



A Sysmex Group Company



Gebruiksaanwijzing

REF: CE-LPH 039-S / CE-LPH 039

CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe



ALLEEN VOOR PROFESSIONEEL GEBRUIK



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

Gebruiksdoel

De CytoCell® CKS1B/CDKN2C (P18)-amplificatie/deletiesonde is een kwalitatieve, niet-geautomatiseerde, fluorescentie-*in situ*-hybridisatietest (FISH) die wordt gebruikt voor het detecteren van chromosoomgains of -deleties in de gebieden 1p32.3 en 1q21 op chromosoom 1 in een Carnoy's oplossing (3:1 methanol/azijnzuur) met gefixeerde hematologisch verkregen celsuspensies van patiënten die vermoedelijk multipel myeloom (MM) hebben of daarmee zijn gediagnosticeerd.

Gebruiksaanwijzing

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 status van *CKS1B* of *CDKN2C* (P18) te weten.

Beperkingen

Dit hulpmiddel is ontworpen om genoomgains of -verliezen groter dan het gebied dat wordt beslaan door de rode en groene klonen in deze sondeset te detecteren, inclusief de gebieden *CKS1B* en *CDKN2C* (P18). Genoomgains of -verliezen buiten deze gebieden, of gedeeltelijke gains of verliezen van dit gebied 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 monstertypes, ziekte-types of doeleinden die niet worden gespecificeerd in het gebruiksdossier.

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 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/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 gehele 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. Fluorescentiemicroscopie maakt vervolgens de visualisatie van de gehybridiseerde sonde op het doelmateriaal mogelijk.

Sonde-informatie

Het *CKS1B*-gen (*CDC28-eiwitkinase regulerende subeenheid 1B*) bevindt zich op 1q21 en het *CDKN2C*-gen (*cycline-afhankelijke kinase-inhibitor 2C*) bevindt zich op 1p32.3.

Gain van het 1q21-gebied inclusief *CKS1B* is een van de meest voorkomende chromosoomafwijkingen bij multipel myeloom¹. Overexpressie van het *CKS1B*-gen versnelt de celcyclusprogressie, wat leidt tot een meer proliferatieve ziekte². Dit hangt samen met het geavanceerde fenotype van multipel myeloom en kan daarom worden geassocieerd met een slechte prognose en ziekteprogressie^{1,2,3}. Gain van 1q21 is in verband gebracht met slechtere overlevingskansen en verdere amplificatie is te zien bij recidief van de ziekte. Complete gains van de lange arm van chromosoom 1 komen ook veelvuldig voor bij multipel myeloom en kunnen voorkomen als isochromosomen, duplicaties of verspringende translocaties en worden vaak gezien als teken van ziekteprogressie⁴.

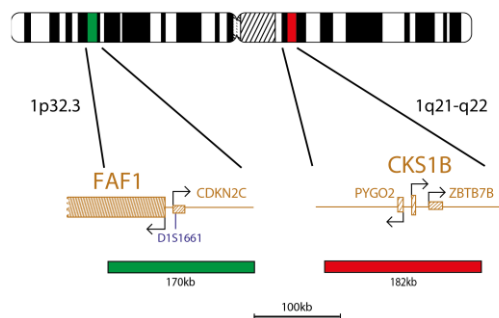
CDKN2C is een tumorsuppressorgen verantwoordelijk voor het starten van apoptotische celdood en DNA-fragmentatie⁵. Het wordt verhoogd door de expressie van de cytokine IL-6 bij multipel myeloom en homozygote deletie van het gen wordt gezien als teken van een meer proliferatieve ziekte⁶. Hoewel *CDKN2C*-deleties zeldzaam zijn in menselijke maligniteiten, hebben cytogenetische analyses aangetoond dat afwijkingen van 1p32-36 voorkomen in ongeveer 16% van menselijk multipel myeloom en leiden tot een slechtere totale overleving^{2,3,5,6}.

In ongeveer een derde van de gevallen van multipel myeloom worden cytogenetische afwijkingen gedetecteerd door conventionele cytogenetica, maar FISH verhoogt het aandeel gedetecteerde chromosoomafwijkingen naar > 90%⁷.

Sondespecificatie

CKS1B, 1q21-q22, rood

CDKN2C (P18), 1p32.3, groen



Het CKS1B/CDKN2C-product bestaat uit een 182kb-sonde, rood gemarkeerd, die het gehele *CKS1B*-gen en aangrenzende gebieden beslaat, inclusief de *PYGO2*- en *ZBTB7B*-genen, en een groene sonde die een gebied van 170kb beslaat dat het gehele *CDKN2C*-gen, de marker D1S1661 en het centromerische uiteinde van het *FAF1*-gen omvat.

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

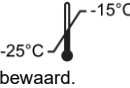
1. Voor *in-vitro*diagnostiek. Alleen voor professioneel gebruik in laboratoria.
2. De sondemengsels bevatten formamide. Dit is een teratogeen; vermijd het inademen van de dampen en huidcontact. Wees voorzichtig; draag handschoenen en een labjas.
3. Voorzichtigheid is geboden met de DAPI; draag handschoenen en een labjas.
4. Niet gebruiken als de buisjes 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 af te (laten) voeren 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 fout-positieve/negatieve resultaten.
9. De sonde moet 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 fout-positieve/negatieve 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-dooi-cyclus die bij normaal gebruik wordt ervaren (waarbij een cyclus bestaat uit het verwijderen van het buisje uit en vervangen in de vriezer) – 5 cycli voor het buisje van 50 µl (5 tests) van de FISH-sonde, 10 cycli voor het buisje van 100 µl (10 tests) van de FISH-sonde en 15 cycli voor het buisje van 150 µl (15 tests) van 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:

1. Verwarmingsplaat (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 plastic, keramiek of hittebestendig glas
8. Tang
9. Gekalibreerde pH-meter (of pH-indicatorstrips die pH 6,5 - 8,0 kunnen meten)
10. Bevochtigde container
11. Immersie-olie van fluorescentieniveau voor microscooplenzen
12. Werkbladcentrifuge
13. Objectglaasjes
14. Afdekglasjes van 24x24 mm
15. Timer
16. 37 °C-incubator
17. Rubberen lijmplossing
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 golf lengtes:

Fluorofoor	Excitatie _{max} [nm]	Emissie _{max} [nm]
Groen	495	521
Rood	596	615

Zorg ervoor dat de juiste excitatie- en emissiefilters die de bovenstaande golf lengtes beslaan op de microscoop worden aangebracht. Gebruik een driefoudige bandpassfilter voor DAPI/het groene spectrum/het rode spectrum of een tweevoudige bandpassfilter voor het groene spectrum/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 microscoopimmersie-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 op celsuspensies die hematologisch zijn verkregen, zijn gefixeerd met Carnoy's oplossing (3:1 methanol/azijnzuur) en voorbereid volgens de richtlijnen van het laboratorium of de instelling. Bereid aan de lucht gedroogde monsters voor op objectglaasjes volgens standaard cytogenetische procedures. De AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* bevat aanbevelingen voor monsterverzameling, -kweken, -afname en voor het maken van objectglaasjes⁸.

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 grondig. Controleer de pH-waarde en breng deze met NaOH of HCl naar pH 7,0 indien nodig. 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 grondig. Controleer de pH-waarde en breng deze met NaOH of HCl naar pH 7,0 indien nodig. 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 grondig. Controleer de pH-waarde en breng deze met NaOH of HCl naar pH 7,0 indien nodig. 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 objectglaasjes

1. Plaats het celmonster op een glazen objectglaasje. 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 glaasje 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 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 monsterglaasje op een verwarmingsplaat van 37 °C (+/- 1 °C) gedurende 5 minuten om voor te verwarmen.
9. 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

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

Hybridisatie

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

Post-hybridisatie spoelbeurten

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 afdruipten 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 afdruipten en breng 10 µl DAPI Antifade aan op ieder monster.
17. Bedek het met een afdekglasje, verwijder eventuele luchtbelletjes en laat de kleur 10 minuten in het donker ontwikkelen.
18. Bekijk met een fluorescentiemicroscop (zie **Aanbevelingen fluorescentiemicroscop**).

Procedureaanbevelingen

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 teveel denaturatie kan ook leiden tot niet-specifiek binden.
6. Teveel 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

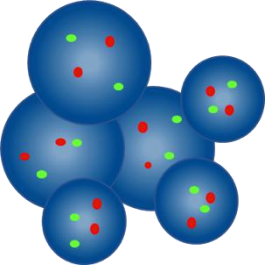
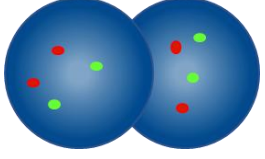
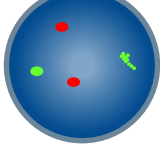
Glaasjeskwaliteit beoordelen

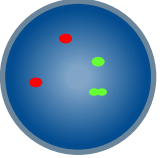
Het glaasje dient niet te worden geanalyseerd indien:

- De signalen te zwak zijn om in eenvoudige 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 leeg
- De randen van de celkernen niet kunnen worden onderscheiden en niet intact zijn

Analyserichtlijnen

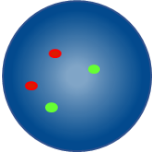
- Ieder monster dient door twee analisten te worden geanalyseerd en geïnterpreteerd. Eventuele verschillen moeten worden verholpen door een beoordeling door een derde analist
- Iedere analist dient voldoende gekwalificeerd te zijn volgens de erkende nationale standaarden
- Iedere analist dient onafhankelijk 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 eenvoudige filters en/of pas het brandpuntsvlak 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
- Tel het tijdens het analyseren van breakapartsondes met twee kleuren als een niet-herschikt/gefuseerd signaal als er tussen de rode en groene signalen een gat bestaat dat niet groter is dan 2 signaalbreedtes
- Als er bij het analyseren van breakapartsondes met drie kleuren een gat optreedt tussen de 3 signalen (rood, groen, blauw) dat niet groter is dan de breedte van 2 signalen, dient dit geteld te worden als niet-herschikt/gefuseerd signaal.
- 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
	Tel als twee controlesignalen – één van de twee groene signalen is diffuus

	Tel als twee controlesignalen – het gat in een groen signaal is minder dan twee signaalbreedtes
---	---

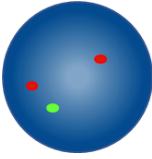
Verwachte resultaten

Verwacht normaal signaalpatroon

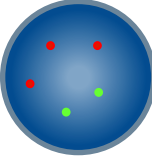


In een normale cel worden twee rode en twee groene signalen (2R2G) verwacht.

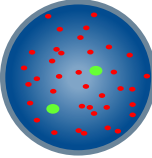
Verwachte abnormale signaalpatronen



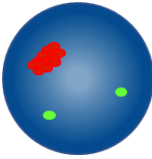
In een cel met een deletie van 1p32.3 is het verwachte signaal twee rode signalen en één groen signaal (2R1G).



In een cel met gain van de 1q21-locus worden twee groene en drie of meer rode signalen verwacht (3+R2G).



In een cel met een amplificatie van de 1q21-locus is dit zichtbaar als een groot aantal kleine rode signalen verspreid over het cytoplasma samen met twee groene controlesignalen (ampR2G).



In een cel met een amplificatie van de 1q21-locus die leidt tot een 'homogeneously staining region', is er een groot aantal rode signalen zichtbaar langs het verlengde en uitgebreide chromosoomsegment en ook twee groene controlesignalen (ampR2G).

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

Bekende relevante interferenties / interfererende substanties

Geen relevante interferenties / interfererende substanties bekend.

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. Vier chromosomale loci van iedere 20 metafasecellen van vijf monsters worden 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 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 CKS1B/CDKN2C (P18)-Amplification/Deletion Probe

Doel	Aantal metafase chromosomale gehybridiseerd	Aantal juist gehybridiseerde loci	Analytische specificiteit	95% betrouwbaarheidsinterval
1q21	200	200	100%	98,12% - 100%
1p32.3	200	200	100%	98,12% - 100%

Analytische sensitiviteit

Analytische sensitiviteit is het percentage scoorbare interfasecellen met het verwachte normale signaalpatroon. Minimaal 100 interfasecellen werden geanalyseerd, waarvan 25 gefixeerde celsuspensies van beenmerg en 25 gefixeerde celsuspensies van CD138+-plasmacellen die negatief werden geacht voor een CKS1B-gain/amplificatie of een CDKN2C-deletie. Dit heeft geleid tot een minimum van 2500 gescoorde nuclei voor elk monstertype. De sensitiviteitsgegevens werden geanalyseerd aan de hand van het percentage cellen dat een normaal verwacht signaalpatroon liet zien en uitgedrukt als een percentage met een betrouwbaarheidsinterval van 95%.

Tabel 2. Analytische sensitiviteit voor de CKS1B/CDKN2C (P18)-Amplification/Deletion Probe

Monstertype	Sensitiviteitscriteria	Sensitiviteitsresultaat
Beenmerg	> 95%	98,68% (97,87% - 99,49%)
CD138+	> 95%	95,95% (94,96% - 96,94%)

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. Minimaal 100 interfasecellen werden geanalyseerd, waarvan 25 gefixeerde celsuspensies van beenmerg en 25 gefixeerde celsuspensies van CD138+ die negatief werden geacht voor een CKS1B-gain/amplificatie of een CDKN2C-deletie. Dit heeft geleid tot een minimum van 2500 gescoorde nuclei voor elk monstertype.

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 CKS1B/CDKN2C (P18)-Amplification/Deletion Probe

Monstertype	Drempelresultaat 3R2G	Drempelresultaat 2R1G
Beenmerg	5,93%	5,71%
CD138+	9,24%	10,21%

Laboratoria moeten de drempelwaarden verifiëren aan de hand van hun eigen gegevens^{9,10}.

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 het product is vastgesteld met behulp van drie (3) monsters: 1 normaal CD138+-monster, 1 CD138+ laag-positief voor 2R1G (-CDKN2C) en 1 CD138+ laag-positief voor 3R2G (+CKS1B). De laag-positieve CD138+-monsters zijn verkregen door een deel van de negatieve CD138+-monsters te mengen met een bekend positief CD138+-monster, 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, werd het monster geëvalueerd op 10 niet-achtereenvolgende data. Om de precisie tussen partijen vast te stellen, werden 3 partijen van het product geëvalueerd op 3 replica's van hetzelfde monster. De resultaten werden gepresenteerd als de algehele overeenkomst met de voorspelde negatieve klasse (voor de negatieve monsters).

Tabel 4. Reproduceerbaarheid en precisie voor de CKS1B/CDKN2C (P18)-Amplification/Deletion Probe

Variabele	Monstertype	Overeenkomst
Precisie op dezelfde en een andere dag	Normaal CD138+ (negatief)	100%
	CD138+ laag-positief 2R1G (-CDKN2C)	100%
	CD138+ laag-positief 3R2G (+CKS1B)	100%
Precisie tussen partijen	Normaal CD138+ (negatief)	100%
	CD138+ laag-positief 2R1G (-CDKN2C)	100%
	CD138+ laag-positief 3R2G (+CKS1B)	100%

Klinische prestatie

Om er zeker van te zijn dat het product de beoogde herschikkingen detecteert, werd de klinische prestatie vastgesteld tijdens 1 onderzoek van representatieve monsters van de beoogde populatie voor het product: overgebleven methanol/azijnzuur gefixeerd materiaal van hematologisch verkregen monsters. De steekproefomvang van het onderzoek was 23 monsters met een doelpopulatie van 10 positieve monsters voor ofwel CKS1B-amplificatie ofwel CDKN2C-deletie, of beide, en 13 negatieve monsters voor zowel CKS1B-amplificatie als CDKN2C-deletie. Alle monster werden geïdentificeerd en gerandomiseerd om analytische bias uit te sluiten. De resultaten werden vergeleken met de bekende status van het monster. De sonde identificeerde de status van de monsters correct in alle gevallen.

De resultaten van deze tests werden 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 voor de CKS1B/CDKN2C (P18)-Amplification/Deletion Probe, CKS1B-amplificatiereultaat

Variabele	Resultaat
Klinische sensitiviteit (TPR [true positive rate; percentage terecht positieven])	98,71%
Klinische specificiteit (TNR [true negative rate; percentage terecht negatieven])	99,75%
Percentage fout-positieven (FPR) = 1 – Specificiteit	0,25%

Tabel 6. Klinische prestaties voor de CKS1B/CDKN2C (P18)-Amplification/Deletion Probe, CDKN2C-deletieresultaat

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

Samenvatting van veiligheid en prestaties (SSP)

De SSP wordt via de Europese database voor medische apparatuur (Eudamed) openbaar gemaakt waar deze is gelinkt met de Basic UDI-DI.
Eudamed URL: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>
Basic UDI-DI: 50558449LPH039JS

Indien Eudamed niet volledig functioneert, kan het 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. Hanamura I, Blood 2006;108(5):1724-32
2. Fonseca *et al.*, Leukemia 2009;23(12):2210-2221
3. Sawyer, Cancer Genetics 2011;204(1):3-12
4. Fonseca *et al.*, Leukemia 2006;20(11):2034-40
5. Leone *et al.*, Clin Cancer Res 2008;14(19):6033-41
6. Kulkarni *et al.*, Leukemia 2002;16:127-34
7. Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
8. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
9. 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.
10. Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16-23.

Verklaring van symbolen

EN ISO 15223-1:2021 - "Medische hulpmiddelen – Symbolen om te gebruiken met informatie die wordt geleverd door de fabrikant – Deel 1: Algemene eisen" (© International Organization for Standardization)		
Symbol	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 hulpmiddel identificatiecode	5.7.10
EDMA-symbolen voor IVD-reagentia en -componenten, revisie oktober 2009		
Symbol	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.ogt.com



Sysmex Europe SE
Bombarch 1
22848 Norderstedt
DUITSLAND

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

Versiegeschiedenis gebruiksaanwijzing

V001.00 2023-01-11: Nieuwe IFU voor EU Verordening 2017/74
V002 2025-08-29: Verwijdering van het UKCA-merk