



A Sysmex Group Company



## Gebruiksaanwijzing

REF: CE-LPH 007-S / CE-LPH 007

## BCR/ABL (ABL1) Translocation, Dual Fusion Probe



ALLEEN VOOR PROFESSIONEEL GEBRUIK



Meer informatie en andere talen zijn beschikbaar via [ogt.com/IFU](http://ogt.com/IFU)

### Gebruiksdoel

De CytoCell® BCR/ABL (ABL1)-Translocation, Dual Fusion Probe is een kwalitatieve, niet-geautomatiseerde fluorescentie-in-situhybridisatietest (FISH) die wordt gebruikt voor het detecteren van chromosoomherschikkingen tussen het gebied 22q11.2 op chromosoom 22 en het gebied 9q34.1 op chromosoom 9 in een Carnoy's oplossing (3:1 methanol/azijnzuur) met gefixeerde hematologisch verkregen celsuspensies van patiënten die vermoedelijk chronische myeloïde leukemie (CML), acute myeloïde leukemie (AML) of acute lymfoblastische leukemie (ALL) 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 translocatiestatus van *BCR::ABL1* te weten.

### Beperkingen

Dit hulpmiddel is ontworpen om herschikkingen met breekpunten te detecteren in het gebied dat wordt beslaan door de rode en groene klonen in deze sondeset, inclusief de gebieden *BCR* en *ABL1*. Breekpunten buiten dit gebied, of herschikkingvarianten die geheel binnen dit gebied liggen, worden mogelijk niet gedetecteerd door dit hulpmiddel.

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

Dit hulpmiddel is niet gevalideerd voor monstertypes, ziekte-types 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 gedeneerde 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 *BCR*-gen (*BCR-activator van RhoGEF en GTPase*) ligt op 22q11.2 en het *ABL1*-gen (*ABL-proto-oncogen 1, non-receptor tyrosine kinase*) ligt op 9q34.1. Translocatie tussen deze twee genen leidt tot het *BCR::ABL1*-fusiegen en produceert een Philadelphia-chromosoom; dit is het zichtbare resultaat van deze translocatie.

De aanwezigheid van een *BCR::ABL1*-fusie heeft belangrijke diagnostische en prognostische gevolgen voor een aantal hematologische aandoeningen.

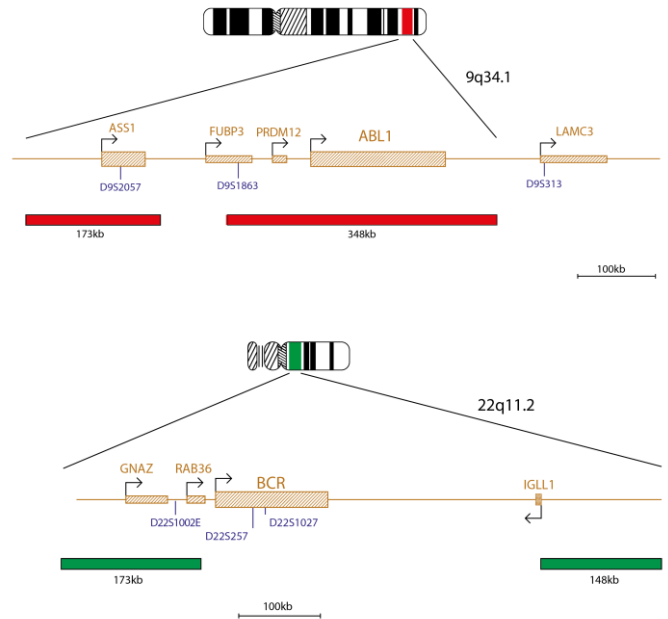
De t(9;22)(q34.1;q11.2)-translocatie is het kenmerk van chronische myeloïde leukemie (CML) en is in 90-95% van de gevallen aanwezig<sup>1</sup>. In de overige gevallen is er een translocatievariant aanwezig of een cryptische herschikking van 9q34.1 en 22q11.2 die niet kan worden geïdentificeerd door normale cytogenetische analyse<sup>1</sup>.

De *BCR::ABL1*-fusie is ook aanwezig in 25% van alle volwassenen met acute lymfoblastische leukemie (ALL) en in 2-4% van alle kinderen met ALL<sup>1</sup>. Er is aangetoond dat de aanwezigheid van een *BCR::ABL1*-fusie leidt tot een slechte prognose voor zowel volwassenen als kinderen met ALL<sup>1,2</sup>. Het detecteren van de afwijking is daarom zeer belangrijk voor risicostratificatie, wat behandelings- en begeleidingsbeslissingen zal beïnvloeden<sup>2</sup>. In een klein aantal ALL-gevallen leidt de translocatie niet tot een cytogenetisch zichtbaar Philadelphia-chromosoom. In deze gevallen is FISH van cruciaal belang voor het markeren van het fusiegen<sup>3</sup>.

Deze herschikking is ook aanwezig in zeldzame gevallen van acute myeloïde leukemie (AML). Philadelphia-positieve AML wordt gekenmerkt door een weerstand tegen conventionele standaard chemotherapie en een slechte prognose<sup>4</sup>, dus nauwkeurige en snelle identificatie van deze chromosoomafwijking is van cruciaal belang.

### Sondespecificatie

ABL1, 9q34.1 rood  
BCR, 22q11.2 groen



Het rode sondemengsel bevat een 348kb sonde die het *ABL1*-gen beslaat en een 173kb sonde die het *ASS1*-gen beslaat. Het groene sondemengsel bevat een 173kb sonde die zich centromerisch van het *BCR*-gen bevindt en de genen *GNAZ* en *RAB36* beslaat. Een tweede groene sonde beslaat een gebied van 148kb telomerisch van het *BCR*-gen en beslaat een gedeelte van het *IGLL1*-gen.

### Geleverde materialen

**Sonde:** 50 µl per buisje (5 tests) of 100 µl per buisje (10 tests)

De sondes worden gemengd geleverd in een hybridisatieoplossing (< 65% formamide; < 20 mg dextraansulfaat; < 10% van 20x zout-natriumcitraat (SSC)) en zijn klaar voor gebruik.

**Tegenkleuring:** 150 µl per buisje (15 tests)

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

### Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

1. Voor *in-vitro*diagnostiek. Alleen voor professioneel gebruik in laboratoria.
2. De sondemengsels bevatten formamide. Dit is een teratogeen; 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.


DS552/CE-nl v001/2023-01-11 (H008 v4 / H009 v3)

- Niet gebruiken als de buisjes zijn beschadigd of als de inhoud van de buisjes op wat voor manier dan ook is aangetast.
- 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.
- 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.
- Gebruikers moeten de kleuren rood, blauw, en groen kunnen onderscheiden.
- De prestaties van het hulpmiddel worden mogelijk beïnvloed als het beschreven protocol niet wordt opgevolgd en de voorgeschreven reagentia niet worden gebruikt. Dit kan ook leiden tot fout-positieve/negatieve resultaten.
- De sonde moet niet worden verdund of gemengd met andere sondes.
- De prestaties worden mogelijk beïnvloed als er geen sonde van 10 µl wordt gebruikt tijdens het pre-denaturatiestadium van het protocol. Dit kan ook leiden tot fout-positieve/negatieve resultaten.
- Alle producten moeten voor gebruik worden gevalideerd.
- Er dienen interne inspecties plaats te vinden met gebruik van gezonde celpopulaties in testmonsters.

#### Temperatuurdefinitie

- 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 vriesdooi-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:

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

#### Optionele maar niet meegeleverde apparatuur

- Cytogenetische droogkamer

#### Benodigde maar niet meegeleverde reagentia

- 20x SSC-oplossing (zout-natriumcitraat)
- 100% ethanol
- Tween-20
- 1M natriumhydroxide (NaOH)
- 1M zoutzuur (HCl)
- Gezuiverd water

#### Aanbevelingen fluorescentiemicroscop

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

Fluorofoor	Excitatie <sub>max</sub> [nm]	Emissie <sub>max</sub> [nm]
Groen	495	521
Rood	596	615

Zorg ervoor dat de juiste excitatie- en emissiefilters die de bovenstaande golflengtes beslaan op de microscop worden aangebracht. Gebruik een driefoldige bandpassfilter voor DAPI/het groene spectrum/het rode spectrum of een tweevoldige 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 microscopimmersion-olie, omdat dit signalen kan verstoren. Volg de richtlijnen van de fabrikant wat betreft de levensduur van de lamp en de filters.

#### Monstervoorbereiding

De set is ontworpen voor gebruik 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<sup>5</sup>.

#### Oplossingsvoorbereiding

##### Ethanoloplossingen

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

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

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

##### 2xSSC-oplossing

Verdund 1 deel 20xSSC-oplossing met 9 delen gezuiverd water en meng 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

Verdund 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

Verdund 1 deel 20xSSC-oplossing met 9 delen gezuiverd water. Voeg 5 µl Tween-20 per 10 ml toe en meng grondig. Controleer de pH-waarde en breng deze 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

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

##### Pre-denaturatie

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

##### Denaturatie

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

### Hybridisatie

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

### Post-hybridisatie spoelbeurten

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

### Procedureaanbevelingen

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

### Interpretatie van resultaten

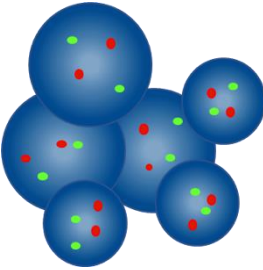
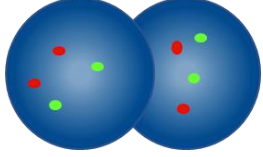
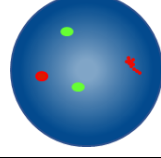
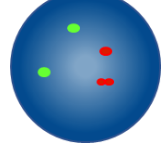
#### Glaasjeskwaliteit beoordelen

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

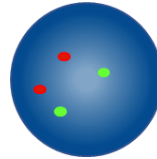
### Analyserichtlijnen

- 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.

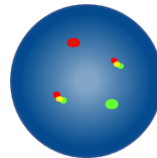
### Verwachte resultaten

#### Verwacht normaal signaalpatroon



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

#### Verwachte abnormale signaalpatronen



In een cel met een t(9;22)(q34.1;q11.2)-translocatie is het verwachte signaalpatroon één rood signaal, één groen signaal en twee fusiesignalen (1R1G2F).

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 BCR-sonde kan kruishybridisatie met chromosoom 7 op 7q11.2 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@oat.com](mailto:vigilance@oat.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](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 BCR/ABL-(ABL1) translocatie en dubbele fusiesonde

Doel	Aantal metafase chromosomale gehybridiseerd	Aantal juist gehybridiseerde loci	Analytische specificiteit	95% betrouwbaarheidsinterval
9q34.1	200	200	100%	98,12% - 100%
22q11.2	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 perifere bloed die negatief werden geacht voor een BCR::ABL-herschikking. 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 BCR/ABL-(ABL1) translocatie en dubbele fusiesonde

Monstertype	Sensitiviteitscriteria	Sensitiviteitsresultaat
Beenmerg	> 95%	97,60% (96,78% - 98,41%)
Perifeer bloed	> 95%	98,73% (97,97% - 99,50%)

### 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 perifere bloed die negatief werden geacht voor een BCR::ABL-herschikking. Dit heeft geleid tot een minimum van 2500 gescoorde nuclei voor elk monstertype.

De drempelwaarde werd bepaald aan de hand van de  $\beta$ -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 BCR/ABL-(ABL1) Translocation, Dual Fusion Probe

Monstertype	Drempelresultaat
Beenmerg	2,39%
Perifeer bloed	2,55%

Laboratoria moeten de drempelwaarden verifiëren aan de hand van hun eigen gegevens<sup>6,7</sup>.

### 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 (2) monsters gebruikt om de precisie van dit product te beoordelen: een negatief beenmergmonster en een laag-positief beenmergmonster. De laag-positieve beenmergmonsters zijn verkregen door een deel van de negatieve beenmergmonsters te mengen met een bekend positief beenmergmonster, teneinde een laag-positief monster 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 tien 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 gerepresenteerd als de algehele overeenkomst met de voorspelde negatieve klasse (voor de negatieve monsters).

Tabel 4. Reproduceerbaarheid en precisie voor de BCR/ABL-(ABL1) Translocation, Dual Fusion Probe

Variabele	Monstertype	Overeenkomst
Precisie op dezelfde dag en op een andere dag	Beenmerg negatief	100%
	Beenmerg laag-positief	86,7%
Tussen partijen Precisie	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 twee onderzoeken van representatieve monsters van de beoogde populatie voor het product: overgebleven materiaal gefixeerd in 3:1 methanol/azijnzuur. De steekproefomvang was 947 monsters met een populatie van 84 positieve beenmerg- en 155 positieve perifere bloedmonsters en 697 negatieve beenmerg- en 11 negatieve perifere bloedmonsters. De concordantie/discordantie van de resultaten bleek te voldoen aan de aanvaardingscriteria voor dit onderzoek.

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 BCR/ABL-(ABL1) Translocation, Dual Fusion Probe

Variabele	Resultaat
Klinische sensitiviteit (TPR [true positive rate; percentage terecht positieven])	98,93%
Klinische specificiteit (TNR [true negative rate; percentage terecht negatieven])	99,63%
Percentage fout-positieven (FPR) = 1 - Specificiteit	0,37%

### 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: 50558449LPH007JD

Indien Eudamed niet volledig functioneert, kan het SSP op verzoek openbaar toegankelijk worden gemaakt door een e-mail te sturen naar [SSP@ogt.com](mailto:SSP@ogt.com).

### Aanvullende informatie

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

T: +44(0) 1223 294048

E: [techsupport@cytozell.com](mailto:techsupport@cytozell.com)















W: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

### Referenties

1. Swerdlow *et al.*, editors, WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Lyon, France, IARC:2008
2. Harrison *et al.*, *BJH* 2010;151:132-142
3. Van Rhee *et al.*, *Br J Haematol* 1995;90:225-8
4. Soupir *et al.*, *Am J Clin Pathol* 2007;127:642-650
5. Arsham, MS., Barch, M.J. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
6. 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.
7. 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](mailto:probes@cytoCell.com)  
W: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)



**Sysmex Europe SE**  
Bornbarch 1  
22848 Norderstedt  
DUITSLAND

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

## Versiegeschiedenis gebruiksaanwijzing

V001 2023-01-11: Nieuwe IFU voor EU Verordening 2017/746.