



A Sysmex Group Company



Gebruiksaanwijzing

REF: CE-LPH 038-S / CE-LPH 038

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



ALLEEN VOOR PROFESSIONEEL GEBRUIK



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

Gebruiksdoel

De CytoCell® BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe is een kwalitatieve, niet-geautomatiseerde fluorescentie-in-situhybridisatietest (FISH) die wordt gebruikt voor het detecteren van chromosoomherschikkingen tussen het gebied 9q34.1 op chromosoom 9 en het gebied 22q11.2 op chromosoom 22, met of zonder bijkomende deleties van het gebied ASS1 op 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.

Indicaties voor gebruik

Dit hulpmiddel is ontworpen als aanvulling op andere klinische en histopathologische tests in erkende diagnostische en klinische zorgtrajecten waarbij het voor de klinische behandeling van belang is om de translocatiestatus van BCR::ABL1 en deletiestatus van ASS1 te weten.

Beperkingen

Dit hulpmiddel is ontworpen om herschikkingen met breekpunten te detecteren in het gebied dat de rode en groene klonen beslaan, of deleties te detecteren in het gebied dat de blauwe klonen in deze sondeset beslaan, waaronder de gebieden ABL1, BCR en ASS1. Breekpunten buiten dit gebied, herschikkingen die geheel binnen dit gebied liggen 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, ziektypen of doeleinden die niet worden gespecificeerd in het gebruiksdokument.

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-situhybridisatie (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 gedatureerde en fluorescent gelabelde DNA-sonde, die een complementaire sequentie bevat. Na de hybridisatie worden niet-gebonden en niet-specifiek gebonden DNA-sondes verwijderd en wordt het DNA tegengekleurd ter visualisatie. De gehybridiseerde sonde op het doelmateriaal kan vervolgens worden gevisualiseerd met behulp van fluorescentiemicroscopie.

Sonde-informatie

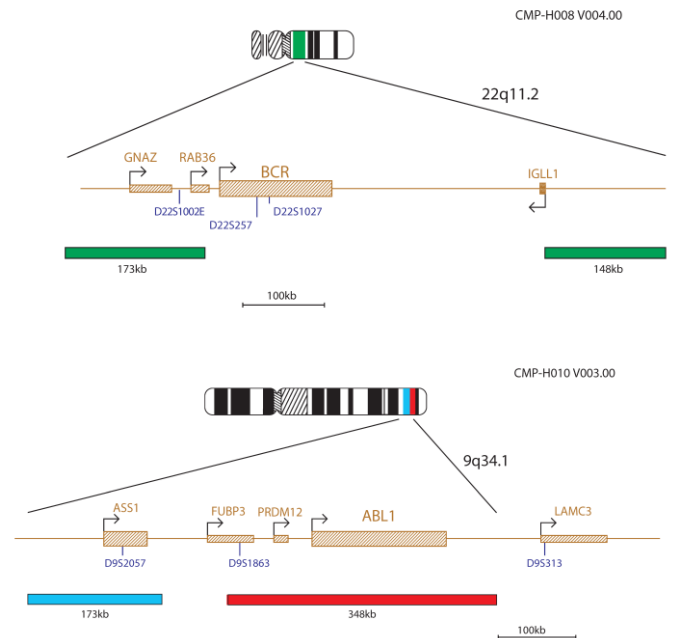
Het BCR-gen (BCR-activator van RhoGEF en GTPase) ligt op 22q11.2, het ABL1-gen (ABL-proto-oncogen 1, niet-receptor-tyrosinekinase) ligt op 9q34.1 en het ASS1-gen (argininosuccinaatsynthase 1) ligt op 9q34.1. Translocatie tussen BCR en ABL1 leidt tot het fusiegen BCR::ABL1. De aanwezigheid van een BCR::ABL1-fusie heeft belangrijke diagnostische en prognostische gevolgen voor een aantal hematologische aandoeningen.

De translocatie t(9;22)(q34.1;q11.2) is het kenmerk van chronische myeloïde leukemie (CML) en is in 90 - 95%¹ van de gevallen aanwezig. In de overige gevallen is er een translocatievariant aanwezig of is er een cryptische translocatie tussen 9q34.1 en 22q11.2 die niet kan worden geïdentificeerd door normale cytogenetische analyse¹. BCR::ABL1-fusies worden ook aangetroffen bij 25% van alle volwassenen met acute lymfoblastische leukemie (ALL) en bij 2 - 4% van alle kinderen met ALL¹. Deze herschikking wordt ook aangetroffen bij zeldzame gevallen van acute myeloïde leukemie (AML)².

De translocatie tussen chromosoom 9 en 22 kan gepaard gaan met het verlies van proximale sequenties op het afgeleide chromosoom 9, waaronder het gebied ASS1 (argininosuccinaatsynthase 1)³.

Sondespecificatie

ASS1, 9q34.1, blauw
ABL1, 9q34.1, rood
BCR, 22q11.2, groen



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 148 kb telomerisch van het BCR-gen en beslaat een gedeelte van het IGLL1-gen.

Het rode en blauwe sondemengsel bevat een rode 348kb-sonde die het ABL1-gen beslaat en een blauwe 173kb-sonde die het ASS1-gen beslaat.

Geleverde materialen

Sonde: 50 µL per buisje (5 tests) of 100 µL per buisje (10 tests).

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

Tegenkleuring: 150 µL per buisje (15 tests).

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

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen


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

- 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.

Temperatuurdefinities

- 20 °C / Bevroren / In de vriezer: -25 °C tot -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Kamertemperatuur (KT): +15 °C tot +25 °C

Opslag en beheer

 De set moet worden bewaard in een vriezer bij -25 °C tot -15 °C tot de vervaldatum die is aangegeven op het setlabel. De sonde en buisjes met tegenkleuring moeten in het donker worden bewaard.



De FISH-sonde, DAPI Antifade ES-tegenkleuring en hybridisatieoplossing blijven stabiel gedurende de gehele 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 buisje van 50 µL (5 tests) van de FISH-sonde, 10 cycli voor het buisje van 100 µL (10 tests) van de FISH-sonde en 15 cycli voor het buisje van 150 µL (15 tests) van de tegenkleuring. Blootstelling aan licht dient zoveel mogelijk te worden vermeden. Bewaar de componenten in de bijgeleverde lichtdichte doos. Componenten die onder andere omstandigheden dan vermeld op het etiket worden gebruikt en opgeslagen, presteren mogelijk niet zoals verwacht en kunnen de testresultaten negatief beïnvloeden. Voorkom onnodige blootstelling aan licht en temperatuurschommelingen.

Benodigde maar niet meegeleverde materialen

Benodigde gekalibreerde apparatuur:

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

Optionele maar niet meegeleverde apparatuur

- Cytogenetische droogkamer

Benodigde maar niet meegeleverde reagentia

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

Aanbevelingen fluorescentiemicroscop

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

Fluorofoor	Excitatie _{max} [nm]	Emissie _{max} [nm]
Blauw	418	467
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 enkelvoudig bandpassfilter voor het blauwe spectrum voor optimale visualisatie van het blauwe spectrum of een drievoudige bandpassfilter voor het rode spectrum/groene spectrum/blauwe spectrum voor gelijktijdige visualisatie van de groene, rode en blauwe 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 objectglasjes volgens standaard cytogenetische procedures. De AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* bevat aanbevelingen voor monsterverzameling, -kweken, -afname en voor het maken van objectglasjes⁴.

Oplossingsvoorbereiding

Ethanoloplossingen

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

- 70% ethanol – 7 delen 100% ethanol op 3 delen gezuiverd water
 - 85% ethanol – 8,5 delen 100% ethanol op 1,5 delen gezuiverd water
- Bewaar de oplossingen maximaal 6 maanden op kamertemperatuur in een luchtdichte container.

2xSSC-oplossing

Verdund 1 deel 20xSSC-oplossing met 9 delen gezuiverd water en meng dit grondig. Controleer de pH-waarde en breng deze 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 dit 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 dit 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 objectglasjes

- Plaats het celmonster op een glazen objectglasje. Laat het opdrogen. **(Optioneel, bij gebruik van een cytogenetische droogkamer:** De kamer moet voor optimale bevestiging van het celmonster ongeveer 25 °C zijn en een luchtvochtigheid van 50% hebben. Gebruik een zuurkast als er geen cytogenetische droogkamer beschikbaar is).
- Dompel het glasje 2 minuten onder in 2xSSC op kamertemperatuur (KT) zonder het te bewegen.
- Droog in een ethanolserie (70%, 85% en 100%), elk gedurende 2 minuten, op KT.
- Laat het opdrogen.

Pre-denaturatie

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

Denaturatie

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

Hybridisatie

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

Post-hybridisatie spoelbeurten

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

Proceduraanbevelingen

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

Interpretatie van resultaten

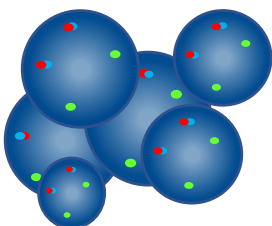
Glasjeskwaliteit beoordelen

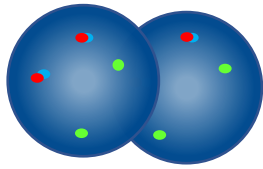
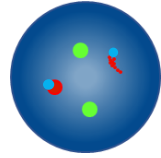
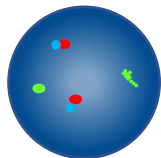
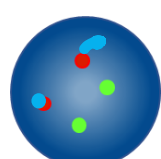
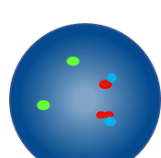
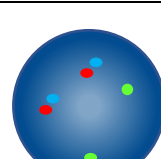
Het glasje is niet geschikt voor analyse als:

- de signalen te zwak zijn om in enkelvoudige filters te worden geanalyseerd – om door te kunnen gaan met de analyse moeten signalen helder, duidelijk en eenvoudig te evalueren zijn;
- de analyse wordt belemmerd door een groot aantal samengeklonterde/overlappende cellen;
- > 50% van de cellen niet is gehybridiseerd;
- er zich te veel fluorescente deeltjes bevinden tussen cellen en/of een fluorescentie waas de signalen verstoort – in ideale glasjes is de achtergrond donker of zwart en helder;
- de randen van de celkernen niet kunnen worden onderscheiden en niet intact zijn.

Analyserichtlijnen

- Ieder monster dient door twee analisten te worden geanalyseerd en geïnterpreteerd. Eventuele verschillen moeten worden verholpen middels een beoordeling door een derde analist.
- Iedere analist dient voldoende gekwalificeerd te zijn volgens de erkende nationale normen.
- Iedere analist dient onafhankelijk 100 kernen te noteren voor ieder monster. De eerste analist dient de analyse te starten vanaf de linkerzijde van het glasje 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 brandpuntvlak aan.
- In suboptimale condities kunnen signalen diffuus worden weergegeven. Tel het als één signaal als twee signalen van dezelfde kleur elkaar raken, als de afstand tussen de signalen niet groter is dan twee signaalbreedtes of als de twee signalen zijn verbonden door een vage draad.
- Analyseer een cel niet als u niet zeker bent of deze analyseerbaar is

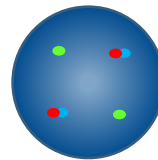
Analyserichtlijnen	
	<p>Niet tellen – nucleï liggen te dicht bij elkaar om grenzen te kunnen bepalen</p>

	<p>Overlappende nucleï niet tellen – niet alle gebieden van beide nucleï zijn zichtbaar</p>
	<p>Tellen als twee rood/blauwe fusiesignalen en twee groene signalen – één van de twee rode signalen is diffuus.</p>
	<p>Tellen als twee rood/blauwe fusiesignalen en twee groene signalen – één van de twee groene signalen is diffuus.</p>
	<p>Tellen als twee rood/blauwe fusiesignalen en twee groene signalen – één van de twee blauwe signalen is diffuus.</p>
	<p>Tellen als twee rood/blauwe fusiesignalen en twee groene signalen – het gat in één rood signaal is minder dan twee sondebreedtes.</p>
	<p>Tellen als twee rood/blauwe fusiesignalen en twee groene signalen – het gat tussen de rode en blauwe signalen is minder dan twee sondebreedtes.</p>

Verwachte resultaten

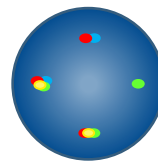
Verwacht normaal signaalpatroon

Dual Fusion Probe met drie kleuren

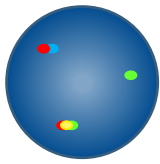


In een normale cel worden twee rood/blauwe fusiesignalen en twee groene signalen verwacht (2RB2G).

Verwachte abnormale signaalpatronen



In een cel met een t(9;22)(q34.1;q11.2)-herschikking worden één rood/blauw fusiesignaal, één groen signaal, één rood/groen fusiesignaal en één rood/groen/blauw fusiesignaal (1RB1G1RG1RGB) verwacht.



In een cel met een t(9;22)(q34.1;q11.2)-herschikking met een deletie van proximaal 9q en distaal 22q worden één rood/blauw fusiesignaal, één groen signaal en één rood/groen fusiesignaal (1RB1G1RG) 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 sonde distaal van het BCR-gen kan maximaal 2 signalen op chromosoom 7 ter hoogte van 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@ogt.com

Voor nationale bevoegde autoriteiten binnen de EU vindt u een lijst met meldpunten op:

https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Specifieke prestatiekenmerken

Analytische specificiteit

Analytische specificiteit wordt gedefinieerd als het percentage signalen dat met de juiste locus hybridiseert en niet met andere locaties. Er zijn drie (3) chromosomale loci van elke 100 metafasecellen van vijf (5) monsters geanalyseerd, wat 600 gegevenspunten opleverde. De locatie van elke 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 elke 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) Plus Translocation, Dual Fusion Probe

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%
9q34.1	200	200	100%	98,12% - 100%

Analytische sensitiviteit

Analytische sensitiviteit is het percentage scoorbare interfasecellen met het verwachte normale signaalpatroon. Er zijn 25 suspensies met gefixeerde beenmergcellen geanalyseerd die negatief werden geacht voor een BCR::ABL1-translocatie en ASS1-deletie. Per suspensie zijn minimaal 100 interfasecellen geanalyseerd, wat heeft geleid tot minimaal 2500 gescoorde nucleï voor elk monsterstype. De sensitiviteitsgegevens zijn geanalyseerd aan de hand van het percentage cellen dat een normaal verwacht signaalpatroon liet zien en uitgedrukt als een percentage met een 95%-betrouwbaarheidsinterval.

Tabel 2. Analytische sensitiviteit van de BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe

Monsterstype	Sensitiviteitscriteria	Sensitiviteitsresultaat
Beenmerg	> 95%	100,0% (± n.v.t.)

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. Er zijn 25 suspensies met gefixeerde beenmergcellen geanalyseerd die negatief werden geacht voor een BCR::ABL1-translocatie. Per suspensie zijn minimaal 100 interfasecellen geanalyseerd, wat heeft geleid tot minimaal 2500 gescoorde nucleï voor elk monsterstype.

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

Monsterstype	Signaalpatroon	Drempelresultaat
Beenmerg	1RB1G1RG	2,95%
	1RB1G1RG1RGB	2,95%

Laboratoria moeten de drempelwaarden verifiëren aan de hand van hun eigen gegevens^{5,6}.

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 zijn drie monsters gebruikt om de precisie van dit product te beoordelen: overgebleven materiaal gefixeerd in 3:1 methanol/azijnzuur van geïdentificeerde beenmergmonsters afkomstig uit de CytoCell-monsterbank voor gefixeerde cellen. De steekproefomvang was drie (3) en omvatte het verwachte bereik van normaal en laagpositief.

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

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

Variabele	Monsterstype	Overeenkomst
Reproduceerbaarheid op dezelfde dag (tussen monsters) en op een andere dag (tussen dagen)	Beenmergnegatief	96,7%
	Beenmerg laagpositief 1RB1G1RG	96,7%
	Beenmerg laagpositief 1RB1G1RG1RGB	83,3%
Reproduceerbaarheid tussen partijen	Beenmergnegatief	100,0%
	Beenmerg laagpositief 1RB1G1RG	100,0%
	Beenmerg laagpositief 1RB1G1RG1RGB	77,8%

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: 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, geprepareerd volgens de richtlijnen van het laboratorium of de instelling. De gecombineerde steekproefomvang van de onderzoeken was 125 monsters, waarvan 99 monsters BCR::ABL1-translocatienegatief en 26 monsters BCR::ABL1-translocatiepositief waren. De resultaten werden vergeleken met de bekende status van het monster. De sonde identificeerde de status van de monsters correct in alle gevallen.

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

Tabel 5. Klinische prestaties van de BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe

Variabele	Resultaat
Klinische sensitiviteit (TPR [true positive rate; percentage terecht positieven])	98,97%
Klinische specificiteit (TNR [true negative rate; percentage terecht negatieven])	99,73%
Percentage fout-positieven (FPR) = 1 – Specificiteit	0,27%

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.

URL Eudamed: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Basic UDI-DI: 50558449LPH038JQ

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@cytozell.com

W: www.ogt.com

Referenties

1. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Haematolymphoid tumours [Internet; beta version ahead of print]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2022 [cited 2023 March 29]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
2. Soupir et al., Am J Clin Pathol 2007;127:642-650
3. Robinson et al., Leukemia 2005;19(4):564-71
4. Arsham, MS., Barch, M.J. and Lawce H.J. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
5. 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.
6. 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 – voor het gebruik met informatievoorziening 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
 oqt.com/FU	nl: Raadpleeg de elektronische gebruiksaanwijzing	5.4.3
	nl: Let op	5.4.4
	nl: Medisch hulpmiddel voor <i>in-vitro</i> diagnostiek	5.5.1
	nl: Bevat voldoende voor <n> tests	5.5.5
	nl: Unieke hulpmiddelidentificatiecode	5.7.10
EDMA-symbolen voor IVD-reagentia en -componenten, revisie oktober 2009		
Symbool	Titel	Referentienummer(s)
	nl: Inhoud (of bevat)	N.v.t.

Patenten en handelsmerken

CytoCell is een geregistreerd handelsmerk van CytoCell Limited.



CytoCell Limited

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

T: +44 (0)1223 294048
F: +44 (0)1223 294986
E: probes@cytoCell.com
W: www.oqt.com



Sysmex Europe SE

Bombarch 1
22848 Norderstedt
DUITSLAND

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

Versiegeschiedenis gebruiksaanwijzing

V001 2023-06-13: Nieuwe gebruiksaanwijzing voor EU Verordening 2017/746.