



Bruksanvisning (IFU)

REF: CE-LPH 013-S / CE-LPH 013

MLL (KMT2A) Breakapart Probe



KUN TIL BRUK AV FAGFOLK



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

Tiltenkt formål

CytoCell® MLL (KMT2A) Breakapart Probe er en kvalitativ, ikke-automatisert FISH-test (fluorescens *in situ* hybridisering) som brukes for påvisning av omgrupperinger i 11q23.3-området på kromosom 11 hos pasienter med bekreftet eller mistenkt akutt myeloid leukemi (AML), myelodysplastiske syndromer (MDS) eller akutt lymfoblastisk leukemi (ALL). Det benyttes suspensjoner av fikserte, hematologisk deriverte celler i Carnoy's oppløsning (3:1 metanol/eddiksyre).

Indikasjoner for bruk

Dette utstyret er designet for bruk i tillegg til andre kliniske og histopatologiske tester som foretas under godkjent diagnostisk og klinisk behandling, der kunnskap om eventuell *MLL (KMT2A)*-omgruppering vil være viktig for den kliniske behandlingen.

Begrensninger

Dette utstyret er designet for påvisning av omgrupperinger med brytningspunkter i området som dekkes av de røde og grønne klonene i dette probesettet, som omfatter *MLL* (*KMT2A*)-genet. Det er mulig at brytningspunkter utenfor dette området, eller varianter av omgrupperingene som er fullstendig innenfor dette området, ikke blir påvist med dette utstyret.

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

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

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

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

Dette utstyret er kun beregnet for profesjonell laboratoriebruk.

Dersom protokollen ikke følges, kan det påvirke testen og føre til falskt positivt/negativt resultat.

Prinsippene bak testen

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

Probeinformation

Det er vanlig med omgruppering av *KMT2A*-genet (genet for lysinmetyltransferase 2A) på 11q23.3 ved akutt leukemi, spesielt spedbarnsleukemi og sekundær leukemi, etter behandling med DNA topoisomerase II-hemmere¹.

KMT2A-genet har høy homologi med *drosophila trithorax*-genet og koder for en histonmetyltransferase, som fungerer som en epigenetisk regulator av transkripsjon. *KMT2A*-translokasjoner fører til produksjon av et kimer protein der den amino-terminale delen av *KMT2A* er fusjonert med den karboksy-terminale delen av fusjonspartnerneget. Det funksjonelle proteinet spiller en viktig rolle ved embryoutvikling og hematopoiese^{1,2,3,4}

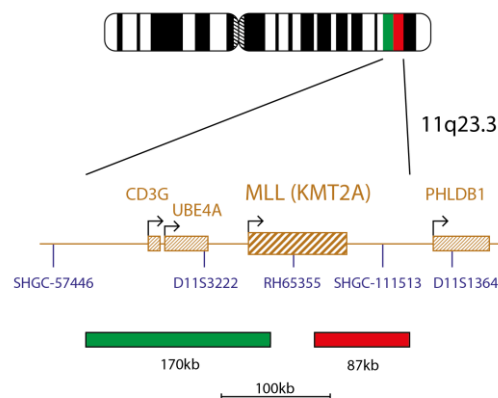
KMT2A-omgrupperinger kan påvises hos cirka 80 % av spedbarn med akutt lymfoblastisk leukemi (ALL) og hos 5–10 % av voksne og barn med ALL^{3,4}. De finnes også hos 60 % av spedbarn med akutt myeloid leukemi (AML) og ved AML hos voksne i 3 % av de novo-tilfellene og i 10 % av de behandlingsrelaterte tilfellene^{3,5}. Til dags dato er det identifisert mer enn 70 partnere, der de vanligste translokasjonene er *MLL::AFF1*; t(4;11)(q21;q23.3), *MLL::MLLT4*; t(6;11)(q27;q23.3), *MLL::MLLT3*; t(9;11) (p22;q23.3) og *MLL::MLLT1*; t(11;19)(q23.3;p13.3)¹.

Historisk sett har *KMT2A*-omgrupperinger ved akutt leukemi vært forbundet med dårligere utfall, men nylige studier har vist at prognosen er svært avhengig av fusionspartnern og kan være forskjellig hos barn og voksne¹.

Probespesifikation

MLL, 11q23.3, Rød
MLL, 11q23.3, Grønn

CMP-H036 v006.00



MLL-produktet består av en 87 kb probe som er rødmerket og dekker et område telomerisk til *MLL*-genet (*KMT2A*) som omfatter markøren SHGC-111513, og en grønn probe som dekker et 170 kb område centromerisk til *MLL*-genet og som strekker seg over *CD3G*- og *UBE4A*-genene.

Nødvendig materiell

Probe: 50 µl per ampulle (5 tester) eller 100 µl per ampulle (10 tester).

Probene leveres forholdsblander i hybridiseringsløsning (-65 % formamid; <20 mg dekstransulfat; <10 % av 20x natriumklorid/natriumsitrat-oppløsning (SSC)) og er klare til bruk.

Kontrafaringa: 150 µl per ampulle (15 tester).

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

Advarsler og forsiktighetsregler

1. Til *in vitro* diagnostisk bruk. Kun til profesjonell laboratoriebruk.
2. Probelblandingen inneholder formamid, som er teratogent; unngå hudkontakt og innånding av damp. Utvis forsiktighet ved håndtering; bruk hansker og labfrakk.
3. Utvis forsiktighet ved håndtering av DAPI; bruk hansker og labfrakk.
4. Ikke bruk hvis ampull(en) er skadet, eller hvis innholdet i ampullen er kompromittert på noen måte.
5. Følg lokale deponeringsbestemmelser som gjelder for ditt sted, sammen med anbefalingene i sikkerhetsdatabladet for å bestemme sikker deponering av dette produktet. Dette gjelder også innhold i skadde testsett.
6. Deponer alle brukte reagenser og alle andre kontaminerte engangsmaterialer ved å følge prosedyrer for smittefarlig eller potensielt smittefarlig avfall. Det er ansvaret til ethvert laboratorium å håndtere fast og flytende avfall i henhold til deres natur og grad av farlighet og å behandle og deponere dem (eller få dem behandlet og deponert) i samsvar med gjeldende forskrifter.
7. Brukerne må være i stand til å skille mellom fargene rød, blå og grønn.
8. Dersom de angitte protokollene og reagensene ikke benyttes, kan det påvirke testen og føre til falskt positivt/negativt resultat.
9. Proben skal ikke fortynnes eller blandes med andre prøber.
10. Dersom det ikke brukes 10 µl probe under protokolltrinnet med pre-denaturering, kan det påvirke testen og føre til falskt positivt/negativt resultat.
11. Alle produkter bør valideres før bruk.
12. Internkontroll bør utføres ved å bruke upåvirkede cellepopulasjoner i testprøver.

Temperaturdefinisjoner

- -20 °C / Frosset / I fryser: -25 °C til -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Romtemperatur (RT): +15 °C til +25 °C

Oppbevaring og håndtering

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



FISH-proben, DAPI Antifade ES-kontrafargen og hybridiseringsløsningen forblir stabile gjennom fryse-tine-syklusene som oppleves under normal bruk (hvor én syklus utgjør fjerning av ampullen fra og gjeninnsetting i fryseren)- 5 sykluser for 50 µl (5 tester) ampullen med FISH-probe, 10 sykluser for 100 µl (10 tester) ampuller med FISH-probe, og 15 sykluser for 150 µl (15 tester) ampuller med kontrafarge. Eksponering for lys bør minimeres og unngås der det er mulig. Oppbevar komponentene i den lysbestandige beholderen som følger med. Komponenter som brukes og lagres under andre forhold enn de som er angitt på etiketten, fungerer kanskje ikke som forventet og kan påvirke analyseresultatene negativt. Eksponering for lys og temperaturforandringer må begrenses i størst mulig grad.

Nødvendig utstyr og materialer som ikke medfølger

Det må benyttes kalibrert utstyr:

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

Valgfritt utstyr som ikke medfølger

1. Cytogenetisk tørkekammer

Nødvendige reagenser som ikke medfølger

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

Anbefalinger ved fluorescensmikroskopering

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

Fluorofor	Eksitasjon _{max} [nm]	Emisjon _{max} [nm]
Grønt	495	521
Rødt	596	615

Sørg for at mikroskopet har egnede eksitasjons- og emisjonsfiltre som dekker bølglengdespekteret som er angitt ovenfor. Bruk et trippelt bandpassfilter (DAPI / grønt spektrum / rødt spektrum) eller et dobbelt bandpassfilter (grønt spektrum / rødt spektrum) for optimal simultan visualisering av de grønne og røde fluoroforene.

Sjekk at fluorescensmikroskopet fungerer som det skal før det brukes. Bruk immersjonsolje som er egnet for fluorescensmikroskopering, og som er formulert for «low auto»-fluorescens. Unngå å blande DAPI antifade i immersjonsoljen. Det gjør signalene utydelige. Følg produsentens anbefalinger når det gjelder lampens og filternes levetid.

Prøvepreparering

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

til standard cytogenetiske prosedyrer. AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* inneholder anbefalinger for prøvetaking, dyrking, høsting og prøvepreparering⁶.

Tilberedning av oppløsninger

Etanoloppløsninger

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

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

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

2xSSC-oppløsning

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

0,4xSSC-oppløsning

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

2xSSC, 0,05 % Tween-20-oppløsning

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

FISH-protokoll

(Obs! Pass alltid på at proben og kontrafargen eksponeres minst mulig for laboratoriebelysning).

Prøvepreparering

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

Pre-denaturering

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

Denaturering

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

Hybridisering

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

Vasking etter hybridisering

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

Prosedyreanbefalinger

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

Tolking av resultater

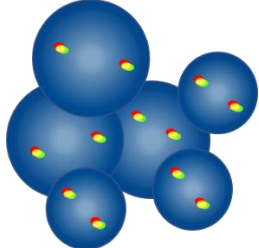
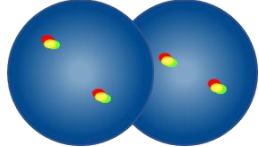
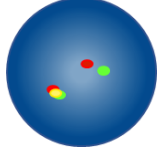
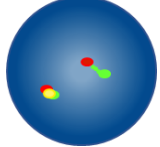
Vurdering av prøvepreparatets kvalitet

Prøvepreparatet skal ikke analyseres dersom:

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

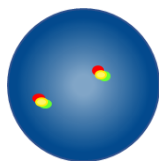
Retningslinjer for analyse

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

Retningslinjer for analyse	
	Skal ikke telles – kjernene er for nære hverandre til at grensene kan bestemmes
	Overlappende kjerner skal ikke telles – alle områder av begge kjerner er ikke synlige
	Telles som to fusjonssignaler – avstanden mellom det røde og grønne signalet er mindre enn to signalbredder
	Telles som to fusjonssignaler – ett fusjonssignal er diffust

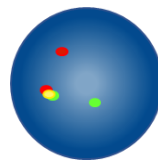
Forventede resultater

Forventet mønster av normale signaler



I en normal celle forventes to røde/grønne fusjonssignaler (2F).

Forventet mønster av unormale signaler



I en celle med en balansert *MLL* (*KMT2A*)-omgruppering, forventes ett rødt, ett grønt og ett rødt/grønt fusjonssignal (1F1R1G).

Andre signalmønstre er mulige i aneuploide/ubalanserte celleprøver.

Kjente relevante interferenser / interfererende stoffer

Ingen kjente relevante interferenser / interfererende stoffer.

Kjente kryssreaksjoner

Ingen kjente kryssreaksjoner.

Rapportering av alvorlige hendelser

For en pasient/bruker/tredjepart i EU og i land med identisk reguleringsregime (forordning (EU) 2017/746 om *In vitro* diagnostisk medisinsk utstyr); hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruken av dette utstyret eller som følge av dets bruk, skal dette rapporteres til produsenten og til din nasjonale kompetente myndighet.

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

Produsentkontakt: vigilance@ogt.com

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

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

Spesifikke analysekarakteristika

Analytisk spesifisitet

Analytisk spesifisitet er prosentandelen signaler som viser hybridisering til korrekt locus og ingen annen lokasjon. Den analytiske spesifisiteten ble bestemt ved analysing av totalt 200 mål-loci i 20 metafaseceller fra 5 prøver ble det analysert 2 kromosomloci i hver celle, hvilket tilsvarer 200 datapunkter. Den analytiske spesifisiteten ble beregnet som antall FISH-signaler som hybridiserte til korrekt locus, dividert med totalt antall hybridiserte FISH-signaler.

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

Tabell 1. Analytisk spesifisitet for *MLL* (*KMT2A*) Breakapart Probe

Probe	Mål	Antall hybridiserte metafasekromosomer	Antall korrekt hybridiserte loci	Analytisk spesifisitet (%)	95 % konfidensintervall (%)
MLL distal, rød	11q23.3	200	200	100	98,12–100
MLL proksimal, grønn	11q23.3	200	200	100	98,12–100

Analytisk sensitivitet

Analytisk sensitivitet er prosentandelen interfase-celler som kan gis en score og som har det forventede mønsteret av normale signaler. Minimum 200 interfaseceller ble analysert for hver av 25 Carnoy's løsning beinmargsfikserte cellesuspensjoner som ble ansett som karyotypiske normale, noe som resulterte i minimum 5000 analyserte kjerner for hver prøvetype. Sensitivitetsdataene ble analysert på bakgrunn av prosentandelen celler som viste et normalt forventet signalmønster, og ble uttrykt som en prosentandel med 95 % konfidensintervall.

Tabell 2. Analytisk sensitivitet for *MLL* (*KMT2A*) Breakapart Probe

Antall celler med forventede signalmønstre	Totalt antall celler med signaler som kan gis en score	Analytisk sensitivitet (%)	95 % konfidensintervall (%)
4965	5000	99,3	99,08–99,52

Karakterisering av normale cut-off-verdier

I forbindelse med FISH-prober er den normale cut-off-verdien den maksimale prosentandelen interfase-celler som kan gis en score og som har et spesifikt mønster av unormale signaler, der en prøve betraktes som normal for det signalmønstret.

De normale cut-off-verdiene ble bestemt ved bruk av prøver som var negative for den omgrupperingen som proben skal påvise, og den beta-inverse funksjonen. For hver prøve ble signalmønstret til 100 interfase-kjerner registrert av to uavhengige analytikere, totalt 200 per prøve.

Cut-off-verdien ble bestemt ved bruk av β -invers-funksjonen (BETAINV) i MS Excel. Den ble beregnet som prosentandelen interfaseceller som viser et falskt

positivt signalmønster, ved bruk av øvre grense av et ensidig 95 % konfidensintervall for den binomiske fordelingen i en normal prøve fra en pasient.

Tabell 3. Karakterisering av normale cut-off-verdier for MLL (KMT2A) Breakapart Probe

Unormalt signalmønster	Antall analyserte prøver for generering av cut-off	Antall evaluerte kjerner per prøve	Max. antall falske positive signalmønstre	Normal cut-off-verdi (%)
1R1G1F	1600	200	3	3,8

Laboratorier må verifisere cut-off-verdier ved bruk av egne data^{7,8}.

Reproduserbarhet

Reproduserbarhetsstudier ble utført for å fastslå:

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

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

Alle tre laboratorier utførte testing av samme probebatch på samme dag, forskjellige dager og forskjellige lokasjoner. Ett av laboratoriene utførte også testing av reproduserbarhet ved bruk av tre forskjellige probebatcher. Reproduserbarheten ble beregnet på bakgrunn av samsvar mellom variablene som ble undersøkt under hver test.

Tabell 4. Reproduserbarhet for MLL (KMT2A) Breakapart Probe

Studie av reproduserbarhet	Prøve	Samsvar (%)
Samme dag/Forskjellige dager/Forskjellige steder	90 % samsvar negativ klasse	100 %
	95 % samsvar høy positiv klasse	100 %
Forskjellige batcher	90 % samsvar negativ klasse	100 %
	95 % samsvar høy positiv klasse	100 %

Klinisk ytelse

For å sikre at produktet detekterer de tiltenkte omgrupperingene, ble klinisk ytelse etablert i løpet av tre retrospektive studier utført ved eksterne teststeder. Studiene hadde en samlet prøvestørrelse på fire hundre og åttiåtte (488), med atten (18) positive og fire hundre og sytti (470) negative prøver på alle steder. Positivitetsstatusen til hver prøve ble bekreftet ved bruk av enten en kommersiell komparatorprobe markedsført av en konkurrerende leverandør, og som oppdager de samme avvikene som probene under evaluering, eller ved sammenligning med G-båndet karyotype.

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

Tabell 5. Klinisk ytelse for MLL (KMT2A) Breakapart Probe

Variabel	Resultat
Klinisk sensitivitet (sann positiv rate, TPR)	99,93 %
Klinisk spesifisitet (sann negativ rate, TNR)	99,97 %
Falsk positiv rate (FPR) = 1 – Spesifisitet	0,03 %

Sammendrag av sikkerhet og ytelse (SSP)

SSP skal gjøres tilgjengelig for allmennheten via den europeiske databasen om medisinsk utstyr (Eudamed), der den er knyttet til Basic UDI-DI. Eudamed URL: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> Basic UDI-DI: 50558449LPH013J8

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

Ytterligere informasjon

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

Referanser

1. Tamai, Inokuchi, J Clin Exp Hematopathol 2010;50(2):91-98
2. Wright, Vaughan, Critical Reviews in Oncology/Hematology 2014;91(3):283-291
3. Van der Burg et al., Leukemia 2004;18(5):895-908
4. Tomizawa, Pediatr Int 2015;57(8):811-819
5. Grossman et al., Leukemia 28 March 2013; doi10.1038/leu.2013.90
6. Arsham, MS., Barch, M.J. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
7. 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.
8. 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.

Symboloversikt

NS-EN ISO 15223-1:2021 – “Medisinsk utstyr – Symboler til bruk med informasjon som skal leveres av produsenten – Del 1: Generelle krav” (© International Organization for Standardization)		
Symbol	Tittel	Referansenummer
	no: Tilvirker	5.1.1
	no: Autorisert representant i De europeiske fellesskap/Den europeiske union	5.2.1
	no: Brukes innen- dato	5.4.1
	no: Batchkode	5.5.1
	no: Katalognummer	5.6.1
	no: Oppbevares beskyttet mot sollys	5.3.2
	no: Temperaturgrense	5.3.7
	no: Les bruksanvisningen	5.4.3
	no: Les den elektroniske bruksanvisningen	5.4.3
	no: Forsiktig	5.4.4
	no: Medisinsk utstyr til in vitro-diagnostikk	5.5.1
	no: Innholdet rekker til <n> tester	5.5.5
	no: Unik enhetsidentifikator	5.7.10
EDMA-symboler for IVD-reagenser og -komponenter, revisjon oktober 2009		
Symbol	Tittel	Referansenummer
	no: Innhold (eller inneholder)	N/A

Patenter og varemerker

CytoCell er et registrert varemerke for CytoCell Limited.

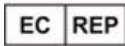
**Cytocell Limited**

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

Tlf.: +44 (0)1223 294048

E: probes@cytoCell.com

Nettsted: www.ogt.com

**Sysmex Europe SE**

Deelböge 19 D
22297 Hamburg
TYSKLAND

Nettsted: www.sysmex-europe.com

IFU versjonshistorikk

V001.00 2023-01-11: Ny bruksanvisning for forordning (EU) 2017/746

V002 2025-08-29: Fjerning av UKCA-merket

V003 2025-09-09: Oppdatering av adressen til EU autorisert representant.

Fjerning av telefonnummer til EU autorisert representant. Fjerning av OGT-faksnummer.