



A Sysmex Group Company



Gebruiksaanwijzing

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

CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe



ALLEEN VOOR PROFESSIONEEL GEBRUIK



Meer informatie en andere talen zijn beschikbaar via ogt.com/IFU

Gebruiksdoel

De CytoCell® CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe is een kwalitatieve, niet-geautomatiseerde, fluorescentie-*in-situ* hybridisatietest (FISH) die wordt gebruikt voor het detecteren van chromosoomherschikkingen tussen de gebieden 16p13.1 en 16q22 op chromosoom 16 in een Carnoy's oplossing (3:1 methanol/azijnzuur) met gefixeerde hematologisch verkregen celsuspensies van patiënten die vermoedelijk acute myeloïde leukemie (AML) hebben of daarmee zijn gediagnosticeerd.

Indicaties voor gebruik

Dit hulpmiddel is ontworpen als aanvulling op andere klinische en histopathologische tests in erkende diagnostische en klinische zorgtrajecten waarbij het voor de klinische behandeling van belang is om de translocatiestatus van *CBFB::MYH11* te weten.

Beperkingen

Dit hulpmiddel is ontworpen om herschikkingen met breekpunten te detecteren in het gebied dat wordt beslagen door de rode en groene klonen in deze sondeset, waaronder de gebieden *CBFB* en *MYH11*. Breekpunten buiten dit gebied of herschikkingen die geheel binnen dit gebied liggen, worden mogelijk niet gedetecteerd door dit hulpmiddel.

Dit hulpmiddel is niet bedoeld voor gebruik als enig of aanvullend diagnostisch criterium, prenatale tests, screening op basis van populatie, 'near-patient' tests of zelftests.

Dit hulpmiddel is niet gevalideerd voor monstertypen, ziektypen of doeleinden die niet worden gespecificeerd in het gebruiksdoel.

Het is bedoeld als aanvulling op andere diagnostische laboratoriumtests en er mag geen therapeutische actie worden ondernomen op basis van enkel het FISH-resultaat.

De rapportage en interpretatie van FISH-resultaten moet worden uitgevoerd door gekwalificeerd personeel, consistent zijn met professionele praktijknormen en er moet rekening worden gehouden met andere relevante testresultaten en klinische en diagnostische informatie.

Dit hulpmiddel is alleen bedoeld voor professioneel gebruik in laboratoria.

De prestaties van het hulpmiddel worden mogelijk beïnvloed als het protocol niet wordt opgevolgd. Dit kan ook leiden tot fout-positieve/fout-negatieve resultaten.

Testprincipes

Fluorescentie-*in-situ* hybridisatie (FISH) is een techniek waarmee DNA-sequenties kunnen worden gedetecteerd op metafase chromosomen of in interfase nuclei van gefixeerde cytogenetische monsters. De techniek maakt gebruik van DNA-sondes die hybridiseren tot hele chromosomen of enkele unieke sequenties en is een krachtige aanvulling op cytogenetische analyse met G-banding. Deze techniek kan nu worden toegepast als essentieel onderzoekshulpmiddel voor prenatale en hematologische chromosoomanalyse en chromosoomanalyse van solide tumoren. Doel-DNA is, na fixatie en denaturatie, beschikbaar voor vasthechting aan een soortgelijk gedenateerde en fluorescent gelabelde DNA-sonde die een

complementaire sequentie bevat. Na de hybridisatie worden niet-gebonden en niet-specifiek gebonden DNA-sondes verwijderd en wordt het DNA tegengekleurd ter visualisatie. De gehybridiseerde sonde op het doelmateriaal kan vervolgens worden gevisualiseerd met behulp van fluorescentiemicroscopie.

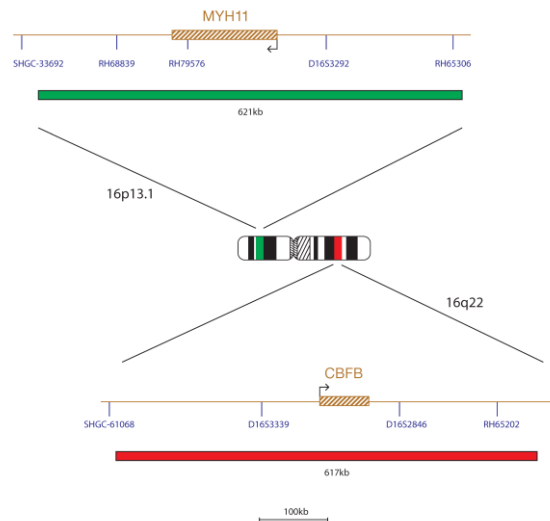
Sonde-informatie

Het *CBFB*-gen (kernbindende factor bèta-subeenheid) bevindt zich op 16q22 en het *MYH11*-gen (myosinezware keten 11) bevindt zich op 16p13.1. De inversie *inv(16)(p13.1q22)* en de translocatie *t(16;16)(p13.1;q22)* leiden tot het *CBFB::MYH11*-fusiegen. Acute myeloïde leukemie met *CBFB::MYH11*-fusie is een erkende ziekte-entiteit volgens de classificatie van de Wereldgezondheidsorganisatie¹. Dit type AML omvat 5-8% van de gevallen bij jongvolwassen patiënten en komt minder vaak voor bij oudere volwassenen¹. De *inv(16)(p13.1q22)* is de meest voorkomende cytogenetische wijziging die werd gedetecteerd bij ~95% van de *CBFB::MYH11*-patiënten¹. De prognose van AML met *CBFB::MYH11* is gunstig, met overlevingskansen op lange termijn van ~50% bij volwassenen^{1,2}.

Sondespecificatie

CBFB, 16q22, rood
MYH11, 16p13.1, groen

CMP-H077 v005.00



De *CBFB*-sonde, rood gemarkeerd, beslaat een gebied van 617 kb in 16q22 en omvat het *CBFB*-gen. De *MYH11*-sonde, groen gemarkeerd, beslaat een gebied van 621 kb in 16p13.1 en omvat het *MYH11*-gen.

Geleverde materialen

Sonde: 50 µL per buisje (5 tests) of 100 µL per buisje (10 tests)
De sondes worden gemengd geleverd in een hybridisatieoplossing (< 65% formamide; < 20 mg dextraansulfaat; < 10% van 20x zout-natriumcitraat (SSC)) en zijn klaar voor gebruik.

Tegenkleuring: 150 µL per buisje (15 tests)

De tegenkleuring is DAPI Antifade ES (0,125 µg/mL DAPI (4,6-diamidino-2-fenylindool) in een inbedmiddel op basis van glycerol).

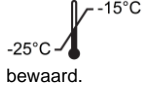
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

1. Voor *in-vitro* diagnostiek. Alleen voor professioneel gebruik in laboratoria.
2. De sondemengsels bevatten formamide. Dit is een teratogeen; adem de dampen niet in en voorkom huidcontact. Wees voorzichtig; draag handschoenen en een labjas.
3. Voorzichtigheid is geboden met de DAPI; draag handschoenen en een labjas.
4. Niet gebruiken als het/de buisje(s) zijn beschadigd of als de inhoud van de buisjes op wat voor manier dan ook is aangetast.
5. Houd u aan uw lokale regelgeving en raadpleeg de aanbevelingen in het veiligheidsinformatieblad om te bepalen hoe u dit product veilig kunt afvoeren. Dit geldt ook voor de inhoud van beschadigde testsets.
6. Voer alle gebruikte reagentia en alle overige besmette wegwerpmaterialen af volgens de procedures voor mogelijk infectieus afval. Elk laboratorium is ervoor verantwoordelijk dat vast en vloeibaar afval wordt verwerkt in overeenstemming met de desbetreffende eigenschappen en de mate van gevaar die ze vormen en om ze te behandelen en te (laten) afvoeren in overeenstemming met alle geldende wet- en regelgeving.
7. Gebruikers moeten de kleuren rood, blauw en groen kunnen onderscheiden.
8. De prestaties van het hulpmiddel worden mogelijk beïnvloed als het beschreven protocol niet wordt opgevolgd en de voorgeschreven reagentia niet worden gebruikt. Dit kan ook leiden tot foutpositieve/foutnegatieve resultaten.
9. De sonde mag niet worden verdund of gemengd met andere sondes.
10. De prestaties worden mogelijk beïnvloed als er geen sonde van 10 µL wordt gebruikt tijdens het pre-denaturatiestadium van het protocol. Dit kan ook leiden tot foutpositieve/foutnegatieve resultaten.
11. Alle producten moeten voor gebruik worden gevalideerd.
12. Er dienen interne inspecties plaats te vinden met gebruik van gezonde celpopulaties in testmonsters.

Temperatuurdefinities

- -20 °C / Bevroren / In de vriezer: -25 °C tot -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Kamertemperatuur (KT): +15 °C tot +25 °C

Opslag en beheer



De set moet worden bewaard in een vriezer bij -25 °C tot -15 °C tot de vervaldatum die is aangegeven op het setlabel. De sonde en buisjes met tegenkleuring moeten in het donker worden bewaard.



De FISH-sonde, DAPI Antifade ES-tegenkleuring en hybridisatieoplossing blijven stabiel gedurende de gehele vries-dooicyclus bij normaal gebruik (waarbij een cyclus bestaat uit het verwijderen van het buisje uit en vervangen in de vriezer) - 5 cycli voor het buisje met 50 µL (5 tests) FISH-sonde, 10 cycli voor het buisje met 100 µL (10 tests) FISH-sonde en 15 cycli voor het buisje met 150 µL (15 tests) tegenkleuring. Blootstelling aan licht dient zoveel mogelijk te worden vermeden. Bewaar de componenten in de bijgeleverde lichtdichte doos. Componenten die onder andere omstandigheden dan vermeld op het etiket worden gebruikt en opgeslagen, presteren mogelijk niet zoals verwacht en kunnen de testresultaten negatief beïnvloeden. Voorkom onnodige blootstelling aan licht en temperatuurschommelingen.

Benodigde maar niet meegeleverde materialen en apparatuur

Benodigde gekalibreerde apparatuur:

1. Verwarmingssplaat (met een vaste plaat en nauwkeurige temperatuurbediening tot maximaal 80 °C)
2. Gekalibreerde micropipetten en tips met variabel volume van 1 µL - 200 µL
3. Waterbad met nauwkeurige temperatuurbediening op 37 °C en 72 °C
4. Microcentrifugebuisjes (0,5 mL)
5. Fluorescentiemicroscop (zie de paragraaf Aanbevelingen fluorescentiemicroscop)
6. Fasecontrastmicroscop
7. Schone Coplin-potjes van kunststof, keramiek of hittebestendig glas
8. Tang
9. Gekalibreerde pH-meter (of pH-indicatorstrips die een pH-waarde van 6,5 - 8,0 kunnen meten)
10. Bevochtigde container
11. Immersie-olie van fluorescentieniveau voor microscoplenzen
12. Werkbladcentrifuge
13. Objectglasmaasjes
14. Afdekglaasmaasjes van 24x24 mm
15. Timer
16. 37 °C-incubator
17. Rubberen lijmoplossing
18. Vortexmenger
19. Maatcilinders
20. Magneetroerder
21. Gekalibreerde thermometer

Optionele maar niet meegeleverde apparatuur

1. Cytogenetische droogkamer

Benodigde maar niet meegeleverde reagentia

1. 20x SSC-oplossing (zout-natriumcitraat)
2. 100% ethanol
3. Tween-20
4. 1M natriumhydroxide (NaOH)
5. 1M zoutzuur (HCl)
6. Gezuiverd water

Aanbevelingen fluorescentiemicroscop

Gebruik een kwiklamp van 100 W of gelijkwaardig en planapochromatische objectieven voor olie-immersie van 60/63x of 100x voor optimale visualisatie. De fluoroforen die in deze sondeset worden gebruikt, worden geëxciteerd en uitgezonden bij de volgende golflengtes:

Fluorofoor	Excitatie _{max} [nm]	Emissie _{max} [nm]
DAPI	364	454
Blauw	418	467
Groen	495	521
Rood	596	615
Goud	539	561
Oranje	551	572

Zorg ervoor dat de juiste excitatie- en emissiefilters die de bovenstaande golflengtes beslaan op de microscop worden aangebracht.

Gebruik een drievoudige bandpassfilter voor DAPI/het groene spectrum/het rode spectrum of een tweevoudige bandpassfilter voor het groene/rode spectrum voor optimale gelijktijdige visualisatie van de groene en rode fluoroforen.

Controleer de fluorescentiemicroscop voorafgaand aan gebruik op een juiste werking. Gebruik immersie-olie die geschikt is voor fluorescentiemicroscopie en is

geformuleerd voor lage automatische fluorescentie. Vermijd het mengen van DAPI Antifade met microscopimmensie-olie, omdat dit signalen kan verstoren. Volg de richtlijnen van de fabrikant wat betreft de levensduur van de lamp en de filters.

Monstervoorbereiding

De set is ontworpen voor gebruik met Carnoy's oplossing (3:1 methanol/azijnzuur) met gefixeerde hematologisch verkregen celsuspensies van patiënten die vermoedelijk acute myeloïde leukemie (AML) hebben of daarmee zijn gediagnosticeerd, geprepareerd volgens de richtlijnen van het laboratorium of de instelling. Bereid aan de lucht gedroogde monsters voor op objectglasmaasjes volgens standaard cytogenetische procedures. De AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* bevat aanbevelingen voor het verzamelen, kweken en afnemen van monsters en voor het maken van objectglasmaasjes³.

Oplossingsvoorbereiding

Ethanoloplossingen

Verdun 100% ethanol met gezuiverd water volgens de volgende verhoudingen en meng grondig:

- 70% ethanol – 7 delen 100% ethanol op 3 delen gezuiverd water
- 85% ethanol – 8,5 delen 100% ethanol op 1,5 delen gezuiverd water

Bewaar de oplossingen maximaal 6 maanden op kamertemperatuur in een luchtdichte container.

2xSSC-oplossing

Verdun 1 deel 20xSSC-oplossing met 9 delen gezuiverd water en meng dit grondig. Controleer de pH-waarde en breng deze indien nodig met NaOH of HCl naar pH 7,0. Bewaar de oplossing maximaal 4 weken op kamertemperatuur in een luchtdichte container.

0,4xSSC-oplossing

Verdun 1 deel 20xSSC-oplossing met 49 delen gezuiverd water en meng dit grondig. Controleer de pH-waarde en breng deze indien nodig met NaOH of HCl naar pH 7,0. Bewaar de oplossing maximaal 4 weken op kamertemperatuur in een luchtdichte container.

Oplossing 2xSSC; 0,05% Tween-20

Verdun 1 deel 20xSSC-oplossing met 9 delen gezuiverd water. Voeg 5 µL Tween-20 per 10 mL toe en meng dit grondig. Controleer de pH-waarde en breng deze indien nodig met NaOH of HCl naar pH 7,0. Bewaar de oplossing maximaal 4 weken op kamertemperatuur in een luchtdichte container.

FISH-protocol

(Opmerking: zorg ervoor dat de sonde en tegenkleuring zo min mogelijk worden blootgesteld aan laboratoriumlampen).

Voorbereiding objectglasmaasjes

1. Plaats het celmonster op een glazen objectglasmaasje. Laat het opdrogen. **(Optioneel, bij gebruik van een cytogenetische droogkamer:** De kamer moet voor optimale bevestiging van het celmonster ongeveer 25 °C zijn en een luchtvochtigheid van 50% hebben. Gebruik een zuurkast als er geen cytogenetische droogkamer beschikbaar is).
2. Dompel het glasmaasje 2 minuten onder in 2xSSC op kamertemperatuur (KT) zonder het te bewegen.
3. Droog in een ethanolserie (70%, 85% en 100%), elk gedurende 2 minuten, op KT.
4. Laat het opdrogen.

Pre-denaturatie

5. Haal de sonde uit de vriezer en laat deze op KT komen. Centrifugeer de buisjes kort voorafgaand aan gebruik.
6. Zorg er met een pipet voor dat de sondeoplossing gelijkmatig is vermengd.
7. Verwijder 10 µL van de sonde per test en breng dit over naar een microcentrifugebuisje. Plaats de overgebleven sonde snel terug in de vriezer.
8. Plaats de sonde en het monsterglasmaasje op een verwarmingssplaat van 37 °C (+/- 1 °C) gedurende 5 minuten om voor te verwarmen.
9. Plaats 10 µL van het sondemengsel op het celmonster en plaats voorzichtig een afdekglaasje. Dicht het af met rubberen lijmoplossing en laat de lijm volledig opdrogen.

Denaturatie

10. Denatureer het monster en de sonde gelijktijdig door het objectiefglasmaasje te verwarmen op een verwarmingssplaat van 75 °C (+/- 1 °C) gedurende 2 minuten.

Hybridisatie

11. Plaats het glasmaasje gedurende de nacht in een vochtige lichtdichte container bij 37 °C (+/- 1 °C).

Post-hybridisatiespoelbeurten

12. Haal de DAPI uit de vriezer en laat deze op KT komen.
13. Verwijder het afdekglaasje en alle sporen van lijm voorzichtig.
14. Dompel het glasmaasje gedurende 2 minuten onder in 0,4xSSC (pH 7,0) bij 72 °C (+/- 1 °C) zonder het te bewegen.
15. Laat het glasmaasje afdruppen en dompel het 30 seconden onder in 2xSSC; 0,05% Tween-20 op KT (pH 7,0) zonder het te bewegen.
16. Laat het glasmaasje afdruppen en breng 10 µL DAPI Antifade aan op ieder monster.
17. Bedek het met een afdekglaasje, verwijder eventuele luchtballen en laat de kleur 10 minuten in het donker ontwikkelen.
18. Bekijk met een fluorescentiemicroscop (zie **Aanbevelingen fluorescentiemicroscop**).

Proceduraanbevelingen

1. Verhitten of verouderen van de glaasjes kan de signaalfluorescentie verminderen.
2. Hybridisatiecondities kunnen nadelig worden beïnvloed door het gebruik van reagentia die niet door Cytozell Ltd. worden geleverd of aanbevolen.
3. Gebruik een gekalibreerde thermometer om de temperatuur van oplossingen, waterbaden en incubators te meten, omdat deze temperaturen van cruciaal belang zijn voor optimale productprestaties.
4. De spoelingsconcentraties, pH en temperaturen zijn belangrijk, omdat te lage naleving kan leiden tot niet-specifiek binden van de sonde en te hoge naleving er toe kan leiden dat er geen signaal aanwezig is.
5. Niet-volledige denaturatie kan ertoe leiden dat er geen signaal aanwezig is en te veel denaturatie kan ook leiden tot niet-specifiek binden.
6. Te veel hybridisatie kan leiden tot aanvullende of onverwachte signalen.
7. Gebruikers dienen het protocol te optimaliseren voor de eigen monsters alvorens de test voor diagnostische doeleinden te gebruiken.
8. Suboptimale condities kunnen leiden tot niet-specifieke binding, wat verkeerd kan worden geïnterpreteerd als een sondesignaal.

Interpretatie van resultaten

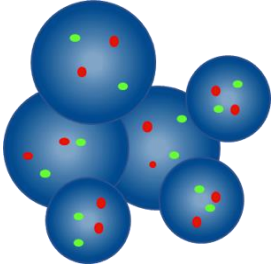
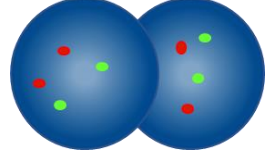
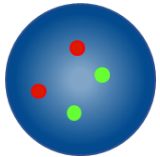
Glaasjeskwaliteit beoordelen

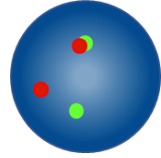
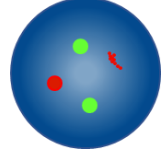
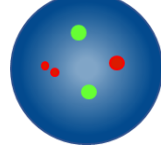
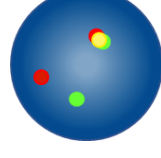
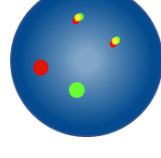
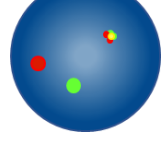
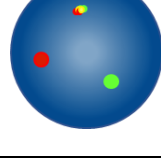
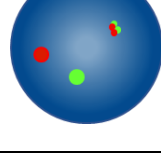
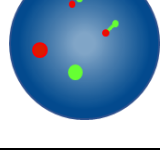
Het glaasje dient niet te worden geanalyseerd als:

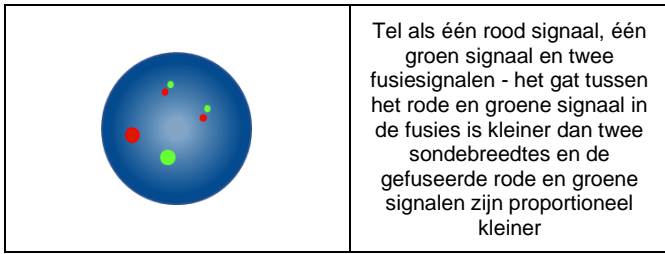
- De signalen te zwak zijn om in enkelvoudige filters te worden geanalyseerd – om door te kunnen gaan met de analyse moeten signalen helder, duidelijk en eenvoudig te evalueren zijn
- De analyse wordt belemmerd door een groot aantal samengeklonterde/overlappende cellen
- > 50% van de cellen niet is gehybridiseerd
- Er zich te veel fluorescente deeltjes bevinden tussen cellen en/of een fluorescente waas de signalen verstoort – in ideale glaasjes is de achtergrond donker of zwart en helder
- De randen van de celkernen niet kunnen worden onderscheiden en niet intact zijn

Analyserichtlijnen

- Ieder monster dient door twee analisten te worden geanalyseerd en geïnterpreteerd. Eventuele verschillen moeten worden verholpen middels een beoordeling door een derde analist
- Iedere analist dient voldoende gekwalificeerd te zijn volgens de erkende nationale normen
- Iedere analist dient onafhankelijk 100 kernen te noteren voor ieder monster. De eerste analist dient de analyse te starten vanaf de linkerzijde van het glaasje en de tweede analist vanaf de rechterzijde
- Iedere analist dient zijn/haar resultaten vast te leggen op afzonderlijke bladen
- Analyseer alleen kernen die intact zijn en geen overlappende of opeengepakte kernen of kernen die worden bedekt door cytoplasmatisch gruis of een hoge mate van autofluorescentie
- Vermijd gebieden met een overmaat aan cytoplasmatisch gruis of niet-specifieke hybridisatie.
- Signaalintensiteit kan afwijken, zelfs binnen een enkele kern. Gebruik in dergelijke gevallen enkelvoudige filters en/of pas het brandpuntvlak aan
- In suboptimale condities kunnen signalen diffuus worden weergegeven. Tel het als één signaal als twee signalen van dezelfde kleur elkaar raken, als de afstand tussen de signalen niet groter is dan twee signaalbreedtes of als de twee signalen zijn verbonden door een vage draad
- Analyseer een cel niet als u niet zeker bent of deze analyseerbaar is

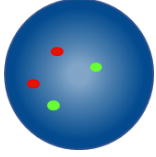
Analyserichtlijnen	
	Niet tellen – nucleï liggen te dicht bij elkaar om grenzen te kunnen bepalen
	Overlappende nucleï niet tellen – niet alle gebieden van beide nucleï zijn zichtbaar
	Verwacht normaal signaalpatroon (2R2G)

	Normaal signaalpatroon (2R2G) - één rood en één groen signaal zijn cogelokaliseerd
	Normaal signaalpatroon (2R2G) - een van de twee rode signalen is diffuus
	Normaal signaalpatroon (2R2G) - het gat in één rood signaal is minder dan twee sondebreedtes
	Normaal signaalpatroon (2R2G) - één rood en één groen signaal zijn cogelokaliseerd
	Verwacht abnormaal signaalpatroon (1R1G2F) - rode en groene fusiesignalen zijn proportioneel kleiner
	Verwacht abnormaal signaalpatroon (1R1G2F) - cogelokaliseerde fusiesignalen
	Verwacht abnormaal signaalpatroon (1R1G2F) - cogelokaliseerde fusiesignalen
	Verwacht abnormaal signaalpatroon (1R1G2F) - twee fusiesignalen naast elkaar
	Tel als één rood signaal, één groen signaal en twee fusiesignalen - één fusiesignaal is diffuus



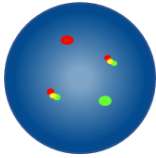
Verwachte resultaten

Verwacht normaal signaalpatroon



In een normale cel worden twee rode en twee groene signalen (2R2G) verwacht

Verwachte abnormale signaalpatronen



In een cel met inv(16)(p13.1;q22) of t(16;16)(p13.1;q22) is het verwachte signaalpatroon één rood signaal, één groen signaal en twee fusies (1R1G2F).

Er zijn andere signaalpatronen mogelijk in aneuploïde/niet-gebalanceerde monsters.

Bekende relevante interferenties / interfererende substanties

Geen bekende relevante interferenties / interfererende substanties.

Bekende kruisreactiviteit

Geen bekende kruisreactiviteit.

Melden van ernstige incidenten

Voor een patiënt/gebruiker/derde in de Europese Unie en in landen met identieke regelgeving (Verordening (EU) 2017/746 betreffende medische hulpmiddelen voor in-vitrodiagnostiek); indien zich tijdens het gebruik van dit hulpmiddel of als gevolg daarvan een ernstig incident heeft voorgedaan, dient u dit te melden aan de fabrikant en aan uw nationale bevoegde autoriteit.

Ernstige incidenten in andere landen dient u te melden aan de fabrikant en, indien van toepassing, aan uw nationale bevoegde autoriteit.

Contactpersoon van de fabrikant: vigilance@ogt.com

Voor nationale bevoegde autoriteiten binnen de EU vindt u een lijst met meldpunten op:

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

Specifieke prestatiekenmerken

Analytische specificiteit

Analytische specificiteit wordt gedefinieerd als het percentage signalen dat met de juiste locus hybridiseert en niet met andere locaties. Er zijn twee chromosomale loci van iedere twintig metafasecellen van vijf monsters geanalyseerd, wat 200 gegevenspunten opleverde. De locatie van iedere gehybridiseerde sonde werd in kaart gebracht en het aantal metafase chromosomale FISH-signalen dat hybridiseerde met de juiste locus werd vastgelegd.

De analytische specificiteit van elk product werd berekend als het aantal metafase chromosomale FISH-signalen dat hybridiseerde met de juiste locus gedeeld door het totale aantal metafase chromosomale FISH-signalen dat hybridiseerde. Dit resultaat werd met 100 vermenigvuldigd, uitgedrukt als een percentage en gegeven met een 95%-betrouwbaarheidsinterval.

Tabel 1. Analytische specificiteit voor de CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Doel	Aantal gehybridiseerde metafase chromosomen	Aantal juist gehybridiseerde loci	Analytische specificiteit	95%-betrouwbaarheidsinterval
16q22	200	200	100%	98,12% - 100%
16p13.1	200	200	100%	98,12% - 100%

Analytische sensitiviteit

Analytische sensitiviteit is het percentage scoorbare interfasecellen met het

verwachte normale signaalpatroon. Er zijn minimaal 200 interfasecellen geanalyseerd voor elk van de 25 beenmergmonsters. Dit heeft geleid tot een minimum van 5000 gescoorde nucleï voor elk monsterstype. De sensitiviteitsgegevens zijn geanalyseerd aan de hand van het percentage cellen dat een normaal verwacht signaalpatroon liet zien en uitgedrukt als een percentage met een 95%-betrouwbaarheidsinterval.

Tabel 2. Analytische sensitiviteit voor de CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Monsterstype	Sensitiviteitscriteria	Sensitiviteitsresultaat
Beenmerg	> 95%	98,94% (98,59%-99,29%)

Karakterisatie van normale drempelwaarden

De normale drempelwaarde wordt gedefinieerd als het percentage cellen dat een fout-positief signaalpatroon laat zien waar een individu als normaal zou worden beschouwd en niet consistent met een klinische diagnose. Er zijn minimaal 200 interfasecellen geanalyseerd voor elk van de 1300 beenmergmonsters. Dit heeft geleid tot een minimum van 260.000 gescoorde nucleï voor elk monsterstype.

De drempelwaarde werd bepaald aan de hand van de β-inverse (BETAINV) functie in MS Excel. De waarde werd berekend als het percentage interfasecellen dat een fout-positief signaalpatroon liet zien met behulp van de bovengrens van een eenzijdig 95%-betrouwbaarheidsinterval van de binomiale distributie bij een normaal patiëntmonster.

Tabel 3. Karakterisatie van normale drempelwaarden voor de CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Monsterstype	Drempelresultaat
Beenmerg	2,3%

Laboratoria moeten de drempelwaarden verifiëren aan de hand van hun eigen gegevens^{4,5}.

Reproduceerbaarheid

Er is reproduceerbaarheidsonderzoek uitgevoerd om het volgende vast te stellen:

- Reproduceerbaarheid op 3 locaties op dezelfde dag (tussen monsters)
- Reproduceerbaarheid op 3 locaties op een andere dag (tussen dagen)
- Reproduceerbaarheid op 3 locaties op een andere dag (tussen locaties)
- Reproduceerbaarheid op één locatie tussen partijen (tussen partijen)

Reproduceerbaarheid werd bepaald door drie individuele laboratoria die zes blinde monsters hebben getest (twee negatief voor de herschikking, twee laagpositieve monsters met 1 tot 3 maal de drempel en twee hoogpositieve monsters met meer dan 45% van de cellen positief voor de herschikking). De analyse werd uitgevoerd met twee replica's van ieder monster in de loop van vijf niet-openvolgende dagen.

Alle drie de locaties hebben tests op dezelfde en een andere dag en op verschillende locaties uitgevoerd met dezelfde sondepartij. Eén van de locaties heeft ook reproduceerbaarheidtests tussen partijen uitgevoerd met drie verschillende sondepartijen.

De resultaten werden gepresenteerd als de algehele overeenkomst met de voorspelde negatieve klasse (voor de negatieve monsters) en de voorspelde positieve klasse (voor de positieve monsters).

Tabel 4a. Reproduceerbaarheid en precisie voor de CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variabele	Monsterstype	Overeenkomst
Reproduceerbaarheid op dezelfde dag (tussen monsters), op een andere dag (tussen dagen) en op verschillende locaties (tussen locaties)	Negatief beenmerg	100%
	Laag-positief beenmerg	35%
Reproduceerbaarheid tussen partijen	Laag-positief beenmerg	100%
	Negatief beenmerg	100%
	Hoog-positief beenmerg	100%

Er werd een aanvullend reproduceerbaarheidsonderzoek uitgevoerd om de laagpositieve resultaten aan te vullen, waarbij twee monsters met verschillende laagpositieve waarden (2x en 4x de drempelwaarde) en twee negatieve monsters werden gebruikt om het volgende vast te stellen:

- Reproduceerbaarheid op één locatie op dezelfde dag (tussen monsters)
- Reproduceerbaarheid op één locatie op een andere dag (tussen dagen)
- Reproduceerbaarheid op één locatie met verschillende gebruikers (tussen gebruikers)

De reproduceerbaarheid werd vastgesteld met één partij sondes, geëvalueerd op twee replica's van elk monster, getest op vijf niet-achtereenvolgende data door twee verschillende gebruikers.

De resultaten werden gepresenteerd als de algehele overeenkomst met de voorspelde positieve klasse (voor de positieve monsters).

Tabel 4b. Aanvullende ondersteunende gegevens voor reproduceerbaarheid en precisie voor de CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variabele	Monstertype	Overeenkomst
Reproduceerbaarheid op dezelfde dag (tussen monsters), op een andere dag (tussen dagen) en met verschillende gebruikers (tussen gebruikers)	Laagpositief beenmerg (2x drempelwaarde)	100%
	Laagpositief beenmerg (4x drempelwaarde)	100%

Klinische prestaties

Om er zeker van te zijn dat de CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe de beoogde herschikkingen detecteert, zijn de klinische prestaties vastgesteld in vier (4) onderzoeken van representatieve steekproeven van de beoogde populatie voor het product: in residuele 3:1 methanol/azijnzuur gefixeerd materiaal. De onderzoeken hadden een gecombineerde steekproefomvang van driehonderdriedennegentig (393) monsters met een totaal van achttentwintig (28) positieve monsters en driehonderdvijfenzestig (365) negatieve monsters. De resultaten zijn vergeleken met de bekende status van het monster. De concordantie/discordantie van de resultaten bleek te voldoen aan de aanvaardbaarheidscriteria voor dit onderzoek. De resultaten van deze tests zijn geanalyseerd om waarden voor klinische sensitiviteit, klinische specificiteit en het percentage fout-positieven (FPR) voor positieve signalen te verkrijgen met behulp van een eendimensionale aanpak.

Tabel 5. Klinische prestaties van de CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variabele	Resultaat
Klinische sensitiviteit (TPR [true positive rate; percentage terecht positieven]) *	98,76%
Klinische specificiteit (TNR [true negative rate; percentage terecht negatieven])*	99,52%
Percentage fout-positieven (FPR) = 1 – Specificiteit*	0,48%

Samenvatting van veiligheid en prestaties (SSP)

De SSP wordt via de Europese database voor medische apparatuur (Eudamed) openbaar gemaakt waar deze is gelinkt aan de Basic UDI-DI.

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

Basic UDI-DI: 50558449LPH022J9

Als Eudamed niet volledig functioneert, kan de SSP op verzoek openbaar toegankelijk worden gemaakt door een e-mail te sturen naar SSP@ogt.com.

Aanvullende informatie

Neem contact op met de afdeling Technische ondersteuning van CytoCell voor aanvullende productinformatie.

T: +44 (0)1223 294048



E: techsupport@cytozell.com













W: www.ogt.com

Referenties

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, M.J. and Lawce H.J. (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.

Verklaring van symbolen

EN ISO 15223-1:2021 – “Medische hulpmiddelen – Symbolen voor het gebruik met informatievoorziening door de fabrikant – Deel 1: Algemene vereisten” (© Internationale Organisatie voor Standaardisatie)		
Symbool	Titel	Referentienummer(s)
	nl: Fabrikant	5.1.1
	nl: Geautoriseerde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap/Europese Unie	5.1.2

	nl: Houdbaarheidsdatum	5.1.4
	nl: Partijnummer	5.1.5
	nl: Catalogusnummer	5.1.6
	nl: Buiten bereik van zonlicht bewaren	5.3.2
	nl: Temperatuurgrens	5.3.7
	nl: Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	5.4.3
 ogt.com/IFU	nl: Raadpleeg de elektronische gebruiksaanwijzing	5.4.3
	nl: Let op	5.4.4
	nl: Medisch hulpmiddel voor <i>in-vitro</i> diagnostiek	5.5.1
	nl: Bevat voldoende voor <n> tests	5.5.5
	nl: Unieke hulpmiddelidentificatiecode	5.7.10
EDMA-symbolen voor IVD-reagentia en -componenten, revisie oktober 2009		
Symbool	Titel	Referentienummer(s)
	nl: Inhoud (of bevat)	N.v.t.

Patenten en handelsmerken

CytoCell is een geregistreerd handelsmerk van CytoCell Limited.



CytoCell Limited

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

T: +44 (0)1223 294048

F: +44 (0)1223 294986

E: probes@cytozell.com

W: www.ogt.com



Sysmex Europe SE

Bornbarch 1
22848 Norderstedt
DUITSLAND

T: +49 40 527260

W: www.sysmex-europe.com

Versiegeschiedenis gebruiksaanwijzing

V001 2023-10-09: Nieuwe gebruiksaanwijzing voor EU Verordening 2017/746.