



A Sysmex Group Company



Gebruiksaanwijzing

REF: CE-LPH 052-S / CE-LPH 052

P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe



ALLEEN VOOR PROFESSIONEEL GEBRUIK



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

Gebruiksdoel

De CytoCell® P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe is een kwalitatieve, niet-geautomatiseerde, fluorescentie-*in-situ*hybridisatietest (FISH) die wordt gebruikt voor het detecteren van chromosoomdeleties in het gebied 11q22.3 op chromosoom 11 en het gebied 17p13 op chromosoom 17 in een Carnoy's oplossing (3:1 methanol/azijnzuur) met gefixeerde hematologisch verkregen celsuspensies van patiënten die vermoedelijk chronische lymfatische leukemie (CLL) 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 deletiestatus van P53 (TP53) of ATM te weten.

Beperkingen

Dit hulpmiddel is ontworpen om genoomverliezen te detecteren die groter zijn dan het gebied dat wordt beslagen door de rode en groene klonen in deze sondeset, inclusief de gebieden TP53 en ATM. Genoomverliezen buiten dit gebied of gedeeltelijke verliezen in dit gebied worden mogelijk niet gedetecteerd door dit hulpmiddel.

Dit hulpmiddel is niet bedoeld voor gebruik als enig of aanvullend diagnostisch criterium, prenatale test, bevolkingsonderzoek, Point-of-Care test of zelftest.

Dit hulpmiddel is niet gevalideerd voor monstertypes, ziektevormen of doeleinden die niet worden gespecificeerd in het gebruikdoel.

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 praktijken 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 gedeneatureerde 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.

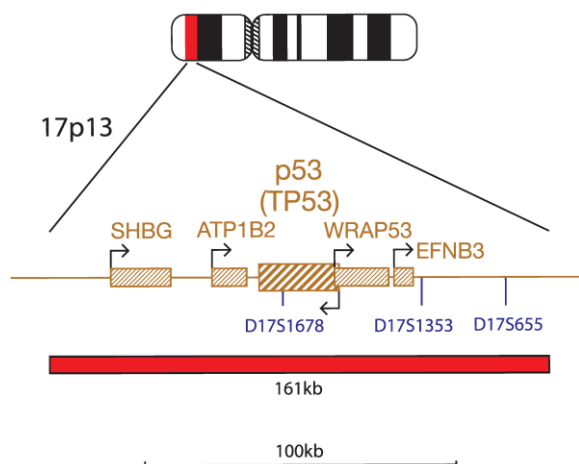
Sonde-informatie

Het TP53-tumorsuppressorgen (*tumoreiwit P53*) op 17p13 en het proteïnekinase ATM-gen (*ATM-serine/threoninekinase*) op 11q22.3 vertoont vaak deletie bij chronische lymfatische leukemie (CLL). TP53 is een belangrijk tumorsuppressorgen; het is een krachtige transcriptiefactor met een fundamentele rol in het behoud van genetische stabiliteit¹. Verlies van TP53 wordt gemeld bij 5-10% van alle patiënten met CLL en is een slechte prognostische biomarker die weerstand tegen de chemotherapie voorspelt^{2,3,4}. ATM is een belangrijk checkpoint-gen dat betrokken is bij het beheer van celschade⁵. Verlies van ATM wordt gemeld bij 10-20% van alle patiënten met CLL². Deleties van 11q en 17p zijn twee van de meeste voorkomende chromosomale afwijkingen bij CLL; del(11q) verwijdert ATM, terwijl del(17p) resulteert in het verlies van TP53⁴.

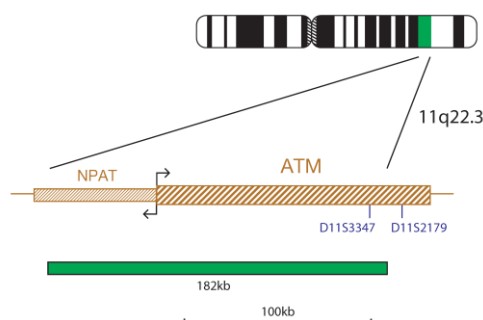
Sondespecificatie

P53, 17p13, rood
ATM, 11q22.3, groen

CMP-H040 V005.00



CMP-H041 v005.00



De P53-component bestaat uit een 161kb-sonde, rood gemarkeerd, die het gehele gen P53 (TP53) en de naastgelegen gebieden beslaat. De ATM-component bestaat uit een 182kb-sonde, groen gemarkeerd, die het telomerische uiteinde van het NPAT-gen en het centromerische uiteinde van het ATM-gen tot na de marker D11S3347 beslaat.

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

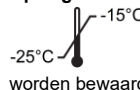
1. Voor *in-vitro*diagnostiek. Alleen voor professioneel gebruik in laboratoria.
2. De sondemengsels bevatten formamide. Dit is een teratogeen; adem de dampen niet in en voorkom huidcontact. Wees voorzichtig; draag handschoenen en een labjas.
3. Voorzichtigheid is geboden met de DAPI; draag handschoenen 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 infectieus of 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 dat het vormt en om het te behandelen en te (laten) afvoeren in overeenstemming met alle geldende wet- en regelgeving.
- Gebruikers moeten de kleuren rood, blauw en groen kunnen onderscheiden.
 - 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 fout-positieve/fout-negatieve resultaten.
 - De sonde mag niet worden verdund of gemengd met andere sondes.
 - 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 fout-positieve/fout-negatieve resultaten.
 - Alle producten moeten voor gebruik worden gevalideerd.
 - 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 tot de vervaldatum die is aangegeven op het setlabel worden bewaard in een vriezer bij -25 °C tot -15 °C. De sonde en buisjes met tegenkleuring moeten in het donker worden bewaard.

 De FISH-sonde, DAPI Antifade ES-tegenkleuring en hybridisatieoplossing blijven bij normaal gebruik gedurende de gehele vries-dooicyclus stabiel (waarbij een cyclus bestaat uit het verwijderen van het buisje uit en terugzetten 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

Benodigde gekalibreerde apparatuur:

- Verwarmingssplaat (met een vaste plaat en nauwkeurige temperatuurbediening tot maximaal 80 °C)
- Gekalibreerde micropipetten en tips met variabel volume van 1 µl - 200 µl
- Waterbad met nauwkeurige temperatuurbediening op 37 °C en 72 °C
- Microcentrifugebuisjes (0,5 ml)
- Fluorescentiemicroscop (zie de paragraaf Aanbevelingen fluorescentiemicroscop)
- Fasecontrastmicroscop
- Schone Coplin-potjes van kunststof, keramiek of hittebestendig glas
- Tang
- Gekalibreerde pH-meter (of pH-indicatorstrips die een pH-waarde van 6,5 - 8,0 kunnen meten)
- Bevochtigde container
- Immersie-olie van fluorescentieniveau voor microscoopenlenzen
- Werkbladcentrifuge
- Objectglasjes
- Afdekglasjes van 24x24 mm
- Timer
- 37°C-incubator
- Rubberen lijmplossing
- Vortexmenger
- Maatcilinders
- Magneetroerder
- Gekalibreerde thermometer

Optionele maar niet meegeleverde apparatuur

- Cytogenetische droogkamer

Benodigde maar niet meegeleverde reagentia

- 20x SSC-oplossing (zout-natriumcitraat)
- 100% ethanol
- Tween-20
- 1M natriumhydroxide (NaOH)
- 1M zoutzuur (HCl)
- 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]
Groen	495	521
Rood	596	615

Zorg ervoor dat de juiste excitatie- en emissiefilters die de bovenstaande golflengtes beslaan op de microscoop 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 microscopimmersion-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 chronische lymfatische leukemie (CLL) hebben of daarmee zijn gediagnosticeerd, geprepareerd volgens de richtlijnen van het laboratorium of de instelling. Bereid aan de lucht gedroogde monsters voor op objectglasjes volgens standaard cytogenetische procedures. De AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* bevat aanbevelingen voor het verzamelen, kweken en afnemen van monsters en voor het maken van objectglasjes⁶.

Oplossingsvoorbereiding

Ethanoloplossingen

Verdund 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

Verdund 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

Verdund 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

Verdund 1 deel 20xSSC-oplossing met 9 delen gezuiverd water. Voeg 5 µl Tween-20 per 10 ml toe en meng 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 objectglasjes

- Plaats het celmonster op een glazen objectglasje. 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).
- Dompel het glasje 2 minuten onder in 2xSSC op kamertemperatuur (KT) zonder het te bewegen.
- Droog in een ethanolserie (70%, 85% en 100%), elk gedurende 2 minuten, op KT.
- Laat het opdrogen.

Pre-denaturatie

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

Denaturatie

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

Hybridisatie

- Plaats het glasje gedurende de nacht in een vochtige, luchtdichte container bij 37 °C (+/- 1 °C).

Post-hybridisatiespoelbeurten

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

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 Cytocell 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 het 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

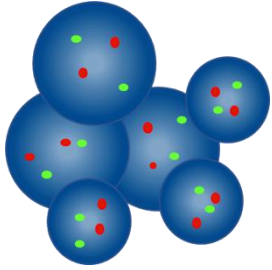
Glaasjeskwaliteit beoordelen

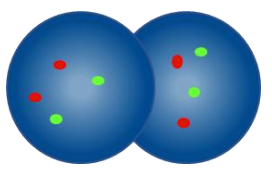
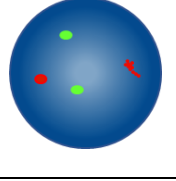
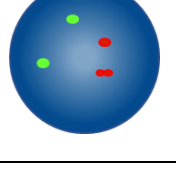
Het glaasje dient niet te worden geanalyseerd als:

- 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 zijn 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

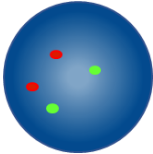
- Ieder monster dient door twee analisten te worden geanalyseerd en geïnterpreteerd. Eventuele verschillen moeten worden verholpen middels een beoordeling door een derde analist
- Iedere analist dient voldoende gekwalificeerd te zijn volgens de erkende nationale normen
- Iedere analist dient onafhankelijk 100 nuclei te scoren 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 nuclei die intact zijn en geen overlappende of opeengepakte nuclei of nuclei 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 – nuclei liggen te dicht bij elkaar om grenzen te kunnen bepalen

	Overlappende nuclei niet tellen – niet alle gebieden van beide nuclei zijn zichtbaar
	Tellen als twee rode signalen en twee groene signalen – één van de twee rode signalen is diffuus
	Tellen als twee rode signalen en twee groene signalen – het gat in één rood signaal is minder dan twee sondebreedtes

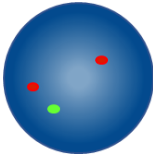
Verwachte resultaten

Verwacht normaal signaalpatroon

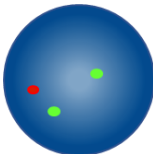


In een normale cel worden twee rode en twee groene signalen (2R2G) verwacht.

Verwachte abnormale signaalpatronen



In een cel met een ATM-deletie worden twee rode en een groen signaal (2R1G) verwacht.



In een cel met een TP53-deletie worden een rood signaal en twee groene signalen (1R2G) verwacht.

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-vitro*diagnostiek); 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@oqt.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 werden vier (4) chromosomale loci in iedere twinting (20) metafasecellen van iedere vijf (5) in 3:1 methanol/azijnzuur gefixeerde celstalen van perifeer bloed van karyotypische normale mannen geanalyseerd, wat 400 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 iedere sonde in de set is 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 percentage en gegeven met een 95%-betrouwbaarheidsinterval.

Tabel 1. Analytische specificiteit voor de P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe

Doel	Aantal gehybridiseerde metafase chromosomen	Aantal juist gehybridiseerde loci	Analytische specificiteit	95%-betrouwbaarheidsinterval
17p13	200	200	100%	98,12% - 100%
11q22.3	200	200	100%	98,12% - 100%

Analytische sensitiviteit

Analytische sensitiviteit is het percentage scoorbare interfasecellen met het verwachte normale signaalpatroon. Er zijn 25 celsuspensies met gefixeerde beenmergcellen geanalyseerd die negatief werden geacht voor een TP53- of ATM-deletie. Per suspensie zijn minimaal 200 interfasecellen geanalyseerd, wat heeft geleid tot minimaal 5000 gescoorde nucleï voor elk monstertype. 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 P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe

Monstertype	Sensitiviteitscriteria	Sensitiviteitsresultaat
Beenmerg	> 95%	96,32% (95,59%-97,05%)

Karakterisatie van normale drempelwaarden

De normale drempelwaarde wordt gedefinieerd als het percentage cellen dat een fout-positief signaalpatroon laat zien waarbij een individu als normaal zou worden beschouwd en niet consistent met een klinische diagnose. Er zijn 25 celsuspensies met gefixeerde beenmergcellen geanalyseerd die negatief werden geacht voor een TP53- of ATM-deletie. Per suspensie zijn minimaal 200 interfasecellen geanalyseerd, wat heeft geleid tot minimaal 5000 gescoorde nucleï voor elk monstertype.

De drempelwaarde werd bepaald aan de hand van de functie β -inverse (BETAINV) 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 P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe

Monstertype	Signaalpatroon	Drempelresultaat
Beenmerg	2R1G	3,78%
	1R2G	8,97%

Laboratoria moeten de drempelwaarden verifiëren aan de hand van hun eigen gegevens^{7,8}.

Precisie

De precisie van dit product is gemeten als precisie op dezelfde dag (tussen monsters), op een andere dag (tussen dagen) en tussen partijen op dezelfde locatie (tussen partijen).

De precisie van dit product is vastgesteld met behulp van drie (3) monsters: een normaal beenmergmonster (vooraf aan de studie door FISH negatief aangetoond voor zowel TP53-deletie als ATM-deletie), een laag-positief 2R1GATM-deletiebeenmergmonster, en een laag-positief 1R2G TP53-deletiebeenmergmonster. De laag-positieve beenmergmonsters zijn verkregen door een deel van het negatieve beenmergmonster te mengen met een bekend positief beenmergmonster, teneinde laag-positieve monsters te verkrijgen in het bereik van 2-4x de drempelwaarde en zo de vastgestelde drempelwaarde te testen.

Om de precisie op dezelfde dag en een andere dag vast te stellen, werden de monsters geëvalueerd op tien (10) niet-achtereenvolgende datums. Om de precisie tussen partijen vast te stellen, werden drie (3) partijen van het product geëvalueerd op drie (3) replica's van dezelfde monsters. De resultaten werden gepresenteerd als de algehele overeenkomst met de voorspelde negatieve klasse (voor de negatieve monsters).

Tabel 4. Reproduceerbaarheid en precisie voor de P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe

Variabele	Monstertype	Overeenkomst
Reproduceerbaarheid op dezelfde dag (tussen monsters) en op een andere dag (tussen dagen)	Negatief beenmerg	100%
	Laag-positief beenmerg 2R1G (ATM-deletie)	96,7%
	Laag-positief beenmerg 1R2G (TP53-deletie)	100%
Reproduceerbaarheid tussen partijen	Negatief beenmerg	100%
	Laag-positief beenmerg 2R1G (ATM-deletie)	88,9%
	Laag-positief beenmerg 1R2G (TP53-deletie)	100%

Klinische prestaties

Om er zeker van te zijn dat het product de beoogde deleties detecteert, zijn de klinische prestaties vastgesteld tijdens een (1) onderzoek van representatieve monsters van de beoogde populatie voor het product: Carnoy's oplossing (3:1 methanol/azijnzuur) met gefixeerde hematologisch verkregen celsuspensies van patiënten die vermoedelijk chronische lymfatische leukemie (CLL) hebben of daarmee zijn gediagnosticeerd. De steekproefomvang voor het onderzoek was dertig (30) monsters met als doelpopulatie elf (11) positieve en negentien (19) ATM-deletie-negatieve monsters en elf (11) positieve en negentien (19) TP53-deletie-negatieve monsters. Alle monsters werden geïdentificeerd en de resultaten werden vergeleken met de bekende status van het monster. In alle gevallen identificeerde de sonde de status van de monsters correct.

De resultaten van deze tests zijn geanalyseerd om waarden voor klinische sensitiviteit, klinische specificiteit en het percentage fout-positieven (false positive rate, FPR) voor positieve signalen te verkrijgen met behulp van een eendimensionale aanpak.

Tabel 5. Klinische prestaties voor de P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe -ATM-deletie

Variabele	Resultaat
Klinische sensitiviteit (TPR [true positive rate; percentage terecht positieven])	99,93%
Klinische specificiteit (TNR [true negative rate; percentage terecht negatieven])	99,99%
Percentage fout-positieven (FPR) = 1 – Specificiteit	0,01%

Tabel 6. Klinische prestaties voor de P53 (TP53)/ATM Combination Deletion Probe - TP53-deletie

Variabele	Resultaat
Klinische sensitiviteit (TPR [true positive rate; percentage terecht positieven])	100,0%
Klinische specificiteit (TNR [true negative rate; percentage terecht negatieven])	100,0%
Percentage fout-positieven (FPR) = 1 – Specificiteit	0,00%

Samenvatting van veiligheid en prestaties (SSP)

De SSP wordt via de Europese database voor medische apparatuur (Eudamed) openbaar gemaakt waar deze is gekoppeld aan de Basic UDI-DI. URL Eudamed: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> Basic UDI-DI: 50558449LPH052JJ

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@cytoCELL.com W: www.ogt.com

Referenties

1. Dohner, et al. N Eng J Med. 2000;343:1910-1916.
2. Rossi D, et al. Blood. 2013 Feb 21;121(8):1403-12.
3. Baliakas P, et al. Leukemia. 2014;(April):1-8.
4. 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 December 18]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
5. Stankovic, et al., Blood. 2004;103(1):291-300.
6. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) The AGT Cytogenetics Laboratory Manual. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
7. Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
8. Wiktor AE, Van 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 Standardisatie)		
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
 oqt.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@cytocell.com
W: www.oqt.com



Sysmex Europe SE
Bornbarch 1
22848 Norderstedt
DUITSLAND

T: +49 40 527260
W: www.sysmex-europe.com

Versiegeschiedenis gebruiksaanwijzing
V001 2024-01-08: Nieuwe gebruiksaanwijzing voor (EU) Verordening 2017/746
V002 2025-08-29: Verwijdering van het UKCA-merk