mindst 200 interfaseceller for hver af 25 knoglemarvsprøver, hvilket resulterede i minimum 5.000 kerner i en score for hver prøvetype. Følsomhedsdata blev analyseret på grundlag af procentdelen af celler, der viste et normalt, forventet signalmønster, og blev udtrykt som en procentdel med et 95 % konfidensinterval.

Tabel 2. Analytisk sensitivitet for CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Prøvetype	Sensitivitetskriterier	Sensitivitetsresultater
Knoglemarv	>95 %	98,94 % (98,59 %–99,29 %)

Karakterisering af normale cut-off-værdier
Normalt cut-off er defineret som procentdelen af celler, der udviser et falskt-positivt signalmønster, der fører til, at det hos en person ville blive betragtet som normalt og ikke svarer til en klinisk diagnose. Der blev analyseret mindst 200 interfaseceller for hver af 1.300 knoglemarvsprøver hvilket resulterede i minimum 260.000 kerner i en score for hver prøvetype.

Cut-off-værdien blev bestemt ved brug af β-inverse-funktionen (BETAINV) i MS Excel. Den blev beregnet som procentdelen af interfaseceller, der viste et falskt-positivt signalmønster ved brug af den øvre grænse af et en-sidet 95 % konfidensinterval af den binomiale fordeling i en normal patientprøve.

Tabel 3. Karakterisering af normale cut-off-værdier for CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Prøvetype	Cut-off-resultat
Knoglemarv	2,3 %

Laboratorier skal verificere cut-off-værdier ved at bruge deres egne data^{4,5}.

Reproducerbarhed
Reproducerbarhedsstudier blev udført for at fastslå:

- Intra-dag reproducerbarhed (prøve-til-prøve) på 3 laboratorier
- Inter-dag reproducerbarhed (dag-til-dag) på 3 laboratorier
- Inter-laboratorium reproducerbarhed (laboratorium til laboratorium) på 3 laboratorier
- Inter-lot reproducerbarhed (lot-til-lot) på en enkelt laboratorium

Reproducerbarhed blev etableret af tre individuelle laboratorier, som testede seks blinde 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.

Resultaterne blev præsenteret som samlet overensstemmelse med den forudsagte negative klasse (for de negative prøver) og den forudsagte positive klasse (for de positive prøver).

Tabel 4a. Reproducerbarhed og præcision af CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variabel	Prøvetype	Overensstemmelse
Intra-dag (prøve til prøve)-, inter-dag- (dag til dag) og inter-laboratorium-reproducerbarhed (laboratorium til laboratorium)	Knoglemarv negativ	100 %
	Knoglemarv lavt positiv	35 %
	Knoglemarv højt positiv	100 %
Lot til lot-reproducerbarhed	Knoglemarv negativ	100 %
	Knoglemarv lavt positiv	33 %
	Knoglemarv højt positiv	100 %

Der blev udført et ekstra reproducerbarhedsforsøg for at supplere de lavt positive resultater ved hjælp af to prøver med forskellige lavt positive resultater (2x og 4x cut-off-værdi) og to negative prøver med henblik på at fastslå:

- Intra-dag-reproducerbarhed (prøve til prøve) på ét laboratorium
- Inter-dag-reproducerbarhed (dag til dag) på ét laboratorium
- Inter-bruger-reproducerbarhed (lot til lot) på ét laboratorium

Reproducerbarheden blev fastlagt ved hjælp af ét probelot og evalueret på to replikater pr. prøve, der blev analyseret over fem ikke-sammenhængende dage af to forskellige brugere.

Resultaterne blev præsenteret som samlet overensstemmelse med den forudsagte positive klasse (for de positive prøver).

Tabel 4b. Yderligere understøttende data om reproducerbarhed og præcision af CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variabel	Prøvetype	Overensstemmelse
Intra-dag (prøve til prøve)-, inter-dag- (dag til dag) og inter-bruger-reproducerbarhed (bruger til bruger)	Knoglemarv lavt positiv (2x cut-off)	100 %
	Knoglemarv lavt positiv (4x cut-off)	100 %

Klinisk ydeevne
For at sikre, at CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe detekterer de påtænkte rearrangementer, blev den kliniske ydeevne fastslået ved fire (4) undersøgelser af repræsentative prøver fra den påtænkte population for produktet: restmateriale fikseret med 3:1 methanol/eddikesyre. Disse undersøgelser havde et samlet prøveantal på tre hundrede og treoghalvfems (393), hvoraf otteogtyve (28) var positive og tre hundrede og femogtres (365) var negative. Resultaterne blev derefter sammenlignet med den kendte status for prøven. Overensstemmelsen/diskordansen af resultater blev fundet at opfylde DS555/CE-da v002/2025-08-29 (H077 v5)

acceptkriterierne for denne undersøgelse. Resultatet af disse tests blev analyseret for at se klinisk følsomhed, klinisk specificitet og værdier for falsk-positiv-raten (FPR) af positive signaler ved brug af en endimensional fremgangsmåde.

Tabel 5. Klinisk ydeevne for CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variabel	Resultat
Klinisk sensitivitet (sand positiv rate, TPR (True Positive rate)) *	98,76 %
Klinisk specificitet (sand negativ rate, TNR (True Negative Rate))*	99,52 %
Falsk positiv rate, FPR (False Positive rate) = 1 – Specificitet*	0,48 %

Sammenfatning af sikkerhed og ydeevne (SSP)

SSP'et skal gøres tilgængeligt for offentligheden via den europæiske database over medicinsk udstyr (Eudamed), hvor det knyttes til Basic UDI-DI'et. Eudamed-URL: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> Basic UDI-DI: 50558449LPH022J9

Hvis Eudamed ikke er fuldt funktionelt, skal SSP'et gøres tilgængeligt for offentligheden på anmodning ved at sende en e-mail til SSP@ogt.com.

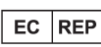
Yderligere information

Kontakt CytoCell Technical Support Department, hvis du ønsker yderligere produktinformationer.
T: +44 (0)1223 294048
E: techsupport@cytocell.com
W: www.ogt.com

Referencer

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 Nov 03]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
2. Döhner, et al. Blood. 2022;140(122):1345-1377.
3. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
4. 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.
5. 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.

Symbolordliste

EN ISO 15223-1:2021 – "Medicinsk udstyr – symboler, der skal bruges sammen med oplysninger fra producenten – del 1: Generelle krav" (© International Organization for Standardization)		
Symbol	Titel	Referencenummer/-numre
	da: Producent	5.1.1
	da: Autoriseret repræsentant i De Europæiske Fællesskaber/EU	5.1.2
	da: Sidste anvendelsesdato	5.1.4
	da: Batch-kode	5.1.5
	da: Katalognummer	5.1.6
	da: Holdes væk fra sollys	5.3.2
	da: Temperaturgrænse	5.3.7
	da: Se brugsanvisningen	5.4.3
	da: Se den elektroniske udgave af brugsanvisningen	5.4.3
	da: Forsigtig	5.4.4
	da: Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik	5.5.1
	da: Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests	5.5.5
	da: Unik enhedsidentifikator	5.7.10
EDMA-symboler til IVD-reagenser og -komponenter, revision fra oktober 2009		
Symbol	Titel	Referencenummer/-numre
	da: Indhold (eller indeholder)	N/A

Patenter og varemærker

CytoCell er et registreret varemærke tilhørende Cytocell Limited.



CytoCell Limited
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
W: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Bornbarch 1
22848 Norderstedt
TYSKLAND

T: +49 40 527260
W: www.sysmex-europe.com

IFU-versionshistorik
V001 09-10-2023: Ny IFU til forordning (EU) 2017/746
V002 2025-08-29: Fjernelse af UKCA-mærket.