



A Sysmex Group Company



Bruksanvisning

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

CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe



ENDAST FÖR PROFESSIONELLT BRUK



Mer information och andra språkversioner finns på ogt.com/IFU

Avsett ändamål

CytoCell® CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion probe är ett kvalitativt, icke-automatiserat fluorescerande *in situ*-hybridiseringstest (FISH) som används för att upptäcka rearrangemang mellan region 16p13.1 på kromosom 16 och region 16q22 på kromosom 16 i hematologiskt erhållna cellsuspensioner fixerade i Carnoy's lösning (3:1 metanol/ättiksyra) från patienter med fastställt eller misstänkt akut myelotisk leukemi (AML).

Användningsindikationer

Den här enheten är avsedd att vara ett komplement till övriga kliniska och histopatologiska undersökningar inom ramen för sedvanlig diagnostik och sjukvård där kännedom om translokationsstatus för *CBFB::MYH11* skulle ha betydelse för den kliniska handläggningen.

Begränsningar

Den här enheten används för att upptäcka rearrangemang med brytpunkter i regionen som täcks av de röda och gröna klonerna i denna sonduppsättning, vilken innefattar region *CBFB* och *MYH11*. Brytpunkter utanför denna region eller varianter av rearrangemang som ligger helt inom denna region upptäcks inte alltid med den här enheten.

Enheten är inte avsedd för fristående diagnostisering, behandlingsvägledande diagnostik, prenatal testning, populationsbaserad screening, patientnära testning eller egentestning.

Enheten har inte validerats för användning på andra prov- eller sjukdomstyper, eller för ändamål som faller utanför det avsedda ändamål som anges.

Den är avsedd som komplement till andra diagnostiska laboratorietester och behandling bör inte sättas in enbart på grundval av FISH-resultaten.

Rapportering och tolkning av FISH-resultat ska utföras av kvalificerad personal i enlighet med professionell praxis och annan klinisk och diagnostisk information samt andra relevanta testresultat bör beaktas.

Den här enheten är endast avsedd för professionellt bruk i laboratorium.

Underlåtenhet att följa anvisningarna kan påverka prestanda och leda till falskt positiva/negativa resultat.

Principer för testet

Fluorescerande *in situ*-hybridisering (FISH) är en teknik som tillåter att DNA-sekvenser upptäcks på metafaskromosomer eller interfaskärnor från fixerade cytogenetiska prover. Den här tekniken använder DNA-sonder som hybridiserar till hela kromosomer eller enstaka unika sekvenser och fungerar som ett kraftfullt komplement till cytogenetisk analys med Giemsa-färgning. Tekniken går nu att tillämpa som ett viktigt undersökningsverktyg vid prenatala och hematologiska kromosomanalyser liksom vid kromosomanalyser av solida tumörer. Mål-DNA kan efter fixering och denaturering hybridisera till en likaledes denaturerad, fluorescensmärkt DNA-sond med en komplementär sekvens. Efter hybridisering avlägsnas obunden och ospecifikt bunden DNA-sond och DNA kontrastfärgas för visualisering. Fluorescensmikroskopi synliggör sedan den hybridiserade sonden på målmaterialet.

Information om sonden

Genen *CBFB* (core-binding factor subunit beta) sitter på 16q22 och genen *MYH11* (myosin heavy chain 11) sitter på 16p13.1. Inversionen *inv(16)(p13.1q22)* och

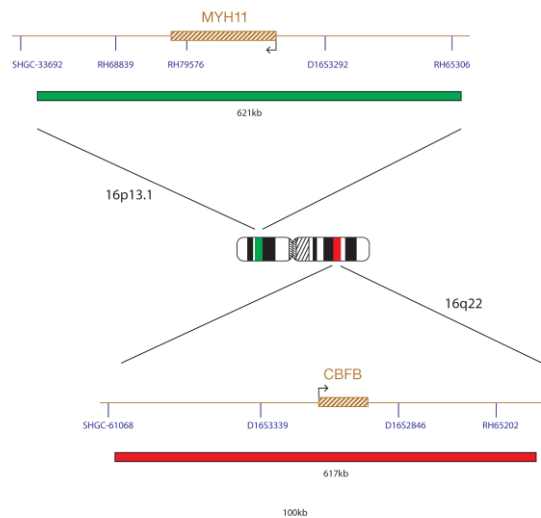
translokationen *t(16;16)(p13.1;q22)* ger upphov till fusionsgenen *CBFB-MYH11*. Akut myelotisk leukemi med *CBFB::MYH11*-fusion är en erkänd sjukdom enligt klassificering från Världshälsoorganisationen (WHO)¹. Den här AML-typen utgör 5–8 % av fall hos unga vuxna patienter och förekommer mindre hos äldre vuxna¹. *Inv(16)(p13.1q22)* är den vanligaste cytogenetiska ändringen som identifieras hos ~95 % av *CBFB::MYH11*-patienter¹. Prognosen för AML med *CBFB::MYH11* är gynnsam med en långsiktig överlevnadsfrekvens på ~50 % hos vuxna^{1,2}.

Sondens specifikationer

CBFB, 16q22, röd

MYH11, 16p13.1, grön

CMP-H077 v005.00



CBFB-sonden som är märkt med rött, täcker en 617 kb region inom 16q22 och innefattar *CBFB*-genen. MYH11-sonden som är märkt med grönt, täcker en 621 kb region inom 16p13.1 och innefattar *MYH11*-genen.

Material som medföljer

Sond: 50 µl per flaska (5 tester) eller 100 µl per flaska (10 tester)

Sonderna tillhandahålls förblandade i hybridiseringslösning (< 65 % formamid, < 20 mg dextransulfat, < 10 % av 20x natriumklorid-natriumcitrat (SSC-buffert)) och är färdiga att användas.

Kontrastfärg: 150 µl per flaska (15 tester)

Kontrastfärgen är DAPI antifade ES (0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenylindol) i glycerolbaserat fästmedel).

Varningar och försiktighetsåtgärder

1. För användning vid *in vitro*-diagnostik. Endast för professionellt bruk i laboratorium.
2. Sondblandningarna innehåller formamid som är en teratogen (fosterskadande). Undvik att andas in ångorna och undvik hudkontakt. Hanteras varsamt. Använd handskar och laboratorierock.
3. Hantera DAPI varsamt. Använd handskar och laboratorierock.
4. Använd inte skadade flaskor eller om dess innehåll har äventyrats på något sätt.
5. Kassera produkten på ett säkert sätt genom att följa lokala bestämmelser samt rekommendationerna i säkerhetsdatabladet. Detta gäller även för skadat testkitsinnehåll.
6. Kassera använd reagens och annat kontaminerat material för engångsbruk på samma sätt som vid kassering av smittfarligt eller potentiellt smittfarligt avfall. Det är laboratoriets ansvar att hantera fast och flytande avfall i enlighet med dess typ och hur pass farligt det är. Avfallet ska hanteras och kasseras (av personal eller via extern hjälp) i enlighet med tillämpliga bestämmelser.
7. Alla användare måste kunna skilja mellan färgerna rött, blått och grönt.
8. Underlåtenhet att följa det föreskrivna protokollet och reagenserna kan påverka prestandan och leda till falskt positiva/negativa resultat.
9. Sonden får inte spädas ut eller blandas med andra sonder.
10. Underlåtenhet att använda 10 µl sond i protokollsteget före denaturering kan påverka prestandan och leda till falskt positiva/negativa resultat.
11. Alla produkter måste valideras före användning.
12. Interna kontroller med opåverkade cellpopulationer i testproverna ska utföras.

Temperatursdefinitioner

- -20 °C/fryst/i frys: -25 °C till -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Rumstemperatur (RT): +15 °C till +25 °C

Förvaring och hantering

Kitet ska förvaras mellan -25 °C och -15 °C i ett frysskåp fram till det utgångsdatum som anges på etiketten. Sonden och flaskorna med kontrastfärg måste förvaras mörkt.



FISH-sonden, DAPI Antifade ES-kontrastfärgen och hybridiseringslösningen är stabila under frysnings- och upptinningscykler vid normal användning (när en cykel utgörs av att flaskan tas ut och sätts tillbaka i frysen) – fem cykler för FISH-sondflaskor på 50 µl (5 tester), tio cykler för FISH-sondflaskor på 100 µl (10 tester) och 15 cykler för kontrastfärgsflaskor på 150 µl (15 tester). Minimera risken för ljusexponering och undvik om möjligt. Förvara komponenterna i den medföljande ljuskyddade behållaren. Om komponenterna hanteras eller förvaras i förhållanden utöver de som anges på etiketten är det möjligt att de inte fungerar som de ska, vilket kan påverka analysresultaten. Se till att undvika exponering för ljus och temperaturförändringar.

Utrustning och material som behövs men inte medföljer

Utrustningen som används måste vara kalibrerad:

1. Värmeplatta (med en fast platta och exakt temperaturreglering upp till 80 °C)
2. Kalibrerade mikropipetter och spetsar med variabel volym mellan 1 µl–200 µl
3. Vattenbad med exakt temperaturreglering vid 37 °C och 72 °C
4. Mikrocentrifugör (0,5 ml)
5. Fluorescensmikroskop (se avsnittet om rekommendationer för fluorescensmikroskop)
6. Faskontrastmikroskop
7. Rena kyvetter av plast, keramiskt material eller värmeståligt glas
8. Tång
9. Kalibrerad pH-mätare (eller pH-indikatorremsor som mäter pH 6,5–8,0)
10. Behållare med befuktning
11. Immersionsolja för linser till fluorescensmikroskop
12. Bänkcenrifug
13. Objektglas
14. Täckglas 24 x 24 mm
15. Tidur
16. 37 °C inkubator
17. Gummilim
18. Vortexblandare
19. Mätglas
20. Magnetisk omrörare
21. Kalibrerad termometer

Valfri utrustning som inte medföljer

1. Cytogenetisk torkkammare

Reagenser som behövs men inte medföljer

1. 20 x salt-natriumcitratlösning (SSC)
2. 100 % etanol
3. Tween-20
4. 1 M natriumhydroxid (NaOH)
5. 1 M saltsyra (HCl)
6. Renat vatten

Rekommendationer för fluorescensmikroskop

Använd en 100 W kvicksilverlampa eller motsvarande och plana inoljade akromatiska objektiv 60/63 x eller 100 x för optimal visualisering. De fluoroforer som används i denna sonduppsättning exciteras och emitteras vid följande våglängder:

Fluorofor	Excitation _{max} [nm]	Emission _{max} [nm]
DAPI	364	454
Aqua	418	467
Grön	495	521
Röd	596	615
Guld	539	561
Orange	551	572

Se till att mikroskopet är försett med rätt excitations- och emissionsfilter för de ovan angivna våglängderna.

Använd ett tredubbelt bandpassfilter för DAPI/grönt spektrum/rött spektrum eller ett dubbelt bandpassfilter för grönt/rött spektrum för optimal samtidig visualisering av de gröna och röda fluoroforer.

Kontrollera fluorescensmikroskopet före användning för att säkerställa att det fungerar felfritt. Använd immersionsolja som lämpar sig för fluorescensmikroskopi och har en sammansättning med låg autofluorescens. Undvik att blanda DAPI antifade med immersionsolja för mikroskopet eftersom detta gör signalerna otydliga. Följ tillverkarnas rekommendationer beträffande lampans livslängd och filtrens ålder.

Provberedning

Kitet är utformat för att användas på hematologiskt erhållna cellsuspensioner fixerade i Carnoy's lösning (3:1 metanol/ättiksyra) från patienter med fastställd eller misstänkt akut myeloid leukemi (AML) som är beredda enligt laboratoriets eller institutionens riktlinjer. Förbered lufttorkade prover på objektglas i enlighet med cytogenetiska standardprocedurer. AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* innehåller rekommendationer för provansamling, odling, insamling och objektglasframställning³.

Lösningsberedning

Etanollösningar

Späd 100 % etanol med renat vatten i följande förhållanden och blanda noggrant:

- 70 % etanol – 7 delar 100 % etanol med 3 delar renat vatten
- 85 % etanol – 8,5 delar 100 % etanol med 1,5 delar renat vatten
- Förvara lösningarna upp till 6 månader i rumstemperatur i en lufttät behållare.

2 x SSC-lösning

Späd ut 1 del 20 x SSC-lösning med 9 delar renat vatten och blanda väl. Kontrollera pH-värdet och justera till pH 7,0 med den mängd NaOH eller HCl som krävs. Förvara lösningen upp till 4 veckor i rumstemperatur i en lufttät behållare.

0,4 x SSC-lösning

Späd ut 1 del 20 x SSC-lösning med 49 delar renat vatten och blanda väl. Kontrollera pH-värdet och justera till pH 7,0 med den mängd NaOH eller HCl som krävs. Förvara lösningen upp till 4 veckor i rumstemperatur i en lufttät behållare.

2 x SSC, 0,05 % Tween-20-lösning

Späd 1 del 20 x SSC-lösning med 9 delar renat vatten. Tillsätt 5 µl Tween-20 per 10 ml och blanda väl. Kontrollera pH-värdet och justera till pH 7,0 med den mängd NaOH eller HCl som krävs. Förvara lösningen upp till 4 veckor i rumstemperatur i en lufttät behållare.

FISH-protokoll

(Obs! Se till att sonden och kontrastfärgen aldrig utsätts för mer än begränsat med laboratoriebelysning).

Förberedelse av objektglas

1. Applicera cellprovet på ett objektglas för mikroskop. Låt det torka. (**Vid användning av cytogenetisk torkkammare:** Kammaren ska användas vid cirka 25 °C och 50 % luftfuktighet för optimal applicering av cellprovet. Om en cytogenetisk torkkammare inte finns att tillgå är ett dragskåp ett alternativ).
2. Sänk ned objektglaset i 2 x SSC i 2 minuter i rumstemperatur (RT) utan beröring.
3. Dehydrera i tre etanolbad efter varandra (70 %, 85 % och 100 %), vart och ett under 2 minuter i RT.
4. Låt det torka.

Före denaturering

5. Ta ut sonden ur frysskåpet och låt den värmas upp till rumstemperatur. Centrifugera rören lätt före användning.
6. Säkerställ att sondlösningen är väl blandad med en pipett.
7. Avlägsna 10 µl av sonden per test och överför till ett mikrocentrifugrör. Lägg snabbt tillbaka återstående sond i frysen.
8. Låt sonden och objektglaset förvärmas på en värmeplatta vid 37 °C (+/- 1 °C) i 5 minuter.
9. Applicera 10 µl av sondblandningen på cellprovet och lägg försiktigt på ett täckglas. Försegla med gummilim och låt limmet torka helt.

Denaturering

10. Denaturera provet och sonden samtidigt genom att värma objektglaset på en värmeplatta vid 75 °C (+/- 1 °C) i 2 minuter.

Hybridisering

11. Lägg objektglaset över natten i en fuktig, ljusstät behållare vid 37 °C (+/- 1 °C).

Tvättar efter hybridisering

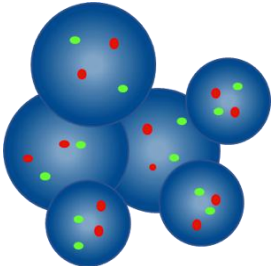
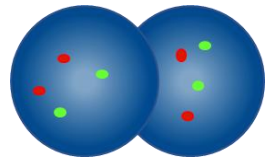
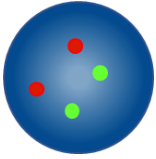
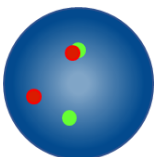
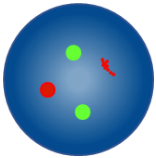
12. Ta ut DAPI ur frysskåpet och låt den värmas upp till rumstemperatur (RT).
13. Ta bort täckglaset och alla spår av lim noggrant.
14. Låt objektglaset ligga i 0,4 x SSC (pH 7,0) vid 72 °C (+/- 1 °C) i 2 minuter utan beröring.
15. Låt objektglaset rinna av och låt det ligga stilla i 2 x SSC, 0,05 % Tween-20 vid RT (pH 7,0) under 30 sekunder.
16. Låt objektglaset rinna av och applicera 10 µl DAPI mot blekning (antifade) på varje prov.
17. Lägg ett täckglas över, avlägsna eventuella bubblor och låt färgen utvecklas i mörker i 10 minuter.
18. Granska i ett fluorescensmikroskop (se **Rekommendationer för fluorescensmikroskop**).

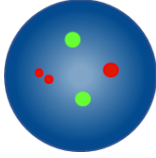
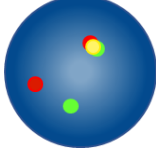
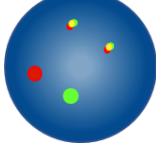
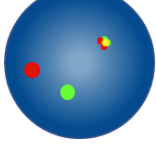
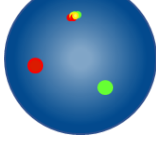
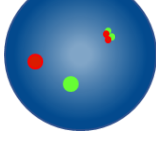
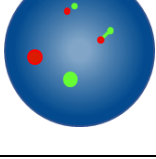
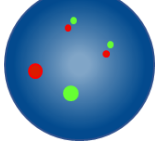
Rekommendationer för förfarande

1. Objektglas som har ugnsfixerats eller åldrats ger en svagare fluorescenssignal.
2. Hybridiseringen kan påverkas negativt vid användning av andra reagenser än de som tillhandahålls eller rekommenderas av Cytocell Ltd.
3. Använd en kalibrerad termometer för att mäta temperaturerna på lösningar, vattenbad och inkubatorer eftersom dessa temperaturer är avgörande för att produkten ska fungera optimalt.
4. Tvättkoncentrationerna, pH-värden och temperaturer är viktiga eftersom för låg noggrannhet kan resultera i icke-specifik bindning av sonden och för hög noggrannhet kan innebära att signalen uteblir.
5. Ofullständig denaturering kan resultera i att signalen uteblir och överdenaturering kan även leda till icke-specifik bindning.
6. Överdriven hybridisering kan ge resultat som extra eller oväntade signaler
7. Användaren bör optimera protokollet för sina egna prover innan testet används i diagnostiska syften.
8. Bristfälliga förhållanden kan resultera i icke-specifik bindning som kan misstolkas som en sonda-signal.

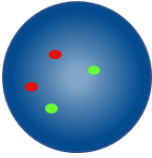
- Tolkning av resultaten**
Bedömning av objektglaskvalitet
Objektglaset ska inte analyseras i följande fall:
- Signalerna är för svaga för analys i enstaka filter – för att fortsätta analysen ska signalerna framträda klart och tydligt och vara lätta att utvärdera
 - Det finns ett stort antal hopklumpade/överlappande celler som försvårar analysen
 - > 50 % av cellerna inte är hybridiserade
 - Det finns en stor mängd fluorescerande partiklar mellan cellerna och/eller en fluorescerande dimma som stör signalerna – optimalt ska bakgrunden framstå mörk eller svart och ren
 - Cellkärnornas gränser går inte att urskilja och är inte intakta

- Riktlinjer för analysen**
- Två analytiker bör analysera och tolka varje prov. Eventuella avvikelser bör avgöras av en tredje analytikers utvärdering
 - Alla analytiker ska ha lämpliga kvalifikationer enligt godkända nationella standarder
 - Varje analytiker ska oberoende av de andra bedöma 100 kärnor i varje prov. Den första analytikern ska börja analysen från vänster sida av objektglaset och den andra analytikern från höger
 - Varje analytiker ska dokumentera sina resultat i separata utskrifter
 - Analysera endast hela kärnor, inte kärnor som är överlappande, hopklumpade eller täckta av cytoplasmiskt skräp eller hög grad av autofluorescens
 - Undvik områden med överskott av cytoplasmiskt skräp eller icke-specifik hybridisering.
 - Signalintensiteten kan variera även med en enstaka kärna. Använd i så fall enstaka filter och/eller justera fokalplanet
 - Under icke optimala förhållanden kan signalerna verka otydliga. Om två signaler med samma färg vidrör varandra eller om avståndet mellan dem inte är högre än två signalbredder eller om en tunn sträng förbinder de två signalerna ska de betraktas som en signal
 - Om det finns tvivel om huruvida en cell går att analysera eller inte, låt bli att analysera den

Riktlinjer för analysen	
	Räkna inte – kärnorna ligger för nära varandra för att avgränsningarna ska kunna bedömas
	Räkna inte överlappande kärnor – alla områden för båda kärnorna är inte synliga
	Förväntat normalt signalmönster (2R2G)
	Normalt signalmönster (2R2G) – en röd och en grön signal är samlokaliserade
	Normalt signalmönster (2R2G) – en av de två röda signalerna är diffus

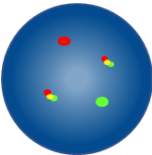
	Normalt signalmönster (2R2G) – mellanrummet i en av de röda signalerna är mindre än två sondbredder
	Normalt signalmönster (2R2G) – en röd och en grön signal är samlokaliserade
	Förväntat onormalt signalmönster (1R1G2F) – röda och gröna fusionssignaler är proportionellt mindre
	Förväntat onormalt signalmönster (1R1G2F) – samlokaliserade fusionssignaler
	Förväntat onormalt signalmönster (1R1G2F) – samlokaliserade fusionssignaler
	Förväntat onormalt signalmönster (1R1G2F) – två fusionssignaler bredvid varandra
	Räkna som en röd, en grön och två fusionssignaler – en fusionssignal är diffus
	Räkna som en röd, en grön och två fusionssignaler – mellanrummet mellan den röda och den gröna signalen i fusionerna är mindre än två sondbredder och de röda och gröna fusionssignalerna är proportionellt mindre

Förväntade resultat
Förväntat normalt signalmönster



I en normal cell förväntas två röda och två gröna signaler (2R2G)

Förväntade onormala signalmönster



I en cell med en inv(16)(p13.1;q22) eller t(16;16)(p13.1;q22) är det förväntade signalmönstret en röd, en grön och två fusioner (1R1G2F).

Andra signalmönster är möjliga i aneuploida/obalanserade prover.

Kända relevanta störningar/störande ämnen
Inga kända relevanta störningar/störande ämnen.

Känd korsreaktivitet
Ingen känd korsreaktivitet.

Rapportering av allvarliga incidenter
För patienter/användare/tredje part inom EU och i länder med samma bestämmelser ((EU) 2017/746-direktiv om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik): allvarliga incidenter som sker i samband med användning av den här enheten ska rapporteras till tillverkaren och behörig nationell myndighet. Allvarliga incidenter som sker i andra länder ska rapporteras till tillverkaren och behörig nationell myndighet (om tillämpligt). För kontakt gällande säkerhetsövervakning hos tillverkare: vigilance@ogt.com. En förteckning över kontaktpunkter för säkerhetsövervakning för behöriga nationella myndigheter inom EU finns på: https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Specifika prestandaegenskaper
Analytisk specificitet
Analytisk specificitet definieras som den procentandel signaler som hybridiserar till rätt locus och ingen annan plats. Två kromosomloci i var och en av tjugo metafasceller från fem prover analyserades, varav 200 datapunkter erhöles. Placeringen av varje hybridiserad sond kartlades och antalet FISH-signaler i metafaskromosomer som hybridiserade till rätt locus registrerades.

Den analytiska specificiteten för varje produkt beräknades som antal FISH-signaler i metafaskromosomer som hybridiserats till rätt locus, delat med det totala antalet hybridiserade FISH-signaler i metafaskromosomer. Detta resultat multiplicerades med 100, uttrycktes som procent och angavs med 95 % konfidensintervall.

Tabell 1. Analytisk specificitet för CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Mål	Antal hybridiserade metafaskromosomer	Antal korrekt hybridiserade loci	Analytisk specificitet	95 % konfidensintervall
16q22	200	200	100 %	98,12 %–100 %
16p13.1	200	200	100 %	98,12 %–100 %

Analytisk sensitivitet
Analytisk sensitivitet är den procentandel bedömningsbara interfasceller som har det förväntade normala signalmönstret. Minst 200 interfasceller analyserades för vart och ett av 25 benmärgsprover, vilket gav minst 5 000 bedömda cellkärnor för varje provtyp. Sensitivitetsdata analyserades baserat på procentandelen celler som uppvisade ett normalt förväntat signalmönster och uttrycktes som procent med 95 % konfidensintervall.

Tabell 2. Analytisk sensitivitet för CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Provtyp	Sensitivitetskriterier	Sensitivitetsresultat
Benmärg	> 95 %	98,94 % (98,59 %–99,29 %)

Beskrivning av normala cut-off-värden
Det normala cut-off-värdet definieras som procentandelen celler som uppvisar ett falskt positivt signalmönster med vilket en individ skulle anses normal och som inte stämmer överens med en klinisk diagnos. Minst 200 interfasceller analyserades för vart och ett av 1 300 benmärgsprover, vilket gav minst 260 000 bedömda cellkärnor för varje provtyp.

Cut-off-värdet beräknades med β-invers-funktionen (BETAINV) i MS Excel. Det beräknades som procentandelen interfasceller som uppvisade ett falskt positivt signalmönster. Den övre gränsen av ett ensidigt 95 % konfidensintervall av binomialfördelningen i ett normalt patientprov användes.

Tabell 3. Beskrivning av normala cut-off-värden för CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Provtyp	Cut-off-resultat
Benmärg	2,3 %

Laboratorierna måste verifiera cut-off-värden med hjälp av sina egna data^{4,5}.

Reproducerbarhet
Reproducerbarhetsstudier utfördes för att fastställa:

- Reproducerbarhet inom samma dag på 3 laboratorier (prov till prov)
- Reproducerbarhet mellan dagar på 3 laboratorier (dag till dag)
- Reproducerbarhet mellan dagar på 3 laboratorier (plats till plats)
- Reproducerbarhet mellan loter på enskilt laboratorium (lot till lot)

Reproducerbarheten fastställdes av tre fristående laboratorier som testade sex blindprover (två negativa för rearrangemanget, två lågt positiva prover som var 1 till 3 gånger cut-off-värdet samt två starkt positiva prover som innehöll mer än 45 % celler som var positiva för rearrangemanget). Analysen utfördes på två replikat av varje prov under fem icke på varandra följande dagar.

Alla tre laboratorier jämförde tester inom samma dag, mellan dagar och mellan laboratorier med samma lot av sond. Ett av laboratorierna testade också reproducerbarhet mellan olika loter där sond från tre olika loter användes.

Resultaten presenterades som övergripande överensstämmelse med den förutspått negativa klassen (för de negativa proverna) och den förutspått positiva klassen (för de positiva proverna).

Tabell 4a. Reproducerbarhet och precision för CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variabel	Provtyp	Överensstämmelse
Reproducerbarhet inom samma dag (prov till prov), mellan dagar (dag till dag) och mellan platser (plats till plats)	Benmärg, negativt	100 %
	Benmärg, lågt positivt	35 %
	Benmärg, starkt positivt	100 %
Reproducerbarhet lot till lot	Benmärg, negativt	100 %
	Benmärg, lågt positivt	33 %
	Benmärg, starkt positivt	100 %

En ytterligare reproducerbarhetsstudie utfördes för att komplettera de lågt positiva resultaten med två olika prover med olika lågt positiva nivåer (2x och 4x cut-off-värde) och två negativa prover för att fastställa:

- Reproducerbarhet inom samma dag (prov till prov)
- Reproducerbarhet mellan dagar på enskilt laboratorium (dag till dag)
- Reproducerbarhet mellan operatörer (operatör till operatör)

Reproducerbarheten fastställdes med en lot sond som utvärderats på två replikat av varje prov, testade under fem icke sammanhängande dagar av två olika operatörer.

Resultaten presenterades som övergripande överensstämmelse med den förutspått positiva klassen (för de positiva proverna).

Tabell 4b. Ytterligare stödande data för reproducerbarhet och precision för CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variabel	Provtyp	Överensstämmelse
Reproducerbarhet inom samma dag (prov till prov), mellan dagar (dag till dag) och mellan operatörer (operatör till operatör)	Benmärg, lågt positiv (2x cut-off)	100 %
	Benmärg, lågt positiv (4x cut-off)	100 %

Kliniska prestanda
För att säkerställa att CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe identifierar de avsedda rearrangemanen fastställdes dess kliniska prestanda i fyra (4) studier av representativa prover från den avsedda populationen för produkten: fixerat restmaterial av 3:1 metanol/ättiksyra. Studierna hade en kombinerad provstorlek på trehundra nittio (393) prover med totalt tjugio (28) positiva prover och trehundra sextio (365) negativa prover. Resultaten jämfördes med provets kända status. Resultatens konkordans/diskordans föll inom de godkända kriterierna för studien. Resultaten av dessa tester analyserades för att fastställa klinisk sensitivitet, klinisk specificitet och frekvensen av falskt positiva resultat (false positive rate, FPR) för positiva signaler med hjälp av en endimensionell metod.

Tabell 5. Kliniska prestanda för CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variabel	Resultat
Klinisk sensitivitet (sant positivt resultat, TPR) *	98,76 %
Klinisk specificitet (sant negativt resultat, TNR)*	99,52 %
Falskt positivt resultat (FPR) = 1 – specificitet*	0,48 %

Säkerhets- och prestandasammanfattning (SSP, Summary of Safety and Performance)
Säkerhets- och prestandasammanfattningen ska vara tillgänglig via den europeiska databasen för medicintekniska produkter (Eudamed) och länkat till grundläggande UDI-DI.
URL för Eudamed: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>
Grundläggande UDI-DI: 50558449LPH022J9

Om Eudamed inte är fullt funktionellt ska säkerhets- och prestandasammanfattningen göras offentlig via e-postbegäran till SSP@ogt.com.

Mer information
Kontakta CytoCells tekniska support för att få mer information om produkten.
Tfn: +44 (0)1223 294048
E-post: techsupport@cytozell.com
Hemsida: www.ogt.com

Referenser

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.

Symbolordlista

SS-EN ISO 15223-1:2021 – "Medicintekniska produkter – Symboler att användas vid märkning av produkt och information från tillverkaren – Del 1: Allmänna krav" (© International Organization for Standardization)		
Symbol	Titel	Referensnummer
	sv: Tillverkare	5.1.1
	sv: Auktoriserad representant inom den europeiska gemenskapen/EU	5.1.2
	sv: Sista användningsdatum	5.1.4
	sv: Kod för tillverkningsplatsen	5.1.5
	sv: Katalognummer	5.1.6
	sv: Skyddas mot solljus	5.3.2
	sv: Temperaturgräns	5.3.7
	sv: Se bruksanvisningen	5.4.3
 ogt.com/IFU	sv: Se bruksanvisning i elektronisk form	5.4.3
	sv: Läkta försiktighet	5.4.4
	sv: Medicinteknisk enhet för <i>in vitro</i> -diagnostik	5.5.1
	sv: Innehåller tillräckligt för <n> tester	5.5.5
	sv: Unik produktidentifiering	5.7.10
EDMA-symboler för IVD-reagens och -komponenter – reviderade i oktober 2009		
Symbol	Titel	Referensnummer

	sv: Innehåll (eller innehåller)	Ej tillämpligt
---	--	----------------

Patent och varumärken
CytoCell är registrerat varumärke som tillhör Cytozell Limited.


Cytozell Limited
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
STORBRITANNIEN

Tfn: +44 (0)1223 294048
E-post: probes@cytozell.com
Hemsida: www.ogt.com


Sysmex Europe SE
Deelböge 19 D
22297 Hamburg
TYSKLAND

Hemsida: www.sysmex-europe.com

Bruksanvisningsversion
V001 2023-10-09: Ny bruksanvisning för bestämmelsen (EU) 2017/746
V002 2025-08-29: Borttagning av UKCA-märket
V003 2025-09-09: Uppdatering av adressen för den EU-godkända representanten. Borttagning av telefonnummer för EU-godkänd representant. Borttagning av OGT-faxnummer.