



A Sysmex Group Company



Brugsanvisning

REF: CE-LPH 026-S / CE-LPH 026

AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe



KUN TIL ERHVERVSMÆSSIG BRUG



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

Tilsigtet formål

CytoCell® AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe er en kvalitativ, ikke-automatiseret FISH-test (fluorescens *in situ* hybridisering), der anvendes til at detektere kromosomale rearrangementer mellem 21q22.1-regionen på kromosom 21 og 8q21.3-regionen på kromosom 8 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 AML1::ETO (RUNX1::RUNX1T1)-translokation er vigtig for den kliniske håndtering.

Begrænsninger

Denne enhed er designet til at detektere rearrangementer med følsomhedsgrænser i den region, der dækkes af de røde og de grønne kloner i dette probesæt, som omfatter AML1 og ETO (RUNX1 og RUNX1T1)-regionerne. Følsomhedsgrænser 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 enhed er udelukkende beregnet til brug 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.

Probe-information

RUNX1-genet (RUNX familiy transcription factor 1) ved 21q22.1 fusionerer med RUNX1T1-genet (RUNX1 partner transcriptional co-repressor 1) ved Ensembl-lokation 8q21.3, i t(8;21)(q21.3;q22.1)-translokationen og findes som regel hos patienter med akut myeloid leukæmi (AML) FAB (French-American-British classification) type M2.

AML med en RUNX1::RUNX1T1-fusion, der stammer fra en t(8;21)(q21.3;q22.1)-translokation, er en anerkendt sygdomsændring i henhold til WHO's (World Health Organization) klassificering af myeloid neoplasier og akut leukæmi¹. Translokationen ses hos 10-22 % af patienterne med AML FAB type M2 og 5-10 % af det samlede antal AML-tilfælde, mest almindeligt hos børn og unge voksne², og er en god indikator for prognosen^{3,4,5}. Følsomhedsgrænsen ved t(8;21) findes hovedsageligt i intronet mellem exon 5 og 6, lige før transaktiveringsdomænet, og dannet fusionsprotein indeholder DNA-bindingsdomænet af RUNX1, der er fusioneret med transkriptionsfaktoren RUNX1T1².

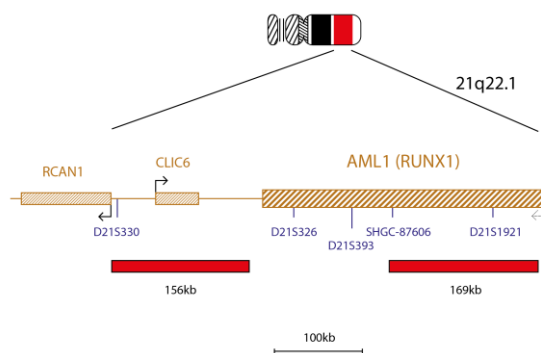
I tillæg til den reciproke t(8;21)-translokation, der danner RUNX1:: RUNX1T1-fusionen, er der også rapporteret variante translokationer. Disse variante rearrangementer kan være kryptiske og overses nemt ved G-banding; imidlertid kan FISH indikere tilstedeværelsen af sådanne rearrangementer².

Probe-specifikation

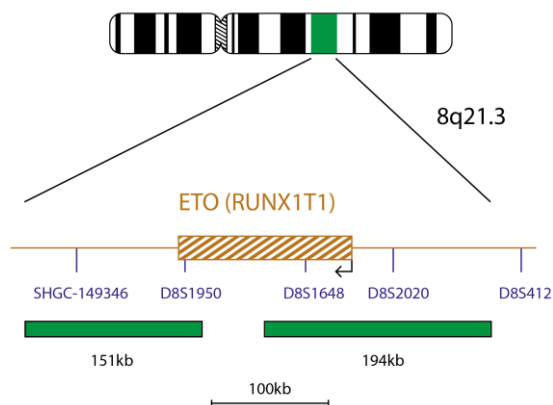
AML1, 21q22.1, rød

ETO, 8q21.3, grøn

CMP-H004 v006.00



CMP-H005 v005.00



AML1-komponenten består af en 156 kb-probe, der er mærket med rødt og er centromerisk til AML1 (RUNX1)-genet, som spænder over CLIC6-genet, og en 169 kb-probe, der dækker en del af AML1 (RUNX1)-genet, herunder markørerne SHGC-87606 og D21S1921. ETO (RUNX1T1)-komponenten, der er mærket med grønt, består af en 151 kb-probe, der dækker den centrometriske del af genet og den flankerende region, og en 194 kb-probe, der dækker den telomeriske del af genet og den flankerende region.

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 og < 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. Hånder med omtanke, bær handsker og laboratoriekittel.

DS546/CE-da v002.00/2025-08-29 (H004 v6 / H005 v5)

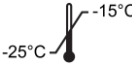
Side 1 af 5

- 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 prøber.
- 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. 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. Mikroskop-objektglas
- 14. Dækglas 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 tørrekabinet

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

Fluorforer	Excitation _{maks.} [nm]	Emission _{maks.} [nm]
Grøn	495	521
Rød	596	615

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 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 mikroskopi-immersionsolie, da det vil sløre signalerne. Følg producentens anbefaling angående lampens levetid og filtrenes alder.

Prøveklargøring

Kittet er designet til brug på hæmatologisk-deriverede cellesuspensioner fikseret i Carnoys 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 objektglas i henhold til cytogenetiske standardprocedurer. The AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* indeholder anbefalinger angående prøveindsamling, dyrkning, høst og præparering af objektglas⁶.

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 cytotenetisk tørrekabinet: Tørrekammeret bør anvendes ved cirka 25 °C og 50 % luftfugtighed for at få optimale celleprøver. Hvis der ikke er et cytotenetisk tørrekabinet 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 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 dækglas. Forsegl med gummiopløsning, 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 gummiopløsningen.
- 14. Nedsænk objektglasset i 0,4xSSC (pH 7,0) ved 72 °C (+/- 1 °C) i 2 minutter uden omrystning.

- Lad objektglasset tørre, og nedsænk det i 2xSSC, 0,05 % Tween-20 ved RT (pH 7,0) i 30 sekunder uden omrystning.
- Lad objektglasset tørre, og tilsæt 10 µl DAPI-antifade på hver prøve.
- Dæk med et dækglas, fjern alle eventuelle bobler, og lad farven udvikle sig i mørke i 10 minutter.
- Undersøg med et fluorescensmikroskop (jf. anbefalingerne i kapitlet om fluorescensmikroskopi).

Anbefalinger til proceduren

- Det kan nedsætte signalfluorescensen, hvis objektglassene får for meget varme eller er gamle.
- Hybridiseringsbetingelserne kan påvirkes negativt, hvis der bruges andre reagenser end dem, der anbefales eller leveres af Cytocell Ltd.
- 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 vaskekonzentrationerne, pH og temperaturerne er vigtigt, 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 uventede 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

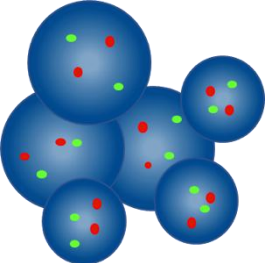
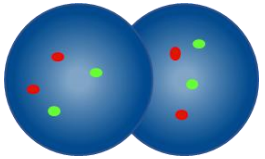
Vurdering af objektglaskvaliteten

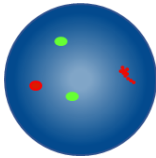
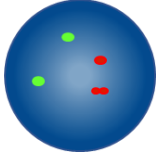
Objektglasset bør ikke analyseres, hvis:

- 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 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

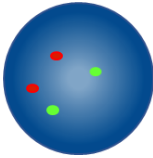
- Der skal altid være to brugere til at analysere og fortolke hver prøve. Enhver diskrepans skal afklares ved en vurdering fra en tredje bruger
- Hver bruger skal have passende faglige kvalifikationer i overensstemmelse med anerkendte nationale standarder
- Hver bruger bør uafhængigt bedømme 100 kerner for hver prøve. Den ene bruger starter analysen fra venstre side af objektglasset, og den anden bruger starter fra højre side
- 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

	Tæl som to røde signaler og to grønne signaler – et af de to røde signaler er diffust
	Tæl som to røde signaler og to grønne signaler – hullet i et rødt signal er mindre end to signalers bredde

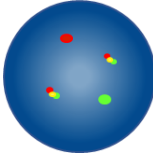
Forventede resultater

Forventet normalt signalmønster



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

Forventet abnormt signalmønster



I en celle med en t(8;21)(q21.3;q22.12)-translokation vil det forventede signalmønster være et rødt signal, et grønt signal og to fusioner (1R1G2F).

Andre signalmønstre er mulige i aneuploide/ubalancerede prøver.

Kendte relevante interferencer/interfererende stoffer

Ingen kendte relevante interferencer/interfererende stoffer.

Kendt krydsreaktion

Ingen kendt krydsreaktion.

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 procentdelen af signaler, som kun hybridiserer til det korrekte locus og ingen anden lokalitet. Den analytiske specificitet blev etableret ved analyse af i alt 400 mål-loci. Der blev analyseret to kromosomale loci i hver af 20 metafaseceller fra 5 prøver, hvilket gav 400 data points. 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.

Den analytiske specificitet af hver probe i kittet 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 AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe

Probe	Mål	Antal hybridisere de metafasekromosomer	Antal korrekt hybridisere de loci	Analytisk specificitet (%)	95 % konfidensinterval (%)
AML1, rød	21q22.1	200	200	100	98,12-100
ETO, grøn	8q21.3	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 knoglemarvscellesuspensioner fikseret i Carnoys opløsning, som blev vurderet karyotypisk normale, hvilket resulterede i minimum 5.000 kerner scoret 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 konfidensinterval på 95 %.

Tabel 2. Analytisk sensitivitet for AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe

Antal celler med forventede signalmønstre	Samlet antal celler med signaler, der kan tælles	Analytisk sensitivitet (%)	95 % konfidensinterval (%)
4965	5000	99,3	99,02, 99,58

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 prøven 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.

Cut-off-værdien blev bestemt ved brug af β -invers-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 konfidensinterval på 95 % af den binomiale fordeling i en normal patientprøve.

Tabel 3. Karakterisering af normale cut-off-værdier for AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion 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 (%)
1R1G2F	1290	200	1	2,3

Laboratorier skal verificere cut-off-værdier ved at bruge deres egne data^{7,8}.

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.

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

Tabel 4. Reproducerbarhed for AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe

Undersøgelse	Kriterier	Resultat
Intra-/inter-dag/inter-laboratorium	90 % overensstemmelse med negativ klasse	100 %
	95 % overensstemmelse med høj-positiv klasse	100 %
Inter-lot	90 % overensstemmelse med negativ klasse	100 %
	95 % overensstemmelse med høj-positiv klasse	100 %

Klinisk ydeevne

For at sikre, at AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation Dual Fusion Probe detekterer de påtænkte rearrangementer, blev den kliniske ydeevne fastslået ved fem undersøgelser af repræsentative prøver fra den påtænkte population for produktet: restmateriale fikseret med 3:1 methanol/eddikesyre. Undersøgelserne havde en samlet prøvestørrelse på seks hundrede og fireogtredive (634) med i alt femogtredive (35) positive og fem hundrede og nioghalvfems (599) negative prøver i alt på tværs af alle laboratorier. Overensstemmelsen/diskordansen af resultater blev fundet at opfylde 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 AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual

Fusion Probe

Variabel	Resultat
Klinisk sensitivitet (sand positiv rate, True Positive Rate (TPR))*	99,74 %
Klinisk specificitet (sand negativ rate, True Negative Rate (TNR))*	99,90 %
Falsk positive rate (FPR) = 1 – Specificitet*	0,10 %

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: 50558449LPH026JH

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

- Swerdlow, et al. (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC,2017
- Reikvam H, et al. J Biomed Biotechnol. 2011; 2011:104631.
- Grimwade, et al. Blood. 2001;98(5):1312-1320.
- Harrison, et al. Journal of Clinical Oncology. 2010;28(16):2674-2681.
- Grimwade, et al. Blood. 2010;116(3):354-365.
- 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.

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 Det Europæiske Fællesskab/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

UDI	da: Unik enhedsidentifikator	5.7.10
EDMA-symboler til IVD-reagenser og -komponenter, revision fra oktober 2009		
Symbol	Titel	Referencenummer/- numre
CONT	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

V001.00 2023-01-11: Ny IFU til forordning (EU) 2017/746
V002 2025-08-29: Fjernelse af UKCA-mærket.