A Sysmex Group Company

CytoCell

Gebruiksaanwijzing

REF: CE-LPH 011-S / CE-LPH 011

ATM Deletion Probe

CE IVD
2797

ALLEEN VOOR PROFESSIONEEL GEBRUIK

ogt.com/IFU

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

Gebruiksdoel

De CytoCell® ATM 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 in een Carnoy's oplossing (3:1 methanol/azijnzuur) met gefixeerde hematologisch verkregen celsuspensies van patiënten die vermoedelijk acute lymfatische leukemie (CLL) 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 deletiestatus van *ATM* te weten.

Beperkingen

Dit hulpmiddel is ontworpen om genoomverliezen groter dan het gebied dat wordt beslaan door de rode kloon in deze sondeset te detecteren, inclusief het gebied *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 tests, screening op basis van populatie, 'near-patient' tests of zelftests.
Dit hulpmiddel is niet gevalideerd voor monstertypes, ziektetypes of doeleinden die niet worden gespecificeerd in het gebruiksdoel.
Het is bedoeld als aanvulling op andere diagnostische laboratoriumtests en er mag geen therapeutische actie worden ondernomen op basis van enkel het FISH-resultaat.
De rapportage en interpretatie van FISH-resultaten moet worden uitgevoerd door gekwalificeerd personeel, consistent zijn met professionele praktijknormen en er moet rekening worden gehouden met andere relevante testresultaten en klinische en diagnostische informatie.
Dit hulpmiddel is alleen 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 gedenatureerde 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

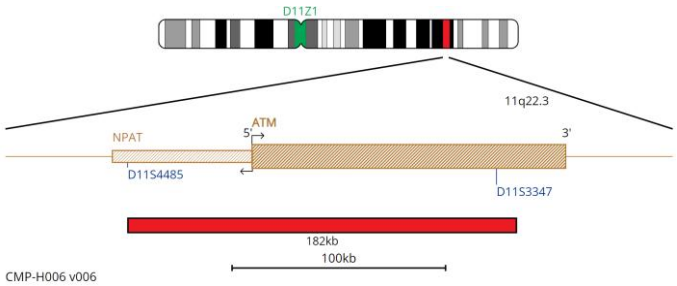
Het proteïnekinase *ATM*-gen (*ATM serine/threonine kinase*) op 11q22.3 vertoont vaak deletie in gevallen van B-cel chronische lymfatische leukemie (CLL). *ATM* is een belangrijk checkpoint-gen dat is betrokken bij het beheer van celschade. De functie van het gen is het beoordelen van de hoeveelheid DNA-schade in de cel en dit proberen te repareren door het fosforyleren van belangrijke substraten die zijn betrokken bij de reactiebaan voor DNA-schade[1].

B-CLL is de meest voorkomende vorm van leukemie bij volwassenen; het verloop verschilt van zeer traag tot zeer progressief. Vanwege de lage mitotische activiteit van de leukemiecellen *in vitro* worden klonale chromosoomafwijkingen in 40-50%[2] van de gevallen gedetecteerd door conventionele cytogenetica met B-celmitogenen. FISH-analyse identificeert chromosoomafwijkingen echter in ongeveer 80%[2] van de B-CLL-gevallen. Screening op deleties van *ATM* en/of *TP53* is van cruciaal belang om geïnformeerde beslissingen te nemen over de behandeling van B-CLL-patiënten, omdat deleties van *TP53* en *ATM* bij deze ziekte tot een slechtere prognose leiden[4]; het gebruik van FISH is daarom belangrijk voor zowel de diagnose als behandeling van patiënten met B-CLL[2,3,4].

Analyse van de *ATM/TP53*-interactie in B-CLL heeft aangetoond dat *TP53* en *ATM* een belangrijke rol spelen bij de proliferatie van lymfoomkanker[1]. Er is aangetoond dat *ATM* de fosforylatie van *TP53* verbetert als de schade zo groot is dat de cel door apoptose moet worden vernietigd (dit proces wordt geregeld door *TP53*). Deletie van *ATM* verwijdert deze checkpoint-activiteit en dus de activatie van *TP53*. Er wordt daarom geen poging gedaan tot reparatie, of apoptose van, beschadigde cellen, ondanks de aanwezigheid van *TP53*. Als *ATM* niet aanwezig is, kunnen beschadigde cellen zich blijven prolifereren[5].

Sondespecificatie

ATM, 11q22.3, rood
D11Z1, 11p11.11-q11, groen



De ATM-sonde is 182kb, rood gemarkeerd, en beslaat het telomerische uiteinde van het *NPAT*-gen en het centromerische uiteinde van het *ATM*-gen tot net na de marker D11S3347. Het sondemengsel bevat ook een controlesonde voor het 11 centromeer (D11Z1) die groen is gemarkeerd.

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-vitrodiagnostiek*. 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 ºC tot -15 ºC 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 50 µl (5 tests) buisje van de FISH sonde, 10 cycli voor het 100 µl (10 tests) buisje van de FISH sonde en 15 cycli voor het 150 µl (15 tests) buisje 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 ºC)
2. Gekalibreerde micropipetten en tips met variabel volume van 1 µl - 200 µl
3. Waterbad met nauwkeurige temperatuurbediening op 37 ºC en 72 ºC
4. Microcentrifugebuisjes (0,5 ml)
5. Fluorescentiemicroscoop (zie de paragraaf Aanbevelingen fluorescentiemicroscoop)
6. Fasecontrastmicroscoop
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. Afdekglaasjes van 24x24 mm
15. Timer
16. 37 ºC-incubator
17. Rubberen lijmoplossing
18. Vortexmenger
19. Maatcilinders
20. Magneetroerder
21. Gekalibreerde thermometer

Optionele maar niet meegeleverde apparatuur
1. Cytogenetische droogkamer

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

Aanbevelingen fluorescentiemicroscoop

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 spectrum/rode spectrum voor optimale gelijktijdige visualisatie van de groene en rode fluoroforen.

Controleer de fluorescentiemicroscoop 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 objectglaasjes[6].

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 bevlekking 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 ºC (+/- 1 ºC) gedurende 5 minuten om voor te verwarmen.
9. Plaats 10 µl sondemengsel op het celmonster en plaats voorzichtig een afdekglaasje. Dicht het af met rubberen lijmoplossing en laat de lijm volledig opdrogen.

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

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

Post-hybridisatie spoelbeurten
12. Haal de DAPI uit de vriezer en laat deze op KT komen.
13. Verwijder het afdekglaasje en alle sporen van lijm voorzichtig.
14. Dompel het glaasje gedurende 2 minuten onder in 0,4xSSC (pH 7,0) bij 72 ºC (+/-1 ºC) zonder het te bewegen.
15. Laat het glaasje afdruipen 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 afdruipen en breng 10 µl DAPI Antifade aan op ieder monster.
17. Bedek het met een afdekglaasje, verwijder eventuele luchtbellen en laat de kleur 10 minuten in het donker ontwikkelen.
18. Bekijk met een fluorescentiemicroscoop (zie **Aanbevelingen fluorescentiemicroscoop**).

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

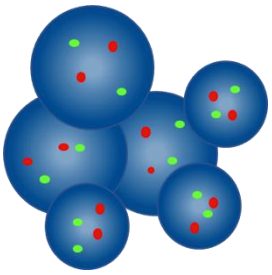
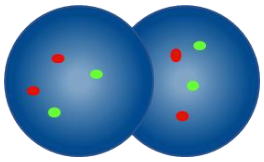
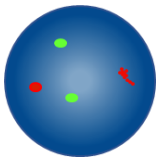
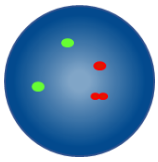
Glaasjeskwaliteit beoordelen

Het glaasje dient niet te worden geanalyseerd indien:

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

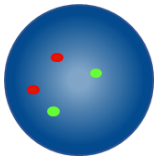
Analyserichtlijnen

- 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 enkelvoudige 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 – 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 signaalbreedtes.

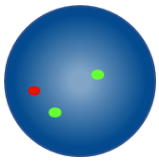
Verwachte resultaten

Verwacht normaal signaalpatroon



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

Verwacht abnormaal signaalpatroon



In een cel met een ATM-deletie wordt één rood signaal en twee groene signalen (1R2G) verwacht.

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

Bekende relevante interferenties / interfererende substanties

Geen relevante interferenties / interfererende substanties bekend.

Bekende kruisreactiviteit

De groene D11Z1-sonde kan kruishybridisatie met 1c, Xc en 17c laten zien.

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@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. Vier chromosomale loci van iedere twintig 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 ATM Deletion Probe

Doel	Aantal metafase chromosomale gehybridiseerd	Aantal juist gehybridiseerde loci	Analytische specificiteit	95% betrouwbaar-heidsinterval
11q22.3	200	200	100%	98,12% - 100%
11p11.11-11q11	200	200	100%	98,12% - 100%

Analytische sensitiviteit

Analytische sensitiviteit is het percentage scoorbare interfasecellen met het verwachte normale signaalpatroon. Minimaal 100 interfase cellen werden geanalyseerd, waarvan 25 gefixeerde celsuspensies van beenmerg en 25 gefixeerde celsuspensies van perifeer bloed. 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 ATM Deletion Probe

Monstertype	Sensitiviteitscriteria	Sensitiviteitsresultaat
Beenmerg	> 95%	97,48% (96,58% - 98,38%)
Perifeer bloed	> 95%	96,88% (95,60% - 98,16%)

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 interfase cellen werden geanalyseerd, waarvan 25 gefixeerde celsuspensies van beenmerg en 25 gefixeerde celsuspensies van perifeer bloed. 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 ATM Deletion Probe

Monstertype	Drempelresultaat
Beenmerg	9,77%
Perifeer bloed	10,58%

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).

Er werden twee monsters gebruikt om de precisie van dit product te beoordelen: een beenmerg negatief monster en een kunstmatig beenmerg laag-positief monster samengesteld om het product op de proef te stellen rond de vastgestelde grenswaarde.

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 drie partijen van het product geëvalueerd op drie 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 ATM Deletion Probe

Variabele	Monstertype	Overeenkomst
Reproduceerbaarheid op dezelfde dag (tussen monsters) en op een andere dag (tussen dagen)	Beenmerg negatief	100%
	Beenmerg laag-positief	100%
Reproduceerbaarheid tussen partijen	Beenmerg negatief	100%
	Beenmerg laag-positief	100%

Klinische prestatie

Om er zeker van te zijn dat het product de beoogde herschikkingen detecteert, werd de klinische prestatie vastgesteld tijdens drie onderzoeken van representatieve monsters van de beoogde populatie voor het product: 3:1 methanol/azijnzuur gefixeerd materiaal van hematologisch verkregen monsters. De steekproefomvang voor het onderzoek bedroeg 27 monsters met als doelpopulatie 13 positieve monsters en 14 negatieve monsters, bestaande uit 11 negatieve beenmergmonsters, 3 negatieve perifeer bloedmonsters, 10 positieve beenmergmonsters en 3 positieve perifeer bloedmonsters. 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 ATM Deletion Probe

Variabele	Resultaat
Klinische sensitiviteit (TPR [true positive rate; percentage terecht positieven])	100,00%
Klinische specificiteit (TNR [true negative rate; percentage terecht negatieven])	100,00%
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 gelinkt met de Basic UDI-DI.
Eudamed URL: https://ec.europa.eu/tools/eudamed
Basic UDI-DI: 50558449LPH011J4

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. Stankovic, *et al*. Blood. 2004;103(1):291-300.
2. Dohner, *et al*. N Eng J Med. 2000;343:1910-1916.
3. Zent, *et al*. Blood. 2010;115(21):4154-4155.
4. Rossi, *et al*. Blood. 2013;121(8):1403-1412.
5. Khanna, *et al*. Nature Genetics. 1998;20(4):398-400.
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, 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)		
Symbool	**Titel**	**Referentienummer(s)**
	**nl:** Fabrikant	5.1.1
	**nl:** Geautoriseerde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap/Europese Unie	5.1.2
	**nl:** Houdbaarheidsdatum	5.1.4
	**nl:** Partijnummer	5.1.5
	**nl:** Catalogusnummer	5.1.6
	**nl:** Buiten bereik van zonlicht bewaren	5.3.2
	**nl:** Temperatuurgrens	5.3.7
	**nl:** Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	5.4.3
 ogt.com/IFU	**nl:** Raadpleeg de elektronische gebruiksaanwijzing	5.4.3
	**nl:** Let op	5.4.4
	**nl:** Medisch hulpmiddel voor *in-vitrodiagnostiek*	5.5.1
	**nl:** Bevat voldoende voor <n> tests	5.5.5
	**nl:** Unieke hulpmiddel identificatiecode	5.7.10

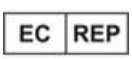
EDMA-symbolen voor IVD-reagentia en -componenten, revisie oktober 2009		
Symbool	**Titel**	**Referentienummer(s)**
	**nl:** Inhoud (of bevat)	N.v.t.

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
E: probes@cytocell.com
W: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Deelböge 19 D
22297 Hamburg
DUITSLAND

W: www.sysmex-europe.com

Versiegeschiedenis gebruiksaanwijzing
V001 2026-10-29: Nieuwe IFU voor EU Verordening 2017/746