



A Sysmex Group Company



Gebruiksaanwijzing

REF: CE-LPA 001-S / CE-LPA 001 /
CE-LPA 001-30 / CE-LPA 001-50

Prenatal Enumeration Probe Kit



ALLEEN VOOR PROFESSIONEEL GEBRUIK



ogt.com/IFU

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

Beoogd doel

De CytoCell® Prenatal Enumeration Probe Kit is een kwalitatieve, niet-geautomatiseerde fluorescentie-*in-situ*hybridisatietest (FISH) die wordt gebruikt om de chromosomale regio's Xp11.1-q11.1, Yp11.1-q11.1 en 18p11.1-q11.1 (alfa-centromeerregio's), en de chromosomale regio's 13q14.2 en 21q22.1 te detecteren in met Carnoy-oplossing (methanol/azijnzuur in een verhouding van 3:1) gefixeerde cellen afkomstig uit vruchtwatermonsters. De test wordt gebruikt om de chromosomen X, Y, 13, 18 en 21 te tellen bij risicovolle zwangerschappen waarbij het syndroom van Turner, Patau, Edwards of Down wordt vermoed.

Indicaties voor gebruik

Dit hulpmiddel is bedoeld als aanvulling op andere klinische en laboratoriumtests in erkende diagnostische en klinische zorgtrajecten, zoals echografische screening en biochemische testen, waarbij kennis van het kopieaantal van de chromosomale regio's Xp11.1-q11.1 en 18p11.1-q11.1 (alfa-centromeerregio's) en de chromosomale regio's 13q14.2 en 21q22.1 van belang is voor de patiëntenzorg.

Beperkingen

Dit hulpmiddel is ontworpen om chromosomaal materiaal te detecteren, waaronder de centromeerregio's die worden gedekt door de groene, oranje en aqualeurige klonen in de Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe-component, respectievelijk voor de chromosomen X, Y en 18. Genoemgains of -verliezen buiten deze regio's of gedeeltelijke verliezen of gains van deze regio's worden mogelijk niet gedetecteerd door dit hulpmiddel.

Dit hulpmiddel is ook ontworpen om chromosomaal materiaal te detecteren, waaronder de chromosomale regio's 13q14.2 en 21q22.1, die worden gedekt door de groene en oranje klonen in de Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe-component. Genoemgains of -verliezen buiten deze regio's of gedeeltelijke verliezen of gains van deze regio's worden mogelijk niet gedetecteerd door dit product.

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

Dit hulpmiddel is niet gevalideerd voor andere monstertypen, ziektypen of doeleinden dan die vermeld staan in het beoogde doel. Dit hulpmiddel is niet gevalideerd voor gebruik bij het detecteren van gains van chromosoom X en/of Y. Dit hulpmiddel 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 voldoende gekwalificeerd personeel, moet consistent zijn met professionele praktijken en er moet rekening worden gehouden met andere relevante testresultaten, klinische en diagnostische informatie.

Dit hulpmiddel is uitsluitend bedoeld voor professioneel laboratoriumgebruik.

De prestaties van het apparaat worden mogelijk beïnvloed als het protocol niet wordt opgevolgd. Dit kan ook leiden tot fout-positieve/fout-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 hele chromosomen of enkele unieke sequenties en is een goede aanvulling op klassieke cytogenetica. Door recente ontwikkelingen kan deze waardevolle techniek nu worden toegepast als essentieel diagnostisch hulpmiddel bij prenatale, hematologische en pathologische chromosoomanalyse. 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 voor visualisatie. Fluorescentiemicroscopie maakt vervolgens de visualisatie van de gehybridiseerde sonde op het doelmateriaal mogelijk.

Sonde-informatie

Moleculaire cytogenetische analyse speelt een cruciale rol bij de prenatale evaluatie van risicovolle zwangerschappen, doordat het een nauwkeurige identificatie van chromosomale afwijkingen en een inschatting van het herhalingsrisico mogelijk maakt. De meest voorkomende chromosomale afwijkingen zijn aneuploidieën, gedefinieerd als een afwijkend aantal chromosoomkopieën, waarbij getroffen personen doorgaans trisomie (drie kopieën van een chromosoom) of monosomie (één kopie van een chromosoom) vertonen.¹ Bekende, klinisch significante aneuploidieën zijn onder meer trisomie 13, 18 en 21, evenals monosomie X. Deze afwijkingen vormen belangrijke oorzaken van ontwikkelingsstoornissen en ongunstige reproductieve uitkomsten en behoren tot de meest voorkomende indicaties voor invasieve prenatale diagnostiek.²

Trisomie 21 (syndroom van Down), de meest voorkomende levensvatbare autosomale trisomie, wordt gekenmerkt door cognitieve beperkingen, aangeboren hartafwijkingen en multisysteemmorbiditeit, en is nog steeds een belangrijke indicatie voor prenataal genetisch onderzoek.^{3,4} Trisomie 13 (syndroom van Patau) wordt gekenmerkt door hersenafwijkingen (holoprosencefalie), faciale dysmorphie, oogafwijkingen, postaxiale polydactylie, viscerale malformaties (cardiopathie) en ernstige psychomotorische retardatie.⁵ Trisomie 18 (syndroom van Edwards) gaat gepaard met ernstige aangeboren afwijkingen, een hoge perinatale mortaliteit en duidelijk herkenbare echografische fenotypen, wat het belang van nauwkeurige prenatale detectie en genetische bevestiging onderstreept.^{6,7} Monosomie X (syndroom van Turner), ook wel congenitale ovariële hypoplasiesyndroom genoemd, is de meest voorkomende geslachtschromosomale afwijking bij vrouwen en wordt veroorzaakt door het volledig of gedeeltelijk ontbreken van één X-chromosoom.⁸

Prenatale diagnostiek wordt aangeboden bij risicovolle zwangerschappen met een verhoogd risico op chromosomale afwijkingen, zoals trisomie 13, 18, 21 en monosomie X. FISH is een gevalideerde molecuulair-cytogenetische methode voor de snelle detectie en telling van het aantal chromosoomkopieën in interfase nuclei. FISH maakt gerichte detectie van veelvoorkomende aneuploidieën mogelijk en levert snel resultaten ter ondersteuning van klinische besluitvorming. De methode wordt breed toegepast in de moderne diagnostiek van aneuploidieën, met name wanneer snelle bevestiging van het aantal chromosoomkopieën vereist is.^{9,10,11}

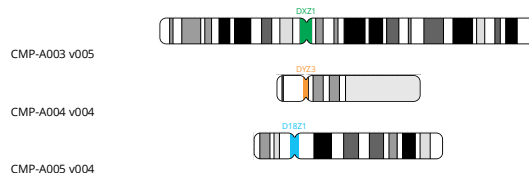
Sondespecificatie

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

X-centromeer, Xp11.1 – q11.1 (DXZ1) Groen

Y-centromeer, Yp11.1 – q11.1 (DYZ3) Oranje

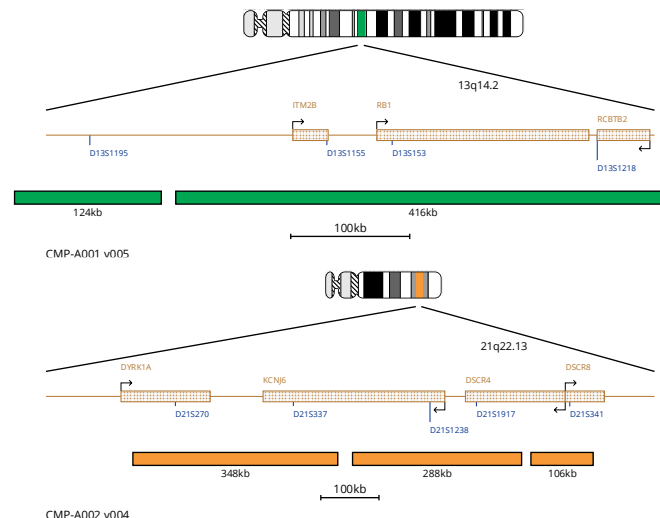
18 centromeer, 18p11.1 – q11.1 (D18Z1) Aqua



LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

13 unieke sequentie, 13q14.2 Groen

21 unieke sequentie, 21q22.13 Oranje



De kit bevat twee sondecomponenten voor twee afzonderlijke hybridisaties.

LPA002

De sondecomponent LPA002 is een mengsel van groene, oranje en aquakleurige direct fluorescent gelabelde DNA-sondes:

- De groene DXZ1-sonde labelt direct de alfa-satelliet-DNA-sequenties in de DXZ1-regio van het X-chromosoom.
- De oranje DYZ3-sonde labelt direct de alfa-satelliet-DNA-sequenties in de DYZ3-regio van het Y-chromosoom.
- De aquakleurige D18Z1-sonde labelt direct de alfa-satelliet-DNA-sequenties in de D18Z1-regio van chromosoom 18.

LPA003

De sondecomponent LPA003 is een mengsel van groene en oranje direct fluorescent gelabelde DNA-sondes met unieke sequenties:

- Het groene sondemengsel bevat een sonde van 124 kb en een sonde van 416 kb op 13q14.2 die de genen ITM2B, RB1 en RCBTB2 omvat, inclusief de markers D13S1195, D13S1155, D13S153 en D13S1218.
- Het oranje sondemengsel bevat een sonde van 348 kb, een sonde van 288 kb en een sonde van 106 kb op 21q22.13 die de genen DYRK1A, KCNJ6, DSCR4 en DSCR8 omvat, inclusief de markers D21S270, D21S337, D21S1238, D21S1917 en D21S341.

Geleverde materialen

Sonde: 50 µl per flacon in een testkit van 5, 100 µl per flacon in een testkit van 10, 300 µl per flacon in een testkit van 30, 500 µl per flacon in een testkit van 50. De sondecomponenten worden vooraf gemengd in een hybridisatieoplossing (< 65% formamide; < 20 mg dextraansulfaat; < 10% 20x zout-natriumcitraat) en zijn klaar voor gebruik.

Tegenkleuring: 150 µl per flacon in een testkit van 5, 500 µl per flacon in een testkit van 10, 1.000 µl per flacon in een testkit van 30 of 1.200 µl per flacon in een testkit van 50.

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

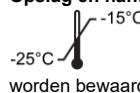
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

1. Voor *in-vitro*diagnostiek. Alleen voor professioneel laboratoriumgebruik.
2. Gebruikers dienen er te allen tijde voor te zorgen dat de juiste en meest actuele gebruiksaanwijzing wordt geraadpleegd en opgevolgd.
3. De sondemengsels bevatten formamide. Dit is een teratogeen; vermijd het inademen van de dampen en huidcontact. Wees voorzichtig; draag handschoenen en een labjas.
4. Hanteer de DAPI voorzichtig; draag handschoenen en een labjas.
5. Niet gebruiken als de flacon is beschadigd of als de inhoud van de flacon is aangetast.
6. Volg de plaatselijke voorschriften voor afvalverwerking en de aanbevelingen in het veiligheidsinformatieblad om te bepalen hoe u dit product veilig kunt afvoeren. Dit geldt ook voor beschadigde inhoud van de testkit.
7. Voer alle gebruikte reagentia en andere besmette wegwerpmaterialen af volgens de procedures voor besmettelijk of potentieel besmettelijk afval. Het is de verantwoordelijkheid van het betreffende laboratorium om vast en vloeibaar afval te verwerken op basis van de aard en de mate van gevaarlijkheid ervan, en om dit te (laten) behandelen en af te voeren in overeenstemming met de geldende voorschriften.
8. Gebruikers moeten de kleuren aqua, oranje en groen kunnen onderscheiden.
9. De prestaties van het hulpmiddel worden mogelijk beïnvloed als het beschreven protocol, de apparatuur en de reagentia niet worden gebruikt. Dit kan ook leiden tot fout-positieve/fout-negatieve resultaten.
10. De sonde moet niet worden verdund of gemengd met andere sondes.
11. De prestaties worden mogelijk beïnvloed als er geen 10 µl sonde wordt gebruikt tijdens het pre-denaturatiestadium van het protocol. Dit kan ook leiden tot fout-positieve/fout-negatieve resultaten.
12. Alle producten moeten voor gebruik worden gevalideerd.
13. Interne controles moeten worden uitgevoerd door gebruik te maken van niet-aangetaste celpopulaties in testmonsters.
14. Er moeten voorzorgsmaatregelen worden genomen om besmetting tussen de flacons met LPA002 en LPA003 te voorkomen.

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 hantering

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

 De FISH-sonde, DAPI Antifade ES-tegenkleuring en hybridisatieoplossing blijven stabiel gedurende bevroer-ontdooicycli tijdens normaal gebruik (waarbij één cyclus bestaat uit het verwijderen van de flacon uit en terugplaatsen in de vriezer). **FISH-sondes:** 5 cycli voor de testkit van 5, 10 cycli voor de testkit van 10, 30 cycli voor de testkit van 30, 50 cycli voor de testkit van 50. **Tegenkleuring:** 10 cycli voor de testkit van 5, 20 cycli voor de testkit van 10, 60 cycli voor de testkit van 30 en 100 cycli voor de testkit van 50. Blootstelling aan licht moet zoveel mogelijk worden beperkt en vermeden. Bewaar de componenten in de meegeleverde lichtdichte container. Componenten die onder andere omstandigheden worden gebruikt en opgeslagen dan op het etiket vermeld, leveren mogelijk niet de verwachte prestaties en kunnen de testresultaten negatief beïnvloeden. Voorkom onnodige blootstelling aan licht.

Benodigde maar niet meegeleverde apparatuur en materialen

Benodigde gekalibreerde apparatuur:

1. Verwarmingsplaat (met een vaste plaat en nauwkeurige temperatuurbediening tot maximaal 80 °C)
2. Gekalibreerde micropipetten en tips met variabel volume van 1 µl - 200 µl
3. Waterbad met nauwkeurige temperatuurbediening op 37 °C en 72 °C
4. Microcentrifugebuisjes (0,5 ml)
5. Fluorescentiemicroscop (zie de paragraaf Aanbevelingen fluorescentiemicroscop)
6. Fasecontrastmicroscop
7. Schone Coplin-potjes van plastic, keramiek of hittebestendig glas
8. Tang
9. Gekalibreerde pH-meter (of pH-indicatorstrips die pH 6,5 - 8,0 kunnen meten)
10. Bevochtigde container
11. Immersie-olie van fluorescentieniveau voor microscoplenzen
12. Werkbladcentrifuge
13. Objectglasaasjes
14. Afdekglaasjes van 24x24 mm
15. Timer
16. 37 °C-incubator
17. Rubberen lijmplossing
18. Vortexmenger
19. Maatcilinders
20. Magneetroerder
21. Gekalibreerde thermometer

Optionele maar niet meegeleverde apparatuur

1. Cytogenetische droogkamer

Benodigde maar niet meegeleverde reagentia

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

Aanbevelingen fluorescentiemicroscop

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

Fluorofoor	Excitatie _{max} [nm]	Emissie _{max} [nm]
Blauw	418	467
Groen	495	521
Oranje	551	572

Zorg ervoor dat de juiste excitatie- en emissiefilters die de bovenstaande golflengtes beslaan op de microscoop worden aangebracht.

Het driedovoudige bandpassfilter voor DAPI/FITC/TRITC is optimaal voor het gelijktijdig bekijken van de groene en oranje fluoroforen en de tegenkleuring. De aquakleurige fluorofoor is specifiek voor het Aqua- en DEAC-spectrum (een enkelvoudig bandpassfilter voor Aqua of DEAC is vereist).

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. Meng geen DAPI Antifade met microscopimmersie-olie. Dit kan de signalen verstoren. Volg de richtlijnen van de fabrikant wat betreft de levensduur van de lamp en de filters.

Monstervoorbereiding

De kit is ontworpen voor gebruik op met Carnoy-oplossing (methanol/azijnzuur in een verhouding van 3:1) gefixeerde cellen afkomstig uit vruchtwatermonsters, voor het tellen van de chromosomen X, Y, 13, 18 en 21 bij risicovolle zwangerschappen waarbij het syndroom van Turner, Patau, Edwards of Down wordt vermoed, die worden voorbereid volgens de richtlijnen van het laboratorium of de instelling. Het afnemen van een vruchtwatermonster dient te gebeuren volgens de richtlijnen van het laboratorium of de instelling. Monsters die bloederig of bruin van kleur zijn, mogen niet worden gebruikt, omdat ze bloed van de moeder kunnen bevatten en tot onjuiste resultaten kunnen leiden. Bereid aan de lucht gedroogde monsters voor op objectglasaasjes volgens standaard cytogenetische procedures. De AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* bevat aanbevelingen voor monsterverzameling, -kweken, -afname en voor het maken van glasaasjes.¹²

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 zo min mogelijk wordt blootgesteld aan laboratoriumlampen)

Vorbereiding objectglaasjes

- 1. Plaats het celmonster op een glazen objectglaasje. Laat het opdrogen. (Optioneel, indien een cytogenetische droogkamer wordt gebruikt: 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 °C (+/- 1 °C) gedurende 5 minuten om voor te verwarmen.
- 9. Plaats 10 µl sondemengsel op het celmonster en plaats voorzichtig een afdekglasje. Dicht het af met rubberen lijmplossing en laat de lijm volledig opdrogen.

Denaturatie

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

Hybridisatie

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

Post-hybridisatie spoelbeurten

- 12. Haal de DAPI uit de vriezer en laat deze op KT komen.
- 13. Verwijder het afdekglasje en alle sporen van lijm voorzichtig.
- 14. Dompel het glaasje gedurende 2 minuten onder in 0,4xSSC (pH 7,0) bij 72 °C (+/- 1 °C) zonder het te bewegen.
- 15. Laat het glaasje 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 afdekglasje, verwijder eventuele luchtbellen en laat de kleur 10 minuten in het donker ontwikkelen.
- 18. Bekijk het objectglaasje met een fluorescentiemicroscop (zie Aanbevelingen fluorescentiemicroscop).

Procedureaanbevelingen

- 1. Verhitten of verouderen van de objectglaasjes 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 ertoe kan leiden dat er geen signaal aanwezig is.
- 5. Onvolledige denaturatie kan ertoe leiden dat er geen signaal aanwezig is en teveel denaturatie kan ook leiden tot niet-specifieke binding.
- 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:

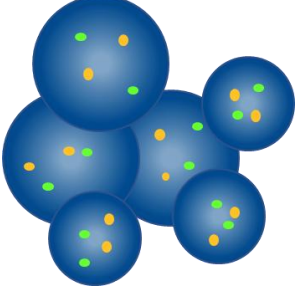
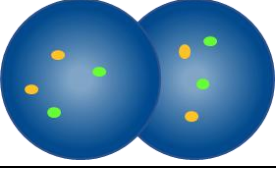
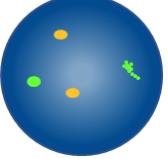
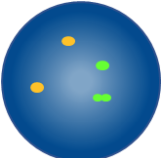
- De signalen te zwak zijn om in enkelvoudige filters te worden geanalyseerd - om door te kunnen gaan met de analyse moeten signalen helder, duidelijk en eenvoudig te evalueren zijn
- De analyse wordt belemmerd door een groot aantal samengeklonterde/overlappende cellen
- >50% van de cellen niet zijn 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
- Elke analist moet onafhankelijk voldoende kernen per monster beoordelen, zodat de gecombineerde scores van de analisten voldoen aan de minimale criteria zoals vastgesteld in institutionele, regionale of nationale richtlijnen. 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
- Analyseer een cel niet als u niet zeker bent of deze analyseerbaar is

Analyserichtlijnen – LPA002	
	Niet tellen – nucleï liggen te dicht bij elkaar om grenzen te kunnen bepalen
	Overlappende nucleï niet tellen – niet alle gebieden van beide nucleï zijn zichtbaar
	Tellen als één groen signaal, één oranje signaal en twee aquakleurige signalen – het groene signaal is diffuus
	Tellen als één groen signaal, één oranje signaal en twee aquakleurige signalen – het oranje signaal is diffuus
	Tellen als één groen signaal, één oranje signaal en twee aquakleurige signalen – één van de twee aquakleurige signalen is diffuus
	Tellen als één groen signaal, één oranje signaal en twee aquakleurige signalen – het gat in het aquakleurige signaal is minder dan twee sondebreedtes

Analyserichtlijnen - LPA003	
	Niet tellen – nucleï liggen te dicht bij elkaar om grenzen te kunnen bepalen
	Overlappende nucleï niet tellen – niet alle gebieden van beide nucleï zijn zichtbaar
	Tellen als twee oranje en twee groene signalen - één van de twee groene signalen is diffuus
	Tellen als twee oranje en twee groene signalen - het gat in een groen signaal is minder dan twee signaalbreedtes

Vereisten voor de derde analist

Afhankelijk van het aantal abnormale kernen dat iedere analist heeft waargenomen, kan een derde analist vereist zijn. De derde analist analyseert hetzelfde aantal kernen als de eerste twee analisten, zoals vastgesteld door institutionele, regionale of nationale richtlijnen. De regels voor het bepalen of een derde analist nodig is, worden in de onderstaande tekst en het diagram weergegeven.

Er is een derde analist vereist indien:

- Het positiviteitspercentage van één analist boven de drempelwaarde ligt en dat van de andere analist beneden of op de drempelwaarde.
- Het positiviteitspercentage van de twee analisten meer dan 5% verschilt en het positiviteitspercentage van een van beide analisten gelijk is aan of lager is dan tweemaal de drempelwaarde.
- Het positiviteitspercentage van de twee analisten meer dan 15% verschilt.

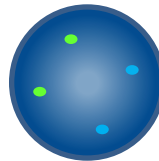
Van de drie verkregen scores wordt het gemiddelde van de twee dichtst bij elkaar liggende positiviteitspercentages genomen om de uiteindelijke positiviteit te bepalen. Als de 3 scores even ver uit elkaar liggen, dient de mediaanwaarde te worden gebruikt.



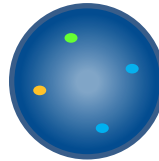
Verwachte resultaten

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Verwachte normale signaalpatronen

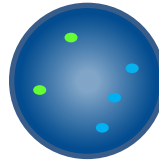


In een normale vrouwelijke cel worden twee groene en twee aquakleurige signalen verwacht (2G2A).

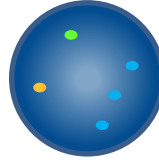


In een normale mannelijke cel worden één groen, één oranje en twee aquakleurige signalen verwacht (1G1O2B).

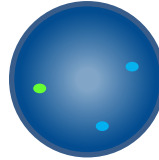
Verwachte abnormale signaalpatronen



In een vrouwelijke cel met trisomie 18 zal het verwachte signaalpatroon bestaan uit twee groene signalen en drie aquakleurige signalen (2G3B).



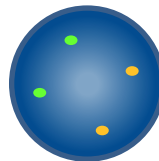
In een mannelijke cel met trisomie 18 zal het verwachte signaalpatroon bestaan uit één groen signaal, één oranje signaal en drie aquakleurige signalen (1G1O3B).



In een cel met het syndroom van Turner zal het verwachte signaalpatroon bestaan uit één groen signaal en twee aquakleurige signalen (1G2B).

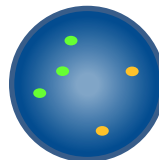
LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Verwacht normaal signaalpatroon

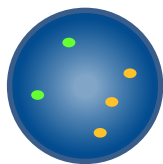


In een normale cel worden twee groene en twee oranje signalen verwacht (2G2O).

Verwachte abnormale signaalpatronen



In een cel met trisomie 13 worden drie groene signalen en twee oranje signalen verwacht (3G2O).



In een cel met trisomie 21 worden twee groene signalen en drie oranje signalen verwacht (2G3O).

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

Bekende relevante interferenties/interfererende stoffen

Geen bekende relevante interferenties/interfererende stoffen.

Bekende kruisreactiviteit

De DXZ1-sonde kan kruishybridisatie naar de centromeren van chromosomen 1, 11, 17 en Y laten zien.

De DYZ3-sonde kan kruishybridisatie naar de centromeren van chromosomen 13, 14, 15, 20, 21, 22 en X laten zien.

De D18Z1-sonde kan kruishybridisatie naar de centromeren van chromosomen 2, 4, 8, 9, 13, 14, 15, 20, 21 en 22 laten zien.

Melding van ernstige incidenten

Voor patiënten/gebruikers/derde partijen in de Europese Unie en in landen met identieke regelgeving (Verordening (EU) 2017/746 betreffende medische hulpmiddelen voor *in-vitro* diagnostiek): als er tijdens of als gevolg van het gebruik van dit hulpmiddel een ernstig incident heeft plaatsgevonden, meld dit dan aan de fabrikant en aan uw nationale bevoegde autoriteit.

Meld ernstige incidenten in andere landen bij de fabrikant en, indien van toepassing, bij uw nationale bevoegde autoriteit.

Contactgegevens toezichthouder van de fabrikant: vigilance@ogt.com

Voor de nationale bevoegde autoriteiten van de EU is een lijst met toezichthouders beschikbaar op:

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

Specifieke prestatiekenmerken

Analytische specificiteit

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Analytische specificiteit wordt gedefinieerd als het percentage signalen dat met de juiste locus hybridiseert en niet met andere locaties. 4 chromosomale loci van iedere 20 metafasecellen van 5 monsters worden geanalyseerd, wat 100 gegevenspunten opleverde voor chromosoom X en Y en 200 gegevenspunten voor chromosoom 18. 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 kit 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 uitgedrukt als een percentage met een betrouwbaarheidsinterval van 95%.

Tabel 1. Analytische specificiteit voor de LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Doel	Aantal metafase chromosomale gehybridiseerd	Aantal juist gehybridiseerde loci	Analytische specificiteit	95% betrouwbaarheidsinterval
Xp11.1-q11.1	100	100	100%	96,30 - 100%
Yp11.1-q11.1	100	100	100%	96,30 - 100%
18p11.1-q11.1	200	200	100%	98,12% - 100%

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Analytische specificiteit wordt gedefinieerd als het percentage signalen dat met de juiste locus hybridiseert en niet met andere locaties. 4 chromosomale loci van iedere 20 metafasecellen van 5 monsters worden geanalyseerd, wat 200 gegevenspunten opleverde voor chromosoom 13 en 21. 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 kit 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 uitgedrukt als een percentage met een betrouwbaarheidsinterval van 95%.

1

Tabel 2. Analytische specificiteit voor de LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Doel	Aantal metafase chromosomale gehybridiseerd	Aantal juist gehybridiseerde loci	Analytische specificiteit	95% betrouwbaarheidsinterval
13q14.2	200	200	100%	98,12% - 100%
21q22.1	200	200	100%	98,12% - 100%

Analytische sensitiviteit

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Analytische sensitiviteit is het percentage scorebare interfasecellen met het verwachte normale signaalphatrons. Voor elk van de 25 gefixeerde celsuspensies uit vruchtwatermonsters van mannelijke foetussen met een normaal karyotype en 25 vrouwelijke foetussen met een normaal karyotype met een normaal aantal kopieën van chromosoom 18 werden minimaal 50 interfasecellen geanalyseerd, wat resulteerde in een totaal van minimaal 2.500 beoordeelde celkernen. De sensitiviteitsgegevens werden geanalyseerd aan de hand van het percentage cellen dat een normaal verwacht signaalphatrons liet zien en uitgedrukt als een percentage met een betrouwbaarheidsinterval van 95%.

Tabel 3. Analytische gevoeligheid voor de LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Monstertype	Sensitiviteitscriteria	Sensitiviteitsresultaat
Vruchtwater	>95%	95,99% (95,15-96,69%)

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Analytische sensitiviteit is het percentage scorebare interfasecellen met het verwachte normale signaalphatrons. Voor elk van de 25 gefixeerde celsuspensies uit vruchtwatermonsters van mannelijke foetussen met een normaal karyotype of vrouwelijke foetussen met een normaal aantal kopieën van chromosomen 13 en 21 werden minimaal 50 interfasecellen geanalyseerd, wat resulteerde in minimaal 1.250 beoordeelde celkernen voor elk monstertype. De sensitiviteitsgegevens werden geanalyseerd aan de hand van het percentage cellen dat een normaal verwacht signaalphatrons liet zien en uitgedrukt als een percentage met een betrouwbaarheidsinterval van 95%.

Tabel 4. Analytische gevoeligheid voor de LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Monstertype	Sensitiviteitscriteria	Sensitiviteitsresultaat
Vruchtwater	>95%	96,24% (94,84-97,64%)

Karakterisatie van normale drempelwaarden

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

De normale drempelwaarde wordt gedefinieerd als het percentage cellen dat een fout-positief signaalphatrons laat zien waar een individu als normaal zou worden beschouwd en niet consistent met een klinische diagnose. Voor elk van de 25 gefixeerde celsuspensies uit vruchtwatermonsters van mannelijke foetussen met een normaal karyotype en 25 vrouwelijke foetussen met een normaal karyotype met een normaal aantal kopieën van chromosoom 18 werden minimaal 50 interfasecellen geanalyseerd, wat resulteerde in een totaal van minimaal 2.500 beoordeelde celkernen.

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 signaalphatrons liet zien met behulp van de bovengrens van een eenzijdig betrouwbaarheidsinterval van 95% van de binomiale distributie bij een normaal patiëntmonster.

Tabel 5. Karakterisatie van normale drempelwaarden voor de LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Monstertype	Signaalphatrons	Drempelresultaat
Vruchtwater	1G1O3B	11,62%
	2G3B	8,97%
	1G2B	13,98%

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

De normale drempelwaarde wordt gedefinieerd als het percentage cellen dat een fout-positief signaalphatrons laat zien waar een individu als normaal zou worden beschouwd en niet consistent met een klinische diagnose. Voor elk van de celsuspensies uit vruchtwatermonsters van 25 mannelijke of vrouwelijke foetussen met een normaal karyotype werden minimaal 50 interfasecellen geanalyseerd, wat resulteerde in minimaal 1.250 beoordeelde celkernen 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 signaalphatrons liet zien met behulp van de bovengrens van een eenzijdig betrouwbaarheidsinterval van 95% van de binomiale distributie bij een normaal patiëntmonster.

Tabel 6. Karakterisatie van normale drempelwaarden voor de LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Monstertype	Signaalpatroon	Drempelresultaat
Vruchtwater	2G3O	8,97%
	3G2O	

Laboratoria moeten de drempelwaarden verifiëren aan de hand van hun eigen gegevens.^{13,14}

Precisie
LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

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 3 monsters gebruikt om de precisie van dit product te beoordelen: 1 normaal mannelijk vruchtwatermonster met een XY-karyotype en een normaal aantal kopieën van chromosomen 18, 1 normaal vrouwelijk vruchtwatermonster met een XX-karyotype en een normaal aantal kopieën van chromosoom 18, en 1 laag-positief vrouwelijk vruchtwatermonster met trisomie 18.

De precisie op dezelfde en een andere dag werd geëvalueerd door monsters in drievoud te testen gedurende 10 niet-openvolgende dagen. De precisie tussen partijen werd geëvalueerd door 3 onafhankelijke productpartijen in drievoud te testen met dezelfde monsters. De resultaten werden uitgedrukt als algehele overeenkomst met de verwachte classificatie (positief of negatief).

Tabel 7. Reproduceerbaarheid en precisie voor de LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Variabele	Monstertype	Overeenkomst
Op een andere dag	Negatief vrouwelijk vruchtwatermonster	100,0%
	Vrouwelijk vruchtwatermonster met trisomie 18	90,0%
Tussen dagen	Negatief vrouwelijk vruchtwatermonster	100,0%
	Vrouwelijk vruchtwatermonster met trisomie 18	90,0%
	Negatief mannelijk vruchtwatermonster	100,0%
Andere partij	Negatief vrouwelijk vruchtwatermonster	100,0%
	Vrouwelijk vruchtwatermonster met trisomie 18	100,0%
	Negatief mannelijk vruchtwatermonster	100,0%

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

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 3 monsters gebruikt om de precisie van dit product te beoordelen: 1 normaal vruchtwatermonster met een normaal aantal kopieën van chromosomen 13 en 21, 1 laag-positief vruchtwatermonster met trisomie 13 en 1 laag-positief vruchtwatermonster met trisomie 21.

De precisie op dezelfde en een andere dag werd geëvalueerd door monsters in drievoud te testen gedurende 10 niet-openvolgende dagen. De precisie tussen partijen werd geëvalueerd door 3 onafhankelijke productpartijen in drievoud te testen met dezelfde monsters. De resultaten werden uitgedrukt als algehele overeenkomst met de verwachte classificatie (positief of negatief).

Tabel 8. Reproduceerbaarheid en precisie voor de LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Variabele	Monstertype	Overeenkomst
Op dezelfde en een andere dag	Negatief vruchtwatermonster	100,0%
	Laag-positief vruchtwatermonster met trisomie 13	100,0%
	Laag-positief vruchtwatermonster met trisomie 21	96,7%
Andere partij	Negatief vruchtwatermonster	88,9%
	Laag-positief vruchtwatermonster met trisomie 13	100,0%
	Laag-positief vruchtwatermonster met trisomie 21	100,0%

Klinische prestatie

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Om er zeker van te zijn dat de Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe de bedoelde herschikkingen detecteert, werd de klinische prestatie vastgesteld tijdens één onderzoek van representatieve monsters van de beoogde populatie voor het product: Restmateriaal, gefixeerd met methanol/azijnzuur in een verhouding van 3:1, afkomstig van prenatale vruchtwatermonsters. De steekproefgrootte voor het onderzoek bedroeg 71 monsters, met een populatie van 3 positieve monsters voor

trisomie 18, 2 positieve monsters voor monosomie X en 66 negatieve monsters. Alle monsters werden gedeïdentificeerd en gerandomiseerd om analytische bias uit te sluiten. De resultaten werden vergeleken met de bekende status van het monster. De sonde identificeerde de status van de monsters correct in alle gevallen.

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

Tabel 9. Klinische prestaties voor de Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

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

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Om er zeker van te zijn dat de Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe de bedoelde herschikkingen detecteert, werd de klinische prestatie vastgesteld tijdens drie onderzoeken van representatieve monsters van de beoogde populatie voor het product: Restmateriaal, gefixeerd met methanol/azijnzuur in een verhouding van 3:1, afkomstig van prenatale vruchtwatermonsters. De steekproefgrootte voor het onderzoek bedroeg 172 monsters, met een populatie van 15 positieve monsters voor trisomie 13 en 157 negatieve monsters voor trisomie 13, en een totaal van 109 positieve monsters voor trisomie 21 en 63 negatieve monsters voor trisomie 21. De resultaten werden vergeleken met de bekende status van het monster. De sonde identificeerde de status van de monsters correct in alle gevallen.

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

Tabel 10. Klinische prestaties voor de Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

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

Samenvatting betreffende veiligheid en prestaties (SSP)

De SSP wordt beschikbaar gesteld voor het publiek via de Europese databank voor medische hulpmiddelen (Eudamed), waar deze wordt gekoppeld aan de Basic UDI-DI.

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

Basic UDI-DI: 50558449LPA001GG

Indien Eudamed niet volledig operationeel is, wordt de SSP op verzoek voor het publiek beschikbaar gesteld 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

- Alliance G, (2010). Chromosomal Abnormalities [Internet]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK132134/>.
- Dey M, et al., (2013). Prenatal screening methods for aneuploidies. North American Journal of Medical Sciences.
- Antonarakis SE, Strydom A., (2020). Down Syndrome. Nature Reviews Disease Primers.
- Orphanet: Down syndrome [Internet]. www.orpha.net. Beschikbaar via: <https://www.orpha.net/en/disease/detail/870>.
- Orphanet: Trisomy 13 [Internet]. www.orpha.net. Beschikbaar via: <https://www.orpha.net/en/disease/detail/3378>.
- Pyle AK, et al. (2025) Guidance for Caring for Infants and Children With Trisomy 13 and Trisomy 18: Clinical Report. PEDIATRICS.
- Balasundaram P, et al. (2023). Edwards syndrome. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan–. Updated 2025 Feb 15. Beschikbaar via: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570597/>.
- Shankar Kikkeri N, et al., (2023). Turner Syndrome; Beschikbaar via: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554621/>.
- Best Practice Guidelines (2024). The Association for Clinical Genomic Science (ACGS). Cytogenetics Constitutional Guidelines.
- NHS England - National genomic test directory for rare and inherited disease. Beschikbaar via: <https://www.england.nhs.uk/publication/national-genomic-test-directories/>
- Silva M. et al. (2019) European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. European Journal of Human Genetics.
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc. References
- 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.

Verklaring van symbolen

EN ISO 15223-1:2021 - 'Medische hulpmiddelen - Symbolen voor het gebruik met informatievoorziening door de fabrikant - Deel 1: Algemene eisen' (© Internationale Organisatie voor Standaardisatie)		
Symbool	Titel	Referentienummer(s)
	nl: Fabrikant	5.1.1
	nl: Gemachtigde 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/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 hulpmiddelidentificatiecode	5.7.10
EDMA-symbolen voor IVD-reagentia en componenten, herziening 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.oqt.com



Sysmex Europe SE
Deelböge 19 D
22297 Hamburg
DUITSLAND

W: www.sysmex-europe.com

Versiegeschiedenis gebruiksaanwijzing

V001 2026-03-09: Nieuwe gebruiksaanwijzing voor Verordening (EU) 2017/746