



A Sysmex Group Company



## Brugsanvisning

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

## CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe



KUN TIL ERHVERVSMÆSSIG BRUG



Yderligere information og andre sprog findes på [ogt.com/IFU](http://ogt.com/IFU)

### Tilsigtet formål

CytoCell® CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe er en kvalitativ, ikke-automatiseret FISH-test (fluorescens *in situ* hybridisering), der anvendes til at detektere kromosomale rearrangementer i 1p32.3-regionen og 1q21-regionen på kromosom 1 ved brug af hæmatologisk-deriverede cellesuspensioner, der er fikseret i Carnoys opløsning (3:1 methanol/eddikesyre), fra patienter med bekræftet eller mistænkt myelomatose (MM).

### Indikationer for brug

Denne enhed er designet som et supplement til andre kliniske og histopatologiske tests i anerkendte diagnostiske og kliniske plejeforløb, hvor viden om status af CKS1B eller CDKN2C (P18) er vigtig for den kliniske håndtering.

### Begrænsninger

Dette produkt er designet til at detektere genomiske gevinster eller genomiske tab, som er større end den region, der dækkes af de røde og grønne kloner i dette probesæt, som omfatter CKS1B- og CDKN2C (P18)-regionerne. Genomiske gevinster eller tab uden for denne region eller delvise gevinster eller tab i denne region kan muligvis ikke detekteres med denne enhed. Denne enhed er ikke beregnet til: brug som det eneste diagnostiske værktøj, brug som supplerende diagnostisk værktøj, prænatal test, populationsbaseret screening, test i nærheden af patienter eller selvtestning. Denne enhed er ikke valideret til prøvetyper, sygdomstyper eller formål ud over dem, der er angivet i det tilsigtede formål. Den er beregnet til brug som supplement til andre diagnostiske laboratorietests, og en behandling bør ikke indledes udelukkende på grundlag af FISH-resultatet. Rapportering og fortolkning af FISH-resultater skal udføres af tilstrækkeligt kvalificeret personale, være i overensstemmelse med professionel standardpraksis og bør tage hensyn til andre relevante testresultater, kliniske og diagnostiske informationer. Denne enhed er udelukkende beregnet til brug af faguddannet laboratoriepersonale. Hvis protokollen ikke overholdes, kan det have indflydelse på funktionsevnen og føre til falsk positive/negative resultater.

### Testens principper

Fluorescens *in situ*-hybridisering (FISH) er en teknik, der gør det muligt at detektere DNA-sekvenser på metafasekromosomer eller interfasekerner i fikserede cytogenetiske prøver. Teknikken gør brug af DNA-prøver, som hybridiserer hele kromosomer eller enkelte unikke sekvenser, og er et stærkt supplement til cytogenetisk analyse med G-banding-teknik. Denne teknik kan nu anvendes som et essentielt investigativt værktøj i forbindelse med prænatal analyse, hæmatologiske analyser og kromosomanalyser af solide tumorer. Mål-DNA'et er, efter fiksering og denaturering, klar til hybridisering til en lignende denatureret, fluorescens-mærket DNA-probe med en komplementærsekvens. Efter hybridisering fjernes den ubundne og ikke-specifikt bundne DNA-probe, og DNA'et kontrastfarves med henblik på visualisering. Et fluorescensmikroskop gør det derefter muligt at visualisere den hybridiserede probe på mål-materialet.

### Probe-information

CKS1B-genet (CDC28 protein kinase regulatory subunit 1B) befinder sig ved 1q21, og CDKN2C-genet (cyclin depended kinase inhibitor 2C) befinder sig ved 1p32.3.

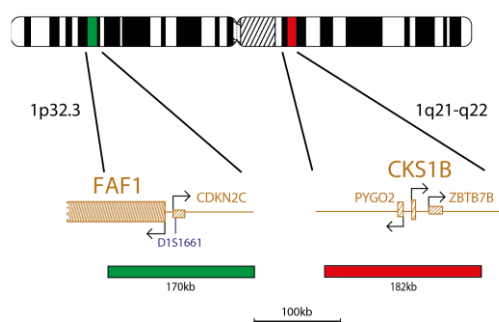
Gevinst i 1q21-regionen inklusive CKS1B er en af de hyppigste kromosomale aberrationer, der ses ved myelomatose<sup>1</sup>. Overekspression af CKS1B-genet opregulerer cellecycklusprogression, hvilket fører til en mere proliferativ sygdom<sup>2</sup>. Dette hænger sammen med den avancerede fænotype for myelomatose og kan derfor associeres med dårlig prognose og sygdomsprogression<sup>1,2,3</sup>. Gevinst i 1q21 er blevet forbundet med dårligere overlevelse, og yderligere amplifikation ses ved sygdomsrelaps. Komplette gevinster i den lange arm af kromosom 1 er ligeledes almindeligt ved myelomatose og kan forekomme som isokromosomer, duplikationer eller "hoppende" translokationer og associeres hyppigt med sygdomsprogression<sup>4</sup>.

CDKN2C er et tumor-suppressor-gen, der er ansvarlig for at fremkalde apoptotisk celledød og DNA-fragmentering<sup>5</sup>. Det opreguleres ved ekspression af cytokin-IL-6 i myelomatose, og homozygot deletion af genet associeres med mere proliferativ sygdom<sup>5</sup>. Selvom CDKN2C-deletioner er rapporteret at være sjældne ved malign sygdom hos mennesker, har cytogenetiske analyser vist, at anomalier af 1p32-36 forekommer hos omkring 16 % af tilfældene med myelomatose og associeres med dårligere samlet overlevelse<sup>2,3,5,6</sup>.

Cytogenetiske anomalier detekteres ved konventionel cytogenetik i omkring et ud af tre tilfælde med myelomatose, men FISH øger proportionen af detekterede kromosomale anomalier til >90 %<sup>7</sup>.

### Probe-specifikation

CKS1B, 1q21-q22, rød  
CDKN2C (P18), 1p32.3, grøn



CKS1B/CDKN2C-produktet består af en 182 kb-probe, der er mærket med rødt og dækker hele CKS1B-genet og de flankerende regioner, herunder PYGO2- og ZBTB7B-generne, og en grøn probe, der dækker en 170kb-region, herunder hele CDKN2C-genet, D1S1661-markøren og den centromeriske ende af FAF1-genet.

### Medleveret materiale

**Probe:** 50 µl pr. hætteglas (5 tests) eller 100 µl pr. hætteglas (10 tests)  
Proberne leveres i en færdigblandet hybridiserings-opløsning (<65 % formamid, <20 mg dextransulfat og < 10 % 20X saline-natriumcitrat (SSC)) og er klar til brug.

### Kontrastfarvning: 150 µl pr. hætteglas (15 tests)

Kontrastfarvningen er DAPI-antifade-opløsning ES (0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-phenylindole) i glycerol-baseret monteringsmedie).

### Advarsler og forsigtighedsregler

1. Til brug til *in vitro*-diagnostik. Må kun anvendes af faguddannet laboratoriepersonale.
2. Probe-blandinger indeholder formamid, som er teratogent: undgå hudkontakt og at indånde dampe. Hånder med omtanke, bær handsker og laboratoriekittel.
3. Hånder DAPI med omtanke, bær handsker og laboratoriekittel.
4. Må ikke anvendes, hvis hætteglasset/glassene er beskadiget, eller deres indhold er kompromitteret på nogen måde.
5. Følg lokale bortskaffelsesregler for din lokalitet samt anbefalingerne i sikkerhedsdatabladet for at bestemme sikker bortskaffelse af dette produkt. Dette gælder også for indholdet af beskadigede testkits.
6. Bortskaf alle brugte reagenser og alle andre kontaminerede engangsmaterialer ved at følge procedurerne for infektiøst eller potentielt infektiøst affald. Det er det enkelte laboratoriums ansvar at håndtere fast og flydende affald i henhold til dets art og grad af farlighed og behandle og bortskaffe det (eller få det behandlet og bortskaffet) i overensstemmelse med gældende regler.
7. Brugeren skal kunne skelne mellem farverne rød, blå og grøn.
8. Hvis den beskrevne protokol og de beskrevne reagenser ikke overholdes, kan det have indflydelse på funktionsevnen og føre til falsk positive/negative resultater.
9. Proben må ikke fortyndes eller blandes med andre prober.
10. Hvis der ikke anvendes 10 µl af proben under præ-denatureringen, som beskrevet i protokollen, kan det have indflydelse på funktionsevnen og føre til falsk positive/negative resultater.
11. Alle produkter bør valideres før brug.
12. Der bør udføres interne kontroller ved brug af upåvirkede cellepopulationer i testprøver.

### Temperaturdefinitioner

- -20 °C/frossen/i fryseren: -25 °C til -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Rumtemperatur (RT): +15 °C til +25 °C

Opbevaring og håndtering

 Kittet skal opbevares mellem -25 °C og -15 °C i en fryser indtil den udløbsdag, der er anført på kittets etiket. Proben og hætteglas med kontrastfarve skal opbevares mørkt.

 FISH-proben, DAPI Antifade ES-kontrastfarvning og Hybridisation Solution forbliver stabil under fryse-optøningscyklusser i forbindelse med normal brug (hvor en cyklus omfatter hætteglassets udtagning fra og genindsætning i fryseren) – 5 cyklusser for 50 µl (5 tests) hætteglas med FISH-probe, 10 cyklusser for 100 µl (10 tests) hætteglas med FISH-probe og 15 cyklusser for 150 µl (15 tests) hætteglas med kontrastvæske. Udsættelse for lys bør minimeres og undgås, hvor det er muligt. Opbevar komponenter i den medfølgende lysbestandige beholder. Komponenter, som anvendes og opbevares under andre forhold end dem, der er angivet på mærkningen, fungerer muligvis ikke som forventet og kan påvirke analyseresultaterne negativt. Man skal bestræbe sig på at begrænse lyspåvirkning og temperaturforandringer.

Nødvendigt udstyr og materialer, som ikke medleveres

- Der skal anvendes kalibreret udstyr:
1. Varmeplade (med en fast plade og nøjagtig temperaturkontrol op til 80 °C)
  2. Kalibrerede mikropipetter med variabel volumen og spidser fra 1 µl til 200 µl
  3. Vandbad med nøjagtig temperaturkontrol ved 37 °C og 72 °C
  4. Mikrocentrifugerør (0,5 ml)
  5. Fluorescensmikroskop (jf. anbefalingerne i kapitlet om fluorescensmikroskopi)
  6. Fasekontrast-mikroskop
  7. Rene plastik, keramiske eller varmeresistente Coplin-glas
  8. Tænger
  9. Kalibreret pH-Meter (eller pH-indikatorstrips, der kan måle pH 6,5-8,0)
  10. Befugtningsbeholder
  11. Immersionsolie til fluorescensmikroskoplinser
  12. Bordcentrifuge
  13. Mikroskop-objektglas
  14. Dækglas på 24x24 mm
  15. Timer
  16. Inkubator på 37 °C
  17. Gummiopløsning (til forsegling af objektglas)
  18. Vortex-blander
  19. Måleglas
  20. Magnetomrører
  21. Kalibreret termometer

Optionalt udstyr, der ikke medleveres

1. Cytogenetisk tørrekammer

Nødvendige reagenser, der ikke medleveres

1. 20x saltvand-natriumcitrat-(SSC)-opløsning
2. 100 % ethanol
3. Tween-20
4. 1M natriumhydroxid (NaOH)
5. 1M saltsyre (HCl)
6. Renset vand

Anbefalinger til fluorescensmikroskopi

Der bør anvendes en 100-Watt kviksløvl-lampe eller tilsvarende og olie-immersions-apochromat-objektiver, plan, 60/63 eller 100x for at opnå optimal visualisering. De fluoroforer, der benyttes i denne probe, vil excitere og udsende lys ved følgende bølgelængder:

| Fluorforer | Excitation <sub>maks.</sub><br>[nm] | Emission <sub>maks.</sub><br>[nm] |
|------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| Grøn       | 495                                 | 521                               |
| Rød        | 596                                 | 615                               |

Sørg for, at mikroskopet har passende excitations- og emissionsfiltre, som dækker de ovenfor nævnte bølgelængder. Benyt et tredobbelte båndpasfilter DAPI/grøn, spektrum/rød eller et dobbelt båndpasfilter grønt spektrum/rødt spektrum for at opnå optimal simultan visualisering af grønne og røde fluoroforer.

Efterprøv før brug, at fluorescensmikroskopet virker korrekt. Benyt immersionsolie, der er beregnet til fluorescensmikroskopi og formuleret til lav automatisk fluorescens. Undgå at blande DAPI-antifade med mikroskopi-immersionsolie, da det vil sløre signalerne. Følg producentens anbefaling angående lampens levetid og filtrens alder.

Prøveklargøring

Kittet er designet til brug på hæmatologisk-deriverede cellesuspensioner, der er fikseret i Carnoys opløsning (3:1 methanol/eddikesyre), som er klargjort i henhold til laboratoriets eller institutionens vejledninger. Præparér lufttørrede prøver på objektglas i henhold til cytogenetiske standardprocedurer. The AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* indeholder anbefalinger angående prøveindsamling, dyrkning, høst og præparering af objektglas<sup>8</sup>.

Klargøring af opløsning

Ethanolopløsninger

Fortynd 100 % ethanol med rensat vand ved at anvende følgende blandingsforhold, og bland omhyggeligt:

- 70 % ethanol – 7 dele 100 % ethanol til 3 dele rensat vand
- 85 % ethanol – 8,5 dele 100 % ethanol til 1,5 dele rensat vand

Opløsningerne kan opbevares i op til 6 måneder ved rumtemperatur i en lufttæt beholder.

2xSSC-opløsning

Fortynd 1 del 20xSSC-opløsning med 9 dele rensat vand, og bland omhyggeligt. Efterprøv pH-værdien, og juster til pH 7,0 ved at bruge NaOH eller HCl efter behov. Opløsningen kan opbevares i op til 4 uger ved rumtemperatur i en lufttæt beholder.

0.4xSSC-opløsning

Fortynd 1 del 20xSSC-opløsning med 49 dele rensat vand, og bland omhyggeligt. Efterprøv pH-værdien, og juster til pH 7,0 ved at bruge NaOH eller HCl efter behov. Opløsningen kan opbevares i op til 4 uger ved rumtemperatur i en lufttæt beholder.

2xSSC; 0,05 % Tween-20-opløsning

Fortynd 1 del 20xSSC-opløsning med 9 dele rensat vand. Tilsæt 5 µl Tween-20 pr. 10 ml, og bland omhyggeligt. Efterprøv pH-værdien, og justér til pH 7,0 ved at bruge NaOH eller HCl efter behov. Opløsningen kan opbevares i op til 4 uger ved rumtemperatur i en lufttæt beholder.

FISH-Protokol

(Bemærk: Probens og kontrastfarvningens eksponering for laboratorielys skal hele tiden begrænses så meget som muligt).

Forberedelse af objektglas

1. Dryp celleprøven på et objektglas. Lad det tørre. (**Valgfrit, hvis der anvendes et cytogenetisk tørrekabinet:** Tørrekammeret bør anvendes ved cirka 25 °C og 50 % luftfugtighed for at få optimale celleprøver. Hvis der ikke er et cytogenetisk tørrekabinet til rådighed, kan der alternativt anvendes et stinkskab.
2. Nedsænk objektglasset i 2xSSC i 2 minutter ved rumtemperatur (RT) uden omrystning.
3. Dehydrer i ethanol i stigende koncentrationer (70 %, 85 % og 100 %), hver i 2 minutter ved RT.
4. Lad det tørre.

Præ-denaturering

5. Tag proben ud af fryseren, og lad den opnå RT. Centrifuger kort rørene inden brug.
6. Sørg for, at probeopløsningen er ensartet blandet med en pipette.
7. Udtag 10 µl af proben pr. test, og transferer til et mikrocentrifugerør. Sæt hurtigt det resterende probemateriale tilbage i fryseren.
8. Sæt proben og prøveobjektglasset til opvarmning på en varmeplade ved 37 °C (+/- 1 °C) i 5 minutter.
9. Dryp 10 µl af probeblandingen på celleprøven, og dæk forsigtigt med et dækglas. Forsegl med gummiopløsning, og lad det tørre fuldstændigt.

Denaturering

10. Denaturer prøve og probe samtidigt ved at varme objektglasset på en varmeplade ved 75 °C (+/-1 °C) i 2 minutter.

Hybridisering

11. Anbring objektglasset i en fugtig, lystæt beholder ved 37 °C (+/-1 °C) natten over.

Vask efter hybridisering

12. Tag DAPI ud af fryseren, og lad det opnå RT.
13. Fjern omhyggeligt dækglasset og alle spor af gummiopløsningen.
14. Nedsænk objektglasset i 0,4xSSC (pH 7,0) ved 72 °C (+/- 1 °C) i 2 minutter uden omrystning.
15. Lad objektglasset tørre, og nedsænk det i 2xSSC, 0,05 % Tween-20 ved RT (pH 7,0) i 30 sekunder uden omrystning.
16. Lad objektglasset tørre, og tilsæt 10 µl DAPI-antifade på hver prøve.
17. Dæk med et dækglas, fjern alle eventuelle bobler, og lad farven udvikle sig i mørke i 10 minutter.
18. Undersøg med et fluorescensmikroskop (jf. anbefalingerne i kapitlet om fluorescensmikroskopi).

Anbefalinger til proceduren

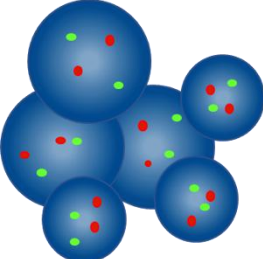
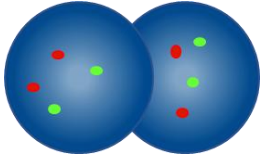
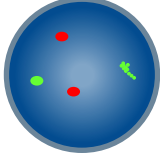
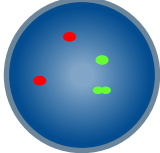
1. Det kan nedsætte signalfluorescensen, hvis objektglassene får for meget varme eller er gamle.
2. Hybridiseringsbetingelserne kan påvirkes negativt, hvis der bruges andre reagenser end dem, der anbefales eller leveres af Cytocell Ltd.
3. Der skal anvendes et kalibreret termometer til at måle temperaturerne i opløsninger, vandbade og inkubatorer, da disse temperaturer er vigtige for at opnå bedst mulige resultater.
4. Stringens ved vaskekonzentrationerne, pH og temperaturerne er vigtigt, da for lav stringens kan føre til ikke-specifik binding af proben, og for høj stringens kan føre til tab af signaler.
5. Ikke-komplet denaturering kan føre til tab af signaler, og for høj denaturering kan også føre til ikke-specifik binding.
6. Overhybridisering kan føre til yderligere eller uventede signaler.
7. Brugere bør optimere protokollen til egne prøver, før testen bruges til diagnostiske formål.
8. Suboptimale betingelser kan føre til ikke-specifik binding, som kan mistolkes som et probesignal.

Fortolkning af resultater  
Vurdering af objektglaskvaliteten  
Objektglaset bør ikke analyseres, hvis:

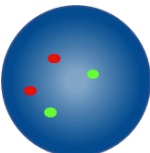
- Signalerne er for svage til, at de enkelte filtre kan analyseres – for at fortsætte med en analyse skal signalerne være lyse, klare og nemme at vurdere
- Der er et højt antal af klumpende/overlappende celler, som slører analysen
- >50 % af cellerne ikke er hybridiseret
- der er for mange fluorescenspartikler mellem cellerne og/eller en fluorescerende dis, der forstyrrer signalerne – optimale objektglas har en enten mørk eller sort og ren baggrund
- cellekernens omrids ikke kan skelnes og ikke er intakt

Analysevejledninger

- Der skal altid være to brugere til at analysere og fortolke hver prøve. Enhver diskrepans skal afklares ved en vurdering fra en tredje bruger
- Hver bruger skal have passende faglige kvalifikationer i overensstemmelse med anerkendte nationale standarder
- Hver bruger bør uafhængigt bedømme 100 kerner for hver prøve. Den ene bruger starter analysen fra venstre side af objektglaset, og den anden bruger starter fra højre side
- Brugerne skal dokumentere deres resultater skriftligt hver for sig
- Der skal kun analyseres intakte kerner, ingen overlappende eller klumpende kerner, der er dækket af cytoplasmisk debris eller har en høj grad af autofluorescens
- Undgå områder med overskud af cytoplasmatiske debris eller ikke-specifik hybridisering
- Signalintensiteten kan variere, selv for den enkelte kerne. I sådanne tilfælde anvendes enkeltfiltre og/eller justering af det fokale plan
- Ved suboptimale betingelser kan signalerne virke diffuse. Hvis to signaler med samme farve berører hinanden, eller afstanden mellem dem ikke er større end bredden på to signaler, eller hvis der er en svag streng, der forbinder de to signaler, tælles de som ét signal
- Når der analyseres tofarvede "break-apart"-prober, og der er et hul mellem de røde og grønne signaler, som ikke er større end 2 signalers bredde, tælles det som et ikke-rearrangeret/fusioneret signal
- Når der analyseres trefarvede "break-apart"-prober, og der er et hul mellem nogen af de 3 signaler (røde, grønne og blå signaler), som ikke er større end 2 signalers bredde, tælles det som et ikke-rearrangeret/fusioneret signal
- Hvis man er i tvivl, om en celle kan analyseres eller ej, så analyseres den ikke

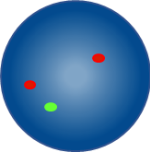
| Analysevejledninger                                                                 |                                                                                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | Tæl ikke - cellekernerne er for tæt på hinanden til, at der kan bestemmes grænser                             |
|  | Tæl ikke cellekerner, der overlapper hinanden – det er ikke alle områder af de to cellekerner, der er synlige |
|  | Tæl som to kontrolsignaler – et af de to grønne signaler er diffust                                           |
|  | Tæl som to kontrolsignaler – hullet i et af de grønne signaler er mindre end to signalers bredde              |

Forventede resultater  
Forventet normalt signalmønster

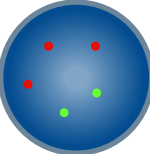


I en normal celle forventes der to røde og to grønne signaler (2R2G).

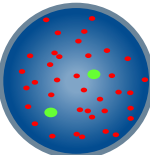
Forventede abnorme signalmønstre



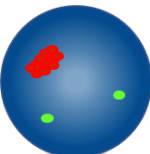
I en celle med en 1p32.3-deletion vil det forventede signalmønster være to røde signaler og et grønt signal (2R1G).



I en celle med gevinst i locus 1q21 vil det forventede signalmønster være to grønne og tre eller flere røde signaler (3+R2G).



I en celle med amplifikation af 1q21-locus, kan dette observeres som et stort antal små røde signaler spredt ud over cytoplasma sammen med to grønne kontrolsignaler (ampR2G).



I en celle med amplifikation af 1q21-locus, hvilket resulterer i en homogen farvet region, vil der kunne ses et stort antal røde signaler langs det langstrakte og udvidede kromosomale segment sammen med to grønne kontrolsignaler (ampR2G).

Andre signalmønstre er mulige i aneuploide/ubalancerede prøver.

Kendte relevante interferencer/interfererende stoffer

Ingen kendte relevante interferencer/interfererende stoffer.

Kendt krydsreaktion

Ingen kendt krydsreaktion

Indberetning af alvorlige hændelser

For patienter/brugere/tredjeparter i EU og lande med identisk reguleringsordning (forordning (EU) 2017/746 om *in vitro*-diagnostisk medicinsk udstyr) gælder det, at hvis der er opstået en alvorlig hændelse under brugen af denne enhed eller som følge af dens brug, skal det rapporteres til producenten og til den nationale kompetente myndighed.

Alvorlige hændelser i andre lande skal rapporteres til producenten og, hvis det er relevant, til den nationale kompetente myndighed.

Producentens vigilance-kontakt: [vigilance@oqt.com](mailto:vigilance@oqt.com)

En liste med vigilance-kontaktsteder for nationale kompetente myndigheder i EU kan findes på:

[https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts\\_en](https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en)

Særlige ydelseskarakteristika

Analytisk specificitet

Analytisk specificitet er defineret som procentdelen af signaler, som kun hybridiserer til det korrekte locus og ingen anden lokalitet. Der blev analyseret fire kromosomale loci i hver af 20 metafaseceller fra fem prøver, hvilket gav 400 data points. Lokationen for hver hybridiseret probe blev kortlagt, og antallet af FISH metafasekromosomsignaler, som hybridiseredes til det korrekte locus, blev registreret.

Den analytiske specificitet af hver probe i kittet blev beregnet som antallet af FISH-metafasekromosomsignaler, som hybridiseredes til det rette locus, delt med det samlede antal af hybridiserede FISH-metafasekromosomsignaler, og dette resultat blev multipliceret med 100, udtrykt som procentdel og givet med et konfidensinterval på 95 %.

Tabel 1. Analytisk specificitet for CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe

| Mål    | Antal hybridiserede metafasekromosomer | Antal korrekt hybridiserede loci | Analytisk specificitet | 95 % konfidensinterval |
|--------|----------------------------------------|----------------------------------|------------------------|------------------------|
| 1q21   | 200                                    | 200                              | 100 %                  | 98,12 % – 100 %        |
| 1p32.3 | 200                                    | 200                              | 100 %                  | 98,12 % – 100 %        |

#### Analytisk sensitivitet

Analytisk sensitivitet er procentdelen af de interfaseceller, der kan tælles med det forventede normale signalmønster. Der blev analyseret mindst 100 interfaseceller for hver af 25 fikserede cellesuspensioner fra knoglemarv og 25 fikserede cellesuspensioner fra CD138+ plasmaceller, der blev anset som negative for en *CKS1B*-gevinst-ampifikation eller en *CDKN2C*-deletion, hvilket resulterede i minimum 2.500 kerner i en score for hver prøvetype. Følsomhedsdata blev analyseret på grundlag af procentdelen af celler, der viste et normalt, forventet signalmønster, og blev udtrykt som en procentdel med et konfidensinterval på 95 %.

Tabel 2. Analytisk sensitivitet for CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe

| Prøvetype  | Sensitivitetskriterier | Sensitivitetsresultater      |
|------------|------------------------|------------------------------|
| Knoglemarv | >95 %                  | 98,68 %<br>(97,87 %-99,49 %) |
| CD138+     | >95 %                  | 95,95 %<br>(94,96 %-96,94 %) |

#### Karakterisering af normale cut-off-værdier

Normalt cut-off er defineret som procentdelen af celler, der udviser et falskt-positivt signalmønster, der fører til, at det hos en person ville blive betragtet som normalt og ikke svarende til en klinisk diagnose. Der blev analyseret mindst 100 interfaseceller for hver af 25 fikserede cellesuspensioner fra knoglemarv og 25 fikserede cellesuspensioner fra CD138+, der blev anset som negative for en *CKS1B*-gevinst-ampifikation eller en *CDKN2C*-deletion, hvilket resulterede i minimum 2.500 kerner i en score for hver prøvetype.

Cut-off-værdien blev bestemt ved brug af  $\beta$ -inverse-funktionen (BETAINV) i MS Excel. Den blev beregnet som procentdelen af interfaseceller, der viste et falskt-positivt signalmønster ved brug af den øvre grænse af et en-sidet konfidensinterval på 95 % af den binomiale fordeling i en normal patientprøve.

Tabel 3. Karakterisering af normale cut-off-værdier for CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe

| Prøvetype  | Cut-off-resultater 3R2G | Cut-off-resultater 2R1G |
|------------|-------------------------|-------------------------|
| Knoglemarv | 5,93 %                  | 5,71 %                  |
| CD138+     | 9,24 %                  | 10,21 %                 |

Laboratorier skal verificere cut-off-værdier ved at bruge deres egne data<sup>9,10</sup>.

#### Præcision

Præcisionen af dette produkt er blevet målt i forhold til intra-dag-præcision (prøve-til-prøve) inter-dag-præcision (dag-til-dag) og enkelt-hospital inter-lot-præcision (lot-til-lot).

Der blev anvendt tre (3) prøver til at bestemme præcisionen for dette produkt: 1 normal CD138+-prøve, 1 CD138+ lav-positiv for 2R1G (-*CDKN2C*) og 1 CD138+ lav-positiv for 3R2G (+*CKS1B*). De lav-positive CD138+-prøver blev klargjort ved at bruge en andel af de negative CD138+-prøver og forstærke denne med en kendt positiv CD138+-prøve med det formål at skabe lave-positive prøver i området 2-4x cut-off som en provokation af det etablerede cut-off.

Prøverne blev evalueret over 10 ikke-følgende dage for at etablere inter-dag- og intra-dag-præcision, og for at etablere lot-til-lot-præcision blev der evalueret 3 produktlots på 3 replikater af de samme prøver. Resultaterne blev præsenteret som samlet overensstemmelse med den forudsagte negative klasse (for de negative prøver).

Tabel 4. Reproducerbarhed og præcision af CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe

| Variabel                          | Prøvetype                                  | Overensstemmelse |
|-----------------------------------|--------------------------------------------|------------------|
| Intra-dag- og inter-dag-præcision | Normal CD138+ (negativ)                    | 100 %            |
|                                   | CD138+ lav-positiv 2R1G (- <i>CDKN2C</i> ) | 100 %            |
|                                   | CD138+ lav-positiv 3R2G (+ <i>CKS1B</i> )  | 100 %            |
| Lot-til-lot-præcision             | Normal CD138+ (negativ)                    | 100 %            |
|                                   | CD138+ lav-positiv 2R1G (- <i>CDKN2C</i> ) | 100 %            |
|                                   | CD138+ lav-positiv 3R2G (+ <i>CKS1B</i> )  | 100 %            |

#### Klinisk ydeevne

For at sikre, at produktet detekterer de påtænkte rearrangementer, blev den kliniske ydeevne fastslået ved 1 undersøgelse af repræsentative prøver fra den påtænkte population for produktet: restmateriale fra hæmatologisk-deriverede prøver fikseret med methanol/eddikesyre. Prøvestørrelsen for undersøgelsen var 23 prøver med en målpopulation på 10 positive prøver for enten *CKS1B*-

amplifikation, *CDKN2C*-deletion eller begge dele og 13 negative prøver for både *CKS1B*-amplifikation eller *CDKN2C*-deletion. Alle prøver blev afidentificeret og randomiseret for at forebygge analysebias. Resultaterne blev derefter sammenlignet med den kendte status for prøven. Proben identificerede korrekt status for alle prøver i alle instanser.

Resultatet af disse tests blev analyseret for at se klinisk følsomhed, klinisk specificitet og værdier for falsk-positiv-raten (FPR) af positive signaler ved brug af en endimensional fremgangsmåde.

Tabel 5. Klinisk ydeevne for CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe, Amplification CKS1B-resultater

| Variabel                                                           | Resultat |
|--------------------------------------------------------------------|----------|
| Klinisk sensitivitet (sand positiv rate, TPR [True Positive rate]) | 98,71 %  |
| Klinisk specificitet (sand negativ rate, TNR [True Negative rate]) | 99,75 %  |
| Falsk positiv rate (FPR, False Positive rate) = 1 – Specificitet   | 0,25 %   |

Tabel 6. Klinisk ydeevne for CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe, Deletion CDKN2C-resultater

| Variabel                                                           | Resultat |
|--------------------------------------------------------------------|----------|
| Klinisk sensitivitet (sand positiv rate, TPR [True Positive rate]) | 100 %    |
| Klinisk specificitet (sand negativ rate, TNR [True Negative rate]) | 100 %    |
| Falsk positiv rate (FPR, False Positive rate) = 1 – Specificitet   | 0 %      |

#### Sammenfatning af sikkerhed og ydeevne (SSP)

SSP'et skal gøres tilgængeligt for offentligheden via den europæiske database over medicinsk udstyr (Eudamed), hvor det knyttes til Basic UDI-DI'et. Eudamed-URL: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> Basic UDI-DI: 50558449LPH039JS

Hvis Eudamed ikke er fuldt funktionelt, skal SSP'et gøres tilgængeligt for offentligheden på anmodning ved at sende en e-mail til [SSP@oqt.com](mailto:SSP@oqt.com).

#### Yderligere information

Kontakt Cytocell Technical Support Department, hvis du ønsker yderligere produktinformationer.  
T: +44 (0)1223 294048  
E: [techsupport@cytocell.com](mailto:techsupport@cytocell.com)  
W: [www.oqt.com](http://www.oqt.com)

#### Referencer

- Hanamura I, Blood 2006;108(5):1724-32
- Fonseca *et al.*, Leukemia 2009;23(12):2210-2221
- Sawyer, Cancer Genetics 2011;204(1):3-12
- Fonseca *et al.*, Leukemia 2006;20(11):2034-40
- Leone *et al.*, Clin Cancer Res 2008;14(19):6033-41
- Kulkarni *et al.*, Leukemia 2002;16: 127-34
- Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC,2017
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- 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.
- 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.

#### Symbolordliste

| EN ISO 15223-1:2021 – “Medicinsk udstyr – symboler, der skal bruges sammen med oplysninger fra producenten – del 1: Generelle krav”<br>(© International Organization for Standardization) |                                                             |                        |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|------------------------|
| Symbol                                                                                                                                                                                    | Titel                                                       | Referencenummer/-numre |
|                                                                                                       | da: Producent                                               | 5.1.1                  |
|                                                                                                       | da: Autoriseret repræsentant i Det Europæiske Fællesskab/EU | 5.1.2                  |
|                                                                                                        | da: Sidste anvendelsesdato                                  | 5.1.4                  |
|                                                                                                       | da: Batch-kode                                              | 5.1.5                  |
|                                                                                                       | da: Katalognummer                                           | 5.1.6                  |

|                                                                                                  |                                                             |                               |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-------------------------------|
|                  | <b>da:</b> Holdes væk fra sollys                            | 5.3.2                         |
|                 | <b>da:</b> Temperaturgrænse                                 | 5.3.7                         |
|                 | <b>da:</b> Se brugsanvisningen                              | 5.4.3                         |
| <br>ogt.com/IFU | <b>da:</b> Se den elektroniske udgave af brugsanvisningen   | 5.4.3                         |
|                 | <b>da:</b> Forsigtig                                        | 5.4.4                         |
|                 | <b>da:</b> Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik | 5.5.1                         |
|                 | <b>da:</b> Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests          | 5.5.5                         |
|                 | <b>da:</b> Unik enhedsidentifikator                         | 5.7.10                        |
| <b>EDMA-symboler til IVD-reagenser og -komponenter, revision fra oktober 2009</b>                |                                                             |                               |
| <b>Symbol</b>                                                                                    | <b>Titel</b>                                                | <b>Referencenummer/-numre</b> |
|                 | <b>da:</b> Indhold (eller indeholder)                       | N/A                           |

#### Patenter og varemærker

CytoCell er et registreret varemærke tilhørende CytoCell Limited.



#### **Cytocell Limited**

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

T: +44 (0)1223 294048  
F: +44 (0)1223 294986  
E: [probes@cytoCELL.com](mailto:probes@cytoCELL.com)  
W: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)



#### **Sysmex Europe SE**

Bornbarch 1  
22848 Norderstedt  
TYSKLAND

T: +49 40 527260  
W: [www.sysmex-europe.com](http://www.sysmex-europe.com)

#### IFU-versionshistorik

V001.00 2023-01-11: Ny IFU til forordning (EU) 2017/746  
V002 2025-08-29: Fjernelse af UKCA-mærket.