



A Sysmex Group Company



Gebrauchsanweisung (IFU)

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

CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe



NUR FÜR DEN PROFESSIONELLEN GEBRAUCH



ogt.com/IFU

Weitere Informationen und andere Sprachen erhältlich unter ogt.com/IFU

Verwendungszweck

Die CytoCell® CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe ist ein hochwertiger, nicht automatisierter Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierungstest (FISH) zum Nachweis von chromosomalen Neuaneordnungen zwischen der Region 16p13.1 auf Chromosom 16 und der Region 16q22 auf Chromosom 16 in mit Carnoy'scher Lösung (3:1 Methanol/Essigsäure) fixierten, hämatologisch gewonnenen Zellsuspensionen von Patienten mit bestätigter oder vermuteter akuter myeloischer Leukämie (AML).

Gebrauchshinweise

Dieses Produkt wurde als Ergänzung zu anderen klinischen und histopathologischen Tests in anerkannten diagnostischen und klinischen Versorgungspfaden konzipiert, bei denen die Kenntnis des *CBFB::MYH11* Translokationsstatus für das klinische Management relevant wäre.

Einschränkungen

Dieses Produkt wurde entwickelt, um Neuaneordnungen mit Bruchstellen in der Region zu erkennen, die durch die roten und grünen Klone in diesem Sondenset abgedeckt wird, diese umfasst auch die Regionen *CBFB* und *MYH11*. Bruchstellen außerhalb dieser Region oder abweichende Neuaneordnungen, die komplett in dieser Region enthalten sind, können mit diesem Produkt nicht erkannt werden. Dieses Produkt ist nicht für die eigenständige Diagnostik, begleitende Diagnostik, Pränataldiagnostik, das populationsbasierte Screening, patientennahe Untersuchungen oder Selbsttests geeignet. Dieses Produkt wurde ausschließlich für die Probenarten, Krankheitstypen oder Zwecke validiert, die unter „Verwendungszweck“ aufgeführt sind. Es ist als Ergänzung zu anderen diagnostischen Labortests gedacht und es sollten nicht allein aufgrund des FISH-Ergebnisses therapeutische Maßnahmen eingeleitet werden. Die Meldung und Auslegung der FISH-Ergebnisse sollte von entsprechend geschultem Personal durchgeführt werden, den professionellen Praxisstandards entsprechen und weitere relevante Testergebnisse sowie klinische und diagnostische Informationen berücksichtigen. Dieses Produkt ist nur für den professionellen Gebrauch im Labor vorgesehen. Die Nichteinhaltung des Protokolls kann sich nachteilig auf die Leistung auswirken und zu falsch positiven/negativen Ergebnissen führen.

Grundprinzipien des Tests

Bei der Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) handelt es sich um eine Technik, die es ermöglicht, DNA-Sequenzen auf Metaphase-Chromosomen oder in Interphase-Kernen in festen zytogenetischen Proben nachzuweisen. Bei dieser Technik kommen DNA-Sonden zum Einsatz, die ganze Chromosomen oder einzelne, einzigartige Sequenzen hybridisieren und als leistungsstarke Ergänzung zur zytogenetischen Analyse der G-Bänderung dienen. Diese Technik kann nun als wesentliches Untersuchungsinstrument bei der Chromosomenanalyse im pränatalen und hämatologischen Bereich sowie bei der Analyse von soliden Tumoren eingesetzt werden. Die Ziel-DNA steht nach Fixierung und Denaturierung

für die Bindung an eine ähnlich denaturierte, fluoreszierend markierte DNA-Sonde zur Verfügung, die eine komplementäre Sequenz aufweist. Nach der Hybridisierung wird die ungebundene und unspezifisch gebundene DNA-Sonde entfernt und zwecks Visualisierung eine Gegenfärbung der DNA vorgenommen. Mittels Fluoreszenzmikroskopie wird dann die hybridisierte Sonde im Zielmaterial visualisiert.

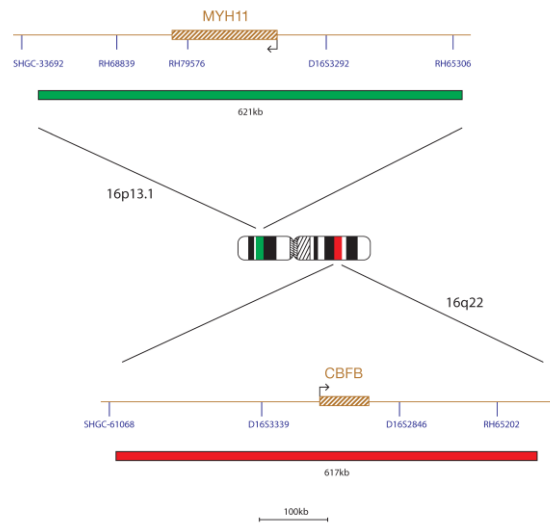
Informationen zur Sonde

Das *CBFB*-Gen (Kern-Bindungsfaktor Beta Untereinheit) befindet sich an 16q22, das *MYH11*-Gen (Myosin-Schwerkette 11) befindet sich an 16p13.1. Aus der Inversion *inv(16)(p13.1;q22)* und der Translokation *t(16;16)(p13.1;q22)* entsteht das Fusionsgen *CBFB::MYH11*. Bei der akuten myeloischen Leukämie mit *CBFB::MYH11* handelt es sich laut Klassifikationskriterien der Weltgesundheitsorganisation (WHO) um eine eigenständige Erkrankung¹. Dieser AML-Typ tritt in 5–8 % der Fälle bei jüngeren erwachsenen Patienten auf und nimmt bei älteren Erwachsenen an Häufigkeit ab¹. Die Inversion *inv(16)(p13.1;q22)* ist die häufigste zytogenetische Veränderung, die bei ~ 95 % der *CBFB::MYH11*-Patienten festgestellt wird¹. Die Prognose von AML mit *CBFB::MYH11* ist günstig, mit langfristigen Überlebensraten von ~ 50 % bei Erwachsenen^{1,2}.

Spezifikation der Sonde

CBFB, 16q22, Rot
MYH11, 16p13.1, Grün

CMP-H077 v005.00



Die rot markierte *CBFB*-Sonde deckt eine 617-kb-Region innerhalb 16q22 ab und beinhaltet das *CBFB*-Gen. Die grün markierte *MYH11*-Sonde deckt eine 621-kb-Region innerhalb 16p13.1 ab und beinhaltet das *MYH11*-Gen.

Bereitgestelltes Material

Sonde: 50 µL pro Ampulle (5 Tests) oder 100 µL pro Ampulle (10 Tests)
Die Sonden werden in Hybridisierungslösung (< 65 % Formamid, < 20 mg Dextransulfat, < 10 % des 20x Kochsalz-Natriumcitrat (SSC)) vorgemischt bereitgestellt und sind gebrauchsfertig.

Gegenfärbung: 150 µL pro Ampulle (15 Tests)

Für die Gegenfärbung wird DAPI Antifade ES verwendet (0,125 µg/mL DAPI (4,6-Diamidino-2-phenylindol) in Glycerin-basiertem Fixiermittel).

Warn- und Sicherheitshinweise

- Nur für den Einsatz in der *In-vitro*-Diagnostik. Nur für den professionellen Gebrauch im Labor.
- Sondenmixturen enthalten Formamid, dabei handelt es sich um ein Teratogen. Dämpfe nicht einatmen und Hautkontakt vermeiden. Gehen Sie vorsichtig vor; tragen Sie Handschuhe und einen Laborkittel.
- Gehen Sie beim Umgang mit DAPI vorsichtig vor; tragen Sie Handschuhe und einen Laborkittel.
- Verwenden Sie keine Ampulle/n, die auf irgendeine Weise beschädigt oder kompromittiert ist/sind.
- Hinweise zur sicheren Entsorgung dieses Produkts finden Sie in den für Ihren Standort geltenden örtlichen Entsorgungsvorschriften sowie den Empfehlungen im Sicherheitsdatenblatt. Dies gilt auch für beschädigte Testkit-Inhalte.
- Entsorgen Sie alle gebrauchten Reagenzien und alle anderen kontaminierten Einwegmaterialien gemäß den Verfahren für infektiösen oder potenziell infektiösen Abfall. Es liegt in der Verantwortung jedes Labors, feste und flüssige Abfälle entsprechend ihrer Art und ihrem Gefährlichkeitsgrad zu handhaben und sie gemäß den geltenden Vorschriften zu behandeln und zu entsorgen (oder behandeln und entsorgen zu lassen).
- Die Nutzer müssen in der Lage sein, zwischen den Farben Rot, Blau und Grün zu unterscheiden.
- Die Nichteinhaltung des vorgegebenen Protokolls oder die Nichtnutzung der Reagenzien kann sich nachteilig auf die Leistung auswirken und zu falsch positiven/negativen Ergebnissen führen.
- Die Sondenflüssigkeit sollte nicht verdünnt oder mit anderen Sondenflüssigkeiten gemischt werden.

DS555/CE-de v001/2023-11-15 (H077 v5)

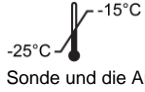
Seite 1 von 6

- Werden während der Prä-Denaturierungsphase nicht 10 µL der Sonde benutzt, so kann sich das nachteilig auf die Leistung auswirken und zu falsch positiven/negativen Ergebnissen führen.
- Alle Produkte sind vor dem Gebrauch zu validieren.
- Es sollten interne Kontrollen an den nicht betroffenen Zellpopulationen der Testproben durchgeführt werden.

Temperaturdefinitionen

- 20 °C / Gefroren / Im Gefrierschrank: -25 °C bis -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Raumtemperatur (RT): +15 °C bis +25 °C

Lagerung und Handhabung

 Das Kit ist bei Temperaturen zwischen -25 °C und -15 °C in einem Gefrierschrank aufzubewahren, bis das Ablaufdatum, das auf dem Etikett des Kits angegeben ist, erreicht wurde. Die Sonde und die Ampullen mit der Gegenfärbung sind im Dunkeln zu lagern.



Die FISH-Sonde, DAPI-Antifade-ES-Gegenfärbelösung und Hybridisierungslösung bleiben während der Frost-Tau-Zyklen, die im regulären Gebrauch auftreten, stabil (dabei besteht ein Zyklus jeweils aus der Entnahme der Ampulle aus dem Gefrierschrank und dem Austausch der Ampulle im Gefrierschrank) – 5 Zyklen für die 50-µL-Ampulle der

FISH-Sonde (5 Tests), 10 Zyklen für die 100-µL-Ampulle der FISH-Sonde (10 Tests) und 15 Zyklen für die 150-µL-Ampulle der Gegenfärbelösung (15 Tests). Die Lichteinstrahlung sollte minimiert, und wenn möglich vermieden werden. Lagern Sie die Komponenten in dem mitgelieferten lichtdichten Behälter. Komponenten, die unter anderen als den auf dem Etikett angegebenen Bedingungen verwendet und gelagert werden, funktionieren möglicherweise nicht wie erwartet und können die Testergebnisse negativ beeinflussen. Es müssen alle Anstrengungen unternommen werden, um die Exposition gegenüber Licht- und Temperaturschwankungen zu begrenzen.

Benötigte Geräte und Materialien, die nicht zum Lieferumfang gehören

Es müssen kalibrierte Geräte verwendet werden:

- Heizplatte (mit einer festen Platte und einer präzisen Temperaturregelung bis 80 °C)
- Kalibrierte Mikropipetten und Spitzen mit variablem Volumen von 1 µL–200 µL
- Wasserbad mit präziser Temperaturregelung bei 37 °C und 72 °C
- Mikrozentrifugenröhrchen (0,5 mL)
- Fluoreszenzmikroskop (bitte beachten Sie dazu den Abschnitt „Empfehlungen zum Fluoreszenzmikroskop“)
- Phasenkontrastmikroskop
- Saubere Coplin-Gefäße aus Kunststoff, Keramik oder hitzebeständigem Glas
- Pinzette
- Kalibriertes pH-Messgerät (oder pH-Indikatorstreifen für die Messung von pH-Werten zwischen 6,5–8,0)
- Befeuchteter Behälter
- Immersionsöl für das Objektiv des Fluoreszenzmikroskops
- Laborzentrifuge
- Objekträger
- 24 x 24 mm Deckgläser
- Zeitmesser
- 37 °C Inkubator
- Kleber auf Gummibasis
- Vortexmischer
- Messzylinder
- Magnetrührer
- Kalibriertes Thermometer

Optionale Ausrüstung, die nicht zum Lieferumfang gehört

- Zytogenetische Trocknungskammer

Benötigte Reagenzien, die nicht zum Lieferumfang gehören

- 20x Kochsalz-Natriumcitrat(SSC)-Lösung
- 100 % Ethanol
- Tween-20
- 1M Natriumhydroxid (NaOH)
- 1M Salzsäure (HCl)
- Destilliertes Wasser

Empfehlungen zum Fluoreszenzmikroskop

Benutzen Sie eine 100-Watt-Quecksilberlampe oder eine gleichwertige Lampe sowie 60/63x oder 100x Plan-Apochromate-Objektive für eine optimale Visualisierung. Die Fluorophore, die in diesem SONDENSET verwendet werden, werden bei folgenden Wellenlängen angeregt und emittiert:

Fluorophor	Erregung _{max} [nm]	Aussendung _{max} [nm]
DAPI	364	454
Türkis	418	467
Grün	495	521
Rot	596	615
Gold	539	561
Orange	551	572

Achten Sie auf eine angemessene Anregung und stellen Sie sicher, dass das Mikroskop mit Emissionsfiltern ausgestattet ist, welche die oben aufgeführten Wellenlängen abdecken.

Verwenden Sie einen dreifachen Bandfilter DAPI/grünes Spektrum/rotes Spektrum oder einen zweifachen Bandfilter grünes Spektrum/rotes Spektrum, um eine optimale gleichzeitige Visualisierung der grünen und roten Fluorophore zu gewährleisten.

Überprüfen Sie das Fluoreszenzmikroskop vor dem Gebrauch, um sich von seiner einwandfreien Funktion zu überzeugen. Verwenden Sie Immersionsöl, das für die Fluoreszenzmikroskopie geeignet ist und aufgrund seiner Formulierung eine geringe Autofluoreszenz aufweist. Mischen Sie DAPI-Antifade nicht mit Mikroskop-Immersionsöl, da dadurch die Signale verdeckt werden können. Befolgen Sie hinsichtlich der Lebensdauer der Lampe und der Anwendungsdauer der Filter die Empfehlungen der Hersteller.

Vorbereitung der Probe

Das Kit ist für den Einsatz auf hämatologisch gewonnenen Zellsuspensionen von Patienten mit bestätigter oder vermuteter akuter myeloischer Leukämie (AML) konzipiert, die mit Carnoy'scher Lösung (3:1 Methanol/Essigsäure) fixiert sind und nach den Richtlinien des Labors oder des Instituts vorbereitet werden. Bereiten Sie lufttrocknende Proben nach den zytogenetischen Standardverfahren auf Objekträgern vor. Das AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* enthält Empfehlungen für die Sammlung, Kultivierung und Entnahme von Proben sowie die Präparation der Objekträger².

Vorbereitung der Lösung

Ethanollösungen

Verdünnen Sie 100 % Ethanol unter Berücksichtigung der folgenden Mischverhältnisse mit destilliertem Wasser und mischen Sie die Lösung gründlich durch:

- 70 % Ethanol – 7 Teile 100 % Ethanol auf 3 Teile destilliertes Wasser
 - 85 % Ethanol – 8,5 Teile 100 % Ethanol auf 1,5 Teile destilliertes Wasser
- Lagern Sie die Lösung bis zu 6 Monate bei Raumtemperatur in einem luftdichten Behälter.

2x SSC-Lösung

Verdünnen Sie 1 Teil 20x SSC-Lösung mit 9 Teilen destilliertem Wasser und mischen Sie die Lösung gründlich durch. Messen Sie den pH-Wert und korrigieren Sie diesen nach Bedarf mit NaOH oder HCl auf einen pH-Wert von 7,0. Lagern Sie die Lösung bis zu 4 Wochen bei Raumtemperatur in einem luftdichten Behälter.

0,4x SSC-Lösung

Verdünnen Sie 1 Teil 20x SSC-Lösung mit 49 Teilen destilliertem Wasser und mischen Sie die Lösung gründlich durch. Messen Sie den pH-Wert und korrigieren Sie diesen nach Bedarf mit NaOH oder HCl auf einen pH-Wert von 7,0. Lagern Sie die Lösung bis zu 4 Wochen bei Raumtemperatur in einem luftdichten Behälter.

2x SSC-, 0,05 % Tween-20-Lösung

Verdünnen Sie 1 Teil 20x SSC-Lösung mit 9 Teilen destilliertem Wasser. Fügen Sie 5 µL Tween-20 auf 10 mL hinzu und mischen Sie die Lösung gründlich durch. Messen Sie den pH-Wert und korrigieren Sie diesen nach Bedarf mit NaOH oder HCl auf einen pH-Wert von 7,0. Lagern Sie die Lösung bis zu 4 Wochen bei Raumtemperatur in einem luftdichten Behälter.

FISH-Protokoll

(Hinweis: Stellen Sie sicher, dass die Exposition der Sonde und der Gegenfärbung gegenüber den Laborlampen stets begrenzt ist.)

Vorbereitung des Objekträgers

- Leuchten Sie die Zellprobe auf einem Objekträger aus Glas aus. Lassen Sie den Objekträger trocknen. (Optional, bei Verwendung einer zytogenetischen Trocknungskammer: Die Kammer sollte bei etwa 25 °C und 50 % Luftfeuchtigkeit betrieben werden, um eine optimale Ausleuchtung der Zellproben sicherzustellen. Steht keine zytogenetische Trocknungskammer zur Verfügung, so kann alternativ auch ein Dunstabzug verwendet werden.)
- Tauchen Sie den Objekträger 2 Minuten lang bei Raumtemperatur (RT) in 2x SSC, ohne die Lösung dabei zu schütteln.
- In einer Ethanolserie (70 %, 85 % und 100 %) jeweils 2 Minuten bei RT dehydrieren.
- Lassen Sie den Objekträger trocknen.

Prä-Denaturierung

- Entnehmen Sie die Sonde aus dem Gefrierschrank und erwärmen Sie diese auf RT. Die Röhrchen vor dem Gebrauch kurz zentrifugieren.
- Stellen Sie sicher, dass die Sondenlösung mit einer Pipette gleichmäßig durchgemischt wird.
- Entnehmen Sie jeweils 10 µL Sondenflüssigkeit pro Test und geben Sie diese Menge in ein Mikrozentrifugenröhrchen. Geben Sie die verbleibende Sonde schnell wieder zurück in den Gefrierschrank.
- Platzieren Sie die Sonde und den Objekträger mit der Probe zum Vorwärmen 5 Minuten lang auf einer Heizplatte mit einer Temperatur von 37 °C (+/- 1 °C).
- Tröpfeln Sie 10 µL des Sondenmischs auf die Zellprobe und setzen Sie vorsichtig ein Deckglas darauf. Verschließen Sie das Gefäß mit Kleber auf Gummibasis und lassen Sie den Kleber vollständig trocknen.

Denaturierung

10. Denaturieren Sie die Probe und die Sonde gleichzeitig, indem Sie den Objektträger 2 Minuten lang auf einer Heizplatte auf eine Temperatur von 75 °C (+/- 1 °C) erhitzen.

Hybridisierung

11. Platzieren Sie den Objektträger über Nacht in einem feuchten, luftdichten Behälter bei einer Temperatur von 37 °C (+/- 1 °C).

Spülgänge nach der Hybridisierung

- Entnehmen Sie die DAPI-Lösung aus dem Gefrierschrank und erwärmen Sie diese auf RT.
- Nehmen Sie das Deckglas ab und entfernen Sie vorsichtig etwaige Kleberrückstände.
- Tauchen Sie den Objektträger 2 Minuten lang bei einer Temperatur von 72 °C (+/- 1 °C) ohne Schütteln in 0,4x SSC (pH 7,0) ein.
- Den Objektträger abtropfen lassen und bei RT (pH 7,0) 30 Sekunden lang ohne Schütteln in 2x SSC, 0,05 % Tween-20 eintauchen.
- Den Objektträger trocknen lassen und 10 µL DAPI Antifade auf jede Probe aufbringen.
- Ein Deckglas aufsetzen, etwaige Blasen entfernen und 10 Minuten abwarten, während sich die Farbe im Dunkeln entwickelt.
- Unter einem Fluoreszenzmikroskop betrachten (bitte beachten Sie den Abschnitt **Empfehlungen zum Fluoreszenzmikroskop**).

Empfehlungen zur Vorgehensweise

- Die Ofenbehandlung oder Aushärtung von Objektträgern kann die Signalfluoreszenz reduzieren.
- Die Hybridisierungsbedingungen können beeinträchtigt werden, wenn andere Reagenzien als die verwendet werden, die durch Cytocell Ltd. zur Verfügung gestellt oder empfohlen werden.
- Verwenden Sie ein kalibriertes Thermometer, um die Temperatur von Lösungen, Wasserbädern und Inkubatoren zu messen, da diese für eine optimale Produktleistung eine entscheidende Rolle spielen.
- Die Waschkonzentrationen, der pH-Wert und die Temperaturen sind wichtig, da eine geringe Stringenz zu einer unspezifischen Bindung der Sonde führen kann und eine zu hohe Stringenz ein fehlendes Signal verursachen kann.
- Eine unvollständige Denaturierung kann zu einem fehlenden Signal führen, eine übermäßige Denaturierung dagegen auch zu unspezifischer Bindung.
- Eine übermäßige Hybridisierung kann zu zusätzlichen oder unerwarteten Signalen führen.
- Anwender sollten das Protokoll für ihre eigenen Proben optimieren, bevor sie den Test für diagnostische Zwecke einsetzen.
- Suboptimale Bedingungen können zu einer unspezifischen Bindung führen, die fälschlicherweise als Sondersignal interpretiert werden kann.

Auswertung der Ergebnisse

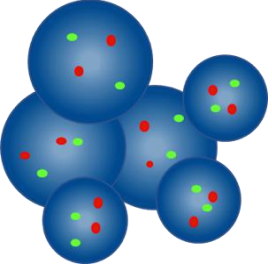
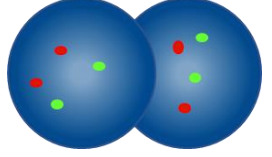
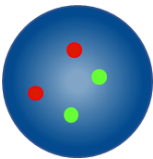
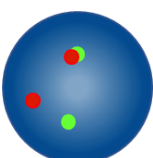
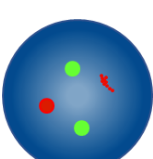
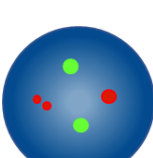
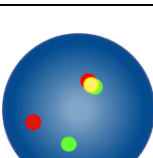
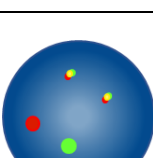
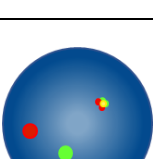
Beurteilung der Objektträgerqualität

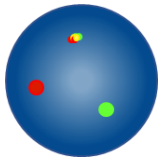
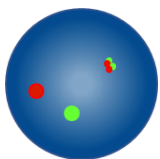
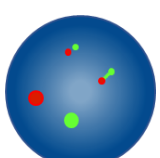
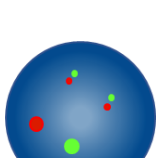
Der Objektträger sollte nicht analysiert werden, falls Folgendes zutrifft:

- Die Signale sind zu schwach für eine Analyse in Einzelfiltern – um die Analyse fortzusetzen, sollten Signale hell, deutlich und leicht auswertbar sein.
- Es gibt eine große Anzahl von verklumpten/überlappenden Zellen, welche die Analyse stören.
- > 50 % der Zellen sind nicht hybridisiert.
- Es gibt einen Überschuss an fluoreszierenden Partikeln zwischen den Zellen und/oder einen fluoreszierenden Schleier, der die Signale stört – bei einem optimalen Objektträger sollte der Hintergrund dunkel oder schwarz und sauber aussehen.
- Die Zellkerngrenzen sind nicht eindeutig erkennbar und nicht intakt.

Analyseleitlinien

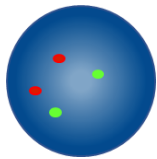
- Jede Probe sollte von zwei Analytikern analysiert und ausgewertet werden. Etwaige Unstimmigkeiten sind durch die Auswertung durch einen dritten Analytiker zu klären.
- Jeder Analytiker muss über eine angemessene Qualifikation verfügen, die den anerkannten nationalen Standards entspricht.
- Jeder Analytiker sollte unabhängig voneinander 100 Kerne für jede Probe bewerten. Der erste Analytiker sollte mit seiner Analyse auf der linken Seite des Objektträgers beginnen, der zweite Analytiker auf der rechten Seite.
- Jeder Analytiker sollte seine Ergebnisse in separaten Tabellen dokumentieren.
- Analysieren Sie nur intakte Kerne, keine überlappenden oder überfüllten Kerne und keine Kerne, die mit zytoplasmatischen Ablagerungen bedeckt sind oder einen hohen Autofluoreszenzgrad aufweisen.
- Meiden Sie Bereiche, in denen übermäßige zytoplasmatische Ablagerungen oder unspezifische Hybridisierung vorhanden sind.
- Die Signalintensität kann variieren, das gilt auch für einzelne Kerne. Verwenden Sie in solchen Fällen Einzelfilter und/oder passen Sie die Bildebene entsprechend an.
- Unter suboptimalen Bedingungen können Signale diffus erscheinen. Wenn sich zwei Signale der gleichen Farbe berühren oder der Abstand zwischen ihnen nicht größer als zwei Signalbreiten ist, oder wenn ein schwacher Strang vorhanden ist, der die beiden Signale verbindet, zählen diese beiden Signale jeweils als ein Signal.
- Falls Sie Zweifel haben, ob eine Zelle für die Analyse infrage kommt oder nicht, analysieren Sie diese Zelle nicht.

Analyseleitlinien	
	Nicht zählen – Kerne sind zu nah beieinander, um die Grenzen zu bestimmen
	Überlappende Kerne nicht zählen – es sind nicht alle Bereiche beider Kerne sichtbar
	Erwartetes normales Signalmuster (2R2G)
	Normales Signalmuster (2R2G) – ein rotes und ein grünes Signal werden gleichzeitig lokalisiert
	Normales Signalmuster (2R2G) – eines der beiden roten Signale ist diffus
	Normales Signalmuster (2R2G) – die Lücke in einem roten Signal ist kleiner als zwei Signalbreiten
	Normales Signalmuster (2R2G) – ein rotes und ein grünes Signal werden gleichzeitig lokalisiert
	Erwartetes abnormales Signalmuster (1R1G2F) – rote und grüne Fusionssignale sind proportional kleiner
	Erwartetes abnormales Signalmuster (1R1G2F) – gleichzeitig lokalisierte Fusionssignale

	Erwartetes abnormales Signalmuster (1R1G2F) – gleichzeitig lokalisierte Fusionssignale
	Erwartetes abnormales Signalmuster (1R1G2F) – zwei Fusionssignale nebeneinander
	Als ein rotes, ein grünes und zwei Fusionssignale zählen - ein Fusionssignal ist diffus
	Als ein rotes, ein grünes und zwei Fusionssignale zählen – der Abstand zwischen dem roten und grünen Signal in den Fusionen ist kleiner als zwei Sondenbreiten und die roten und grünen Fusionssignale sind proportional kleiner

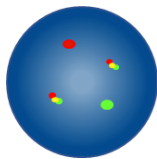
Erwartete Ergebnisse

Erwartetes normales Signalmuster



In einer normalen Zelle werden zwei rote und zwei grüne Signale (2R2G) erwartet

Erwartete abnormale Signalmuster



In einer Zelle mit Inv(16)(p13.1;q22) oder t(16;16)(p13.1;q22) entspricht das erwartete Signalmuster einem roten, einem grünen und zwei Fusionssignalen (1R1G2F).

Andere Signalmuster sind bei aneuploiden/unausgewogenen Proben möglich.

Bekannte relevante Interferenzen/Störsubstanzen

Keine bekannten relevanten Interferenzen/Störsubstanzen.

Bekannte Kreuzreaktionen

Keine bekannten Kreuzreaktionen.

Meldung schwerer Störungen

Bei einem Patienten, einem Benutzer oder einer Drittpartei in der Europäischen Union und in Ländern mit identischen regulatorischen Bestimmungen (EU-Verordnung 2017/746 zu Medizinprodukten für die *In-vitro*-Diagnostik) gilt: Falls es während der Verwendungen dieses Produkts oder aufgrund der Verwendung dieses Produkts zu einer schweren Störung kommt, dann melden Sie diese bitte dem Hersteller und der in Ihrem Land zuständigen Behörde.

Bei schweren Störungen in anderen Ländern gilt: Melden Sie die Störung bitte dem Hersteller und, sofern zutreffend, der in dem Land zuständigen Behörde.

Ansprechpartner des Herstellers für Vigilanz: vigilance@ogt.com

Eine Liste der für Vigilanz zuständigen Ansprechpartner für die Behörden der EU-Mitgliedsländer finden Sie unter:

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

Spezifische Leistungsmerkmale

Analytische Spezifität

Analytische Spezifität bezeichnet den Prozentsatz der Signale, die im richtigen Locus und an keinem anderen Ort hybridisiert wurden. Es wurden zwei chromosomale Loci in jeder der zwanzig Metaphasezellen aus fünf Proben analysiert, das ergibt 200 Datenpunkte. Die Position jeder hybridisierten Sonde wurde abgebildet und die Anzahl der FISH-Signale der Metaphase-Chromosomen, die am richtigen Ort hybridisiert wurden, wurde aufgezeichnet.

Die analytische Spezifität jedes Produkts wurde berechnet, indem die Anzahl der FISH-Signale der Metaphase-Chromosomen, die am richtigen Locus hybridisiert wurden, durch die Gesamtzahl der hybridisierten FISH-Signale der Metaphase-Chromosomen dividiert wurde. Dieses Ergebnis wurde mit 100 multipliziert, als Prozentsatz ausgedrückt und mit einem 95 % Konfidenzintervall angegeben.

Tabelle 1. Analytische Spezifität der CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Ziel	Anzahl der hybridisierten Metaphase-Chromosomen	Anzahl der korrekt hybridisierten Loci	Analytische Spezifität	95 % Konfidenzintervall
16q22	200	200	100 %	98,12 %–100 %
16p13.1	200	200	100 %	98,12 %–100 %

Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität ist der Prozentsatz der auswertbaren Zellen in der Interphase, die das erwartete normale Signalmuster aufweisen. Für jede der 25 Knochenmarksproben wurden jeweils mindestens 200 Zellen in der Interphase analysiert, sodass für jeden Probentyp mindestens 5.000 Kerne ausgewertet wurden. Die Sensitivitätsdaten wurden basierend auf dem Prozentsatz der Zellen analysiert, die ein normales erwartetes Signalmuster aufweisen, und als Prozentsatz mit einem 95 % Konfidenzintervall ausgedrückt.

Tabelle 2. Analytische Sensitivität der CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Probentyp	Sensitivitätskriterien	Sensitivitätsergebnis
Knochenmark	> 95 %	98,94 % (98,59 %–99,29 %)

Charakterisierung der normalen Cut-off-Werte

Der normale Cut-off-Wert wird definiert als der Prozentsatz der Zellen, die ein falsch positives Signalmuster aufweisen, bei dem eine Person als gesund angesehen wird und das nicht mit einer klinischen Diagnose übereinstimmt. Für jede der 1.300 Knochenmarksproben wurden jeweils mindestens 200 Zellen in der Interphase analysiert, d. h. für jeden Probentyp wurden mindestens 260.000 Kerne ausgewertet.

Der Cut-off-Wert wurde mit der Funktion β -inverse (BETAINV) in MS Excel ermittelt. Er wurde berechnet als Prozentsatz der Zellen in der Interphase, die ein falsch positives Signalmuster unter Verwendung der oberen Grenze eines einseitigen 95 % Konfidenzintervalls der Binomialverteilung in einer normalen Patientenprobe aufweisen.

Tabelle 3. Charakterisierung der normalen Cut-off-Werte der CBFβ(CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Probentyp	Cut-off-Ergebnis
Knochenmark	2,3 %

Labore müssen die Cut-off-Werte anhand eigener Daten überprüfen^{4,5}.

Reproduzierbarkeit

Studien zur Reproduzierbarkeit wurden durchgeführt, um folgende Werte zu ermitteln:

- Reproduzierbarkeit innerhalb eines Tages (Probe zu Probe) an 3 Standorten
- Reproduzierbarkeit an verschiedenen Tagen (Tag zu Tag) an 3 Standorten
- Reproduzierbarkeit zwischen den 3 Standorten (Standort zu Standort)
- Reproduzierbarkeit in verschiedenen Charge (Charge zu Charge) an einem einzigen Standort

Die Reproduzierbarkeit wurde durch drei unabhängige Labore nachgewiesen, die sechs verblindete Proben untersuchten (zwei ohne Neuordnung, zwei schwach positive mit dem 1- bis 3-fachen Cut-off-Wert und zwei stark positive Proben, in denen mehr als 45 % der Zellen positiv auf die Neuordnung getestet wurden). Die Analyse wurde durchgeführt, indem an fünf nicht aufeinanderfolgenden Tagen jeweils zwei Kopien jeder Probe untersucht wurden.

Alle drei Standorte führten Tests innerhalb eines Tages, an mehreren Tagen und standortübergreifend mit der gleichen Sondencharge durch, während einer der Standorte auch die Reproduzierbarkeit in verschiedenen Chargen mit drei verschiedenen Sondenchargen untersuchte.

Die Ergebnisse wurden als allgemeine Übereinstimmung mit der prognostizierten negativen Klasse (für die negativen Proben) und der prognostizierten positiven Klasse (für die positiven Proben) präsentiert.

Tabelle 4a. Reproduzierbarkeit und Präzision der CBFβ (CBFB)/MYH11

Variable	Probentyp	Übereinstimmung
Reproduzierbarkeit innerhalb eines Tages (Probe zu Probe), an verschiedenen Tagen (Tag zu Tag) und an verschiedenen Standorten (Standort zu Standort)	Knochenmark negativ	100 %
	Knochenmark schwach positiv	35 %
	Knochenmark stark positiv	100 %
Reproduzierbarkeit in verschiedenen Chargen (Charge zu Charge)	Knochenmark negativ	100 %
	Knochenmark schwach positiv	33 %
	Knochenmark stark positiv	100 %

Zur Ergänzung der niedrig-positiven Ergebnisse wurde eine zusätzliche Reproduzierbarkeitsstudie durchgeführt, bei der zwei Proben mit unterschiedlichen niedrigen Positivitätsgraden (2-facher und 4-facher Cut-off-Wert) und zwei negative Proben verwendet wurden, um Folgendes festzustellen:

- Reproduzierbarkeit innerhalb eines Tages (Probe zu Probe) an einem 1 Standort
- Reproduzierbarkeit an verschiedenen Tagen (Tag zu Tag) an 1 Standort
- Reproduzierbarkeit zwischen verschiedenen Nutzern (Nutzer zu Nutzer) an 1 Standort

Die Reproduzierbarkeit wurde mit einer Charge der Sonde an zwei Replikaten jeder Probe ermittelt, die an fünf nicht aufeinanderfolgenden Tagen von zwei verschiedenen Untersuchern getestet wurden.

Die Ergebnisse wurden als allgemeine Übereinstimmung mit der prognostizierten positiven Klasse (für die positiven Proben) präsentiert.

Tabelle 4b. Zusätzliche unterstützende Daten zur Reproduzierbarkeit und Präzision der CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variable	Probentyp	Übereinstimmung
Reproduzierbarkeit innerhalb eines Tages (Probe zu Probe), an verschiedenen Tagen (Tag zu Tag) und zwischen verschiedenen Nutzern (Nutzer zu Nutzer)	Knochenmark schwach positiv (2-facher Cut-off-Wert)	100 %
	Knochenmark schwach positiv (4-facher Cut-off-Wert)	100 %

Klinische Leistung

Um sicherzustellen, dass die CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe die beabsichtigten Neuarrangements nachweist, klinische Leistungsfähigkeit wurde in vier (4) Studien an repräsentativen Proben der für das Produkt vorgesehenen Population ermittelt: Restmaterial mit Methanol/Essig-Fixierung im Verhältnis 3:1. Diese Studien hatten eine kombinierte Stichprobengröße von dreihundertdreißig (393) Proben, mit insgesamt achtundzwanzig (28) positiven Proben und dreihundertfünfundsiebzig (365) negativen Proben. Die Ergebnisse wurden mit dem bekannten Status der Probe verglichen. Die Konkordanz/Diskordanz der Ergebnisse entsprach den Akzeptanzkriterien für diese Studie. Die Ergebnisse dieser Tests wurden analysiert, um mit einem eindimensionalen Ansatz klinische Sensitivität, klinische Spezifität und die Werte der Falsch-Positiv-Rate (FPR) für positive Signale zu bestimmen.

Tabelle 5. Klinische Leistung der CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variable	Ergebnis
Klinische Sensitivität (Richtig-Positiv-Rate, TPR)*	98,76 %
Klinische Spezifität (Richtig-Negativ-Rate, TNR)*	99,52 %
Falsch-Positiv-Rate (FPR) = 1 – Spezifität*	0,48 %

Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung (SSP)

Die SSP wird der Öffentlichkeit über die europäische Datenbank für Medizinprodukte (Eudamed) zugänglich gemacht, wo sie mit der Basis-UDI-DI verknüpft ist.

Eudamed URL: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Basis-UDI-DI: 50558449LPH022J9

Wenn Eudamed nicht voll funktionsfähig ist, wird der SSP der Öffentlichkeit auf Anfrage per E-Mail an SSP@ogt.com zur Verfügung gestellt.

Zusätzliche Informationen

Für weitere Produktinformationen wenden Sie sich bitte an den technischen Support von CytoCell.

Tel.: +44 (0)1223 294048


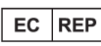












E-Mail: techsupport@cytoCELL.com

Website: www.ogt.com

Referenzen

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.

Symbolerklärung

EN ISO 15223-1:2021 – „Medizinprodukte – Symbole, die in Verbindung mit vom Hersteller bereitzustellenden Informationen zu verwenden sind – Teil 1: Allgemeine Anforderungen“ (© International Organization for Standardization)		
Symbol	Titel	Referenznummer(n)
	de: Hersteller	5.1.1
	de: Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft / Europäischen Union	5.1.2
	de: Verfallsdatum	5.1.4
	de: Chargencode	5.1.5
	de: Katalognummer	5.1.6
	de: Vor Sonnenlicht schützen	5.3.2
	de: Temperaturgrenze	5.3.7
	de: Gebrauchsanweisung beachten	5.4.3
	de: Elektronische Gebrauchsanweisung beachten	5.4.3
	de: Vorsicht	5.4.4
	de: Medizinprodukt für die In-vitro-Diagnostik	5.5.1
	de: Menge reicht für <n> Tests	5.5.5
	de: Eindeutige Geräteerkennung	5.7.10
EDMA-Symbole für IVD-Reagenzien und Komponenten, Revision Oktober 2009		
Symbol	Titel	Referenznummer(n)
	de: Inhalt (oder enthält)	n. z.

Patente und Warenzeichen

CytoCell ist eine eingetragene Marke von CytoCell Limited.



CytoCell Limited

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

Tel.: +44 (0)1223 294048

Fax: +44 (0)1223 294986

E-Mail: probes@cytoCell.com

Website: www.ogt.com



Sysmex Europe SE

Bornbarch 1
22848 Norderstedt
DEUTSCHLAND

Tel.: +49 40 527260

Website: www.sysmex-europe.com

Versionshistorie der Gebrauchsanweisung

V001 2023-10-09: Neue Gebrauchsanweisung für EU-Verordnung 2017/746.