



A Sysmex Group Company



Gebruiksaanwijzing

REF: LPH 038-S / LPH 038

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



ALLEEN VOOR PROFESSIONEEL GEBRUIK



Meer informatie en andere talen zijn beschikbaar via www.ogt.com

Beperkingen

Dit apparaat is ontworpen voor het detecteren van herschikkingen met breekpunten in het gebied dat wordt beslaan door de rode en groene klonen of deleties in het gebied dat wordt beslaan door de blauwe klonen in deze sondeset, inclusief de gebieden *ABL*, *BCR* en *ASS1*. Breekpunten buiten dit gebied, herschikkingvarianten die geheel binnen dit gebied liggen of gedeeltelijke verliezen in dit gebied worden mogelijk niet gedetecteerd door dit apparaat.

De test is niet bedoeld voor: gebruik als enig diagnostisch criterium, prenatale tests, screening op basis van populatie, decentrale ('near-patient') tests of zelftests. Dit product is uitsluitend bedoeld voor professioneel gebruik in een laboratorium; alle resultaten moeten worden geïnterpreteerd door voldoende gekwalificeerd personeel en er moet rekening worden gehouden met andere relevante testresultaten.

Dit product is niet gevalideerd voor gebruik met monstertypes of ziektypen die niet worden gespecificeerd als het beoogde gebruik.

De rapportage en interpretatie van FISH-resultaten moet consistent zijn met professionele standaardprocedures en er moet rekening worden gehouden met andere klinische en diagnostische informatie. Deze set is bedoeld als aanvulling op andere diagnostische laboratoriumtests en er mag geen therapeutische actie worden ondernomen op basis van enkel het FISH-resultaat.

De prestaties van het apparaat worden mogelijk beïnvloed als het protocol niet wordt opgevolgd. Dit kan ook leiden tot fout-positieve/negatieve resultaten.

Deze set is niet gevalideerd voor doeleinden die niet worden genoemd als het beoogde gebruik.

Beoogd gebruik

De CytoCell BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe is een kwalitatieve, niet-geautomatiseerde, fluorescentie-*in-situ* hybridisatietest (FISH) die wordt gebruikt voor het detecteren van chromosomherschikkingen tussen het gebied 9q34.1 op chromosoom 9 en het gebied 22q11 op chromosoom 22 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

Dit product is bedoeld als aanvulling op andere klinische en histopathologische tests in erkende diagnostische en klinische zorgtrajecten waarbij het belangrijk is de translocatiestatus van *BCR-ABL1* te weten voor de klinische behandeling.

Testprincipes

Fluorescentie-*in-situ* hybridisatie (FISH) is een techniek waarmee DNA-sequenties kunnen worden gedetecteerd op metafase chromosomen of in interfase nuclei van vaste cytogenetische monsters. De techniek maakt gebruik van DNA-sondes die hybridiseren tot gehele chromosomen of enkele unieke sequenties en is een goede aanvulling op cytogenetische analyse met G-banding. Deze techniek kan nu worden toegepast als essentieel onderzoekshulpmiddel voor prenatale en hematologische chromosoomanalyse en chromosoomanalyse van solide tumoren. Doel-DNA is, na fixatie en denaturatie, beschikbaar voor vasthechting aan een soortgelijk gedenatureerde en fluorescent gelabelde DNA-sonde, die een complementaire sequentie bevat. Na de hybridisatie worden niet-gebonden en niet-specifiek gebonden DNA-sondes verwijderd en wordt het DNA tegengekleurd ter

visualisatie. Fluorescentiemicroscopie maakt vervolgens de visualisatie van de gehybridiseerde sonde op het doelmateriaal mogelijk.

Sonde-informatie

Het BCR-gen (*BCR-activator van RhoGEF en GTPase*) ligt op 22q11.23, het ABL1-gen (*ABL-*proto-oncogen 1, non-receptor tyrosine kinase**) ligt op 9q34.12 en het ASS1-gen (*argininosuccinaat-synthetase 1*) ligt op 9q34.11. Translocatie tussen BCR en ABL1 leidt tot het BCR-ABL1-fusiegen en produceert een Philadelphia-chromosoom; dit is het zichtbare resultaat van deze translocatie.

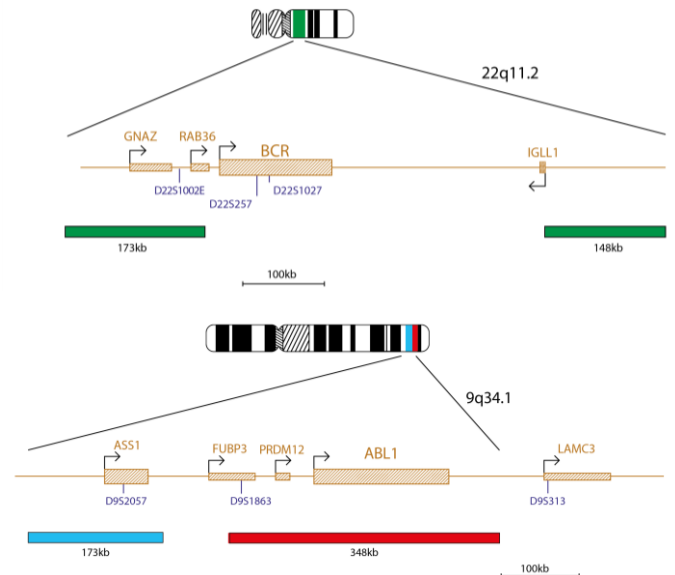
De aanwezigheid van een BCR-ABL1-fusie heeft belangrijke diagnostische en prognostische gevolgen voor een aantal hematologische aandoeningen.

De t(9;22)(q34.12;q11.23)-translocatie 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 een cryptische translocatie tussen 9q34.12 en 22q11.23 die niet kan worden geïdentificeerd door normale cytogenetische analyse¹. BCR-ABL1-fusies zijn ook aanwezig in 25% van alle volwassenen met acute lymfoblastische leukemie (ALL) en in 2-4% van alle kinderen met ALL¹. Deze herschikking is ook aanwezig in 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 (*argininosuccinaat-synthetase 1*)³. Bijkomende ASS1-gendeleties worden in verband gebracht met een slechtere prognose voor CML, hoewel dit gedeeltelijk kan worden opgevangen door behandeling met tyrosine-kinase-inhibitoren (TKI's)⁴. Het vaststellen van atypische patronen bij patiënten met de BCR-ABL1-translocatie kan daarom gevolgen hebben voor de klinische diagnose en prognose.

Sondespecificatie

ABL1, 9q34.11-q34.12, rood
BCR, 22q11.22-q11.23, groen
ASS1, 9q34.11-q34.12, blauw



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

Geleverde materialen

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

De sondes worden vooraf gemengd in een hybridisatieoplossing (formamide; dextraansulfaat; SSC-buffer [saline-sodium citrate; zout-natriumcitraat]) geleverd en zijn klaar voor gebruik.

Tegenkleuring: 150 µl per buisje (15 tests)

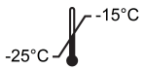
De tegenkleuring is DAPI Antifade (ES: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenyliindool)).

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

1. Voor *in-vitro* diagnostiek. Alleen voor professioneel gebruik.
2. Draag handschoenen bij het hanteren van DNA-sondes en DAPI-tegenkleuring.
3. De sondemengsels bevatten formamide. Dit is een teratogeen; vermijd het inademen van de dampen en huidcontact. Draag handschoenen, een laboratoriumjas en gebruik in een zuurkast. Bij afvoeren spoelen met een grote hoeveelheid water.
4. DAPI is mogelijk carcinogeen. Wees voorzichtig; draag handschoenen en een labjas. Bij afvoeren spoelen met een grote hoeveelheid water.
5. Voer al het gevaarlijke materiaal af volgens de richtlijnen voor het afvoeren van gevaarlijk afval van uw instelling.

- Gebruikers moeten de kleuren rood, blauw en groen kunnen onderscheiden.
- De prestaties van het apparaat 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 10 µl sonde wordt gebruikt tijdens het pre-denaturatiestadium van het protocol. Dit kan ook leiden tot fout-positieve/negatieve resultaten.

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 sonde blijft stabiel gedurende bevroers-ontdooicycli bij normaal gebruik (waarbij één cyclus bestaat uit het verwijderen van de sonde uit en terugplaatsen in de vriezer) en is fotostabiel gedurende maximaal 48 uur na blootstelling aan continue belichting. Voorkom onnodige blootstelling aan licht en temperatuurschommelingen.

Benodigde maar niet meegeleverde apparatuur en 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
- Dekglaasjes 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
- 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 golf lengtes:

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 golf lengtes beslaan op de microscop worden aangebracht. Gebruik een drievoudige bandpassfilter voor DAPI/het groene spectrum/het rode spectrum of een tweevoudige bandpassfilter voor het groene spectrum/rode spectrum voor optimale gelijktijdige visualisatie van de groene en rode fluoroforen. Gebruik een enkelvoudige bandpassfilter voor het blauw 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 autofluorescentie. Vermijd het mengen van DAPI Antifade met microscopimmersie-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 in Carnoy's fixeeroplossing (3:1 methanol/azijnzuur) en zijn voorbereid volgens de richtlijnen van het laboratorium of de instelling. Bereid aan de lucht gedroogde monsters voor op objectiefglaasjes volgens standaard

cytogenetische procedures. De AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* bevat aanbevelingen voor monsterverzameling, -kweken, -afname en voor het maken van glaasjes⁵.

Oplossingsvoorbereiding

Ethanoloplossingen

Verduin 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

Verduin 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

Verduin 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

Verduin 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)

Vorbereiding objectiefglaasjes

- Plaats het celmonster op een glazen objectiefglaasje. Laat het opdrogen. **(Optioneel, indien een cytogenetische droogkamer wordt gebruikt:** de glaasjes moeten worden bekleed met behulp van een cytogenetische droogkamer. De kamer moet voor optimale beklekking 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 2xSSC op kamertemperatuur (KT) zonder het te bewegen.
- Droog in een ethanolserie (70%, 85% en 100%), 2 minuten in elke oplossing, 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 dekglaasje. Dicht het af met rubberen lijmoplossing en laat de lijm volledig opdrogen.

Denaturatie

- Denatureer het monster en de sonde gelijktijdig door het objectiefglaasje 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 dekglaasje 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 afdruppen en dompel het 30 seconden onder in 2xSSC; 0,05% Tween-20 op KT (pH 7,0) zonder het te bewegen.
- Laat het glaasje afdruppen en breng 10 µl DAPI Antifade aan op ieder monster.
- Bedek het met een dekglaasje, verwijder eventuele luchtbelletjes en laat de kleur 10 minuten in het donker ontwikkelen.
- Bekijk met een fluorescentiemicroscop (zie **Aanbevelingen fluorescentiemicroscop**).

Stabiliteit van de gereedgemaakte glaasjes

Gereedgemaakte glaasjes zijn maximaal 1 maand analyseerbaar, indien deze in het donker worden bewaard bij/beneden KT.

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

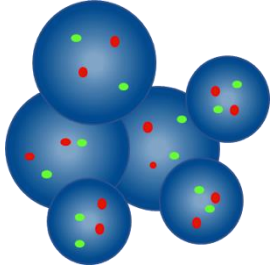
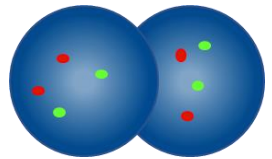
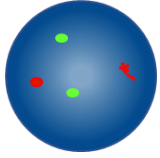
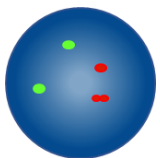
Interpretatie van resultaten Glaasjeskwaliteit beoordelen

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

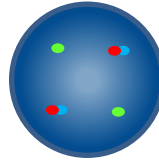
Analyserichtlijnen

- 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 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	
	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 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.

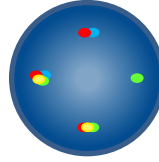
Verwachte resultaten

Verwacht normaal signaalpatroon

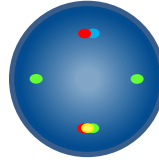


In een normale cel worden twee rood/blauwe fusiesignalen en twee groene signalen verwacht (2RB, 2G).

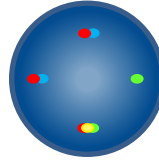
Verwacht abnormaal signaalpatroon



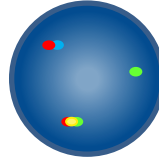
In een cel met een t(9;22)(q34;q11)-herschikking wordt één rood/groen fusiesignaal, één rood/groen/blauw fusiesignaal, één rood/blauw fusiesignaal en één groen signaal verwacht (1F, 1RGB, 1RB, 1G).



In een cel met een t(9;22)(q34;q11)-herschikking met een deletie van proximaal 9q wordt één rood/groen fusiesignaal, twee groene signalen en één rood/blauw fusiesignaal verwacht (1F, 2G, 1RB).



In een cel met t(9;22)(q34;q11)-herschikking met een deletie van distaal 22q wordt één rood/groen fusiesignaal, één groen signaal en twee rood/blauw fusiesignalen verwacht (1F, 1G, 2RB).



In een cel met een t(9;22)(q34;q11)-herschikking met een deletie van proximaal 9q en distaal 22q wordt één rood/groen fusiesignaal, één groen signaal en één rood/blauw fusiesignaal verwacht (1F, 1G, 1RB).

De blauwe ASS1-sonde kan willekeurige signaaloverlap onderscheiden van werkelijke BCR/ABL1-fusie in de interfasecellen. De willekeurige signaaloverlap zou leiden tot de aanwezigheid van het blauwe signaal, terwijl de werkelijke fusie zou leiden tot de afwezigheid van het blauwe signaal.

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

Bekende kruisreactiviteit

De groene distale BCR-sonde kan tot 2 kruishybridisatiesignalen laten zien op chromosomen van groep B, C of E.

Ongewenste gebeurtenissen melden

Als u denkt dat er een storing is opgetreden bij dit apparaat of dat de prestatiekenmerken dusdanig zijn afgenomen dat dit heeft bijgedragen aan een ongewenst voorval (bijv. vertraagde of verkeerde diagnose, vertraagde of onjuiste behandeling), dient dit onmiddellijk aan de fabrikant gemeld te worden (e-mail: vigilance@ogt.com).

Indien vereist dient de gebeurtenis ook te worden gemeld aan uw nationale bevoegde instantie. Een lijst met meldpunten is beschikbaar op: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

Specifieke prestatiekenmerken

Analytische specificiteit

Analytische specificiteit doelt op het percentage signalen dat met de juiste locus hybridiseert en niet met andere loci. De analytische specificiteit werd bepaald door het analyseren van in totaal 200 doelloci. De analytische specificiteit werd berekend als het aantal FISH-signalen dat hybridiseerde met de juiste locus

gedeeld door het totaal aantal gehybridiseerde FISH-signalen.

Tabel 1. Analytische specificiteit voor de BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe

Sonde	Doellocus	Aant. signalen gehybridiseerd met de juiste locus	Totaal aant. gehybridiseerde signalen	Specificiteit (%)
Rood ABL1	9q34	182	182	100
Groen BCR	22q11.23	182	182	100
Blauw ASS1	9q34	182	182	100

Analytische sensitiviteit

Analytische sensitiviteit is het percentage scorebare interfasecellen met het verwachte normale signaalpatroon. De analytische sensitiviteit werd bepaald door het analyseren van interfasecellen in verschillende normale monsters. De sensitiviteit werd berekend als het percentage scorebare cellen met het verwachte signaalpatroon (met een betrouwbaarheidsinterval van 95%).

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

Aant. cellen met verwachte signaalpatronen	Aant. cellen met noteerbare signalen	Sensitiviteit (%)	95% betrouwbaarheidsinterval
468	500	93,6	2,1

Karakterisatie van normale drempelwaarden

De normale drempelwaarde, bij gebruik van FISH-sondes, is het maximumpercentage scorebare interfasecellen met een specifiek abnormaal signaalpatroon waarbij een monster als normaal wordt beschouwd voor dat signaalpatroon.

De normale drempelwaarde werd bepaald aan de hand van monsters van normale en positieve patiënten. Voor ieder monster werden de signaalpatronen van 100 cellen vastgelegd. De Youden-index werd berekend om de grenswaarde te bepalen waarvoor Sensitiviteit + Specificiteit - 1 is gemaximaliseerd.

Tabel 3. Karakterisatie van normale drempelwaarden voor de BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe

Abnormaal signaalpatroon	Youden-index	Normale drempel (%)
1F, 1RGB, 1RB, 1G; 1F, 2G, 1RB; 1F, 1G, 2RB; 1F, 1G, 2RB	1,00	2

Laboratoria moeten de drempelwaarden verifiëren aan de hand van hun eigen gegevens^{6,7}.

Precisie en reproduceerbaarheid

Precisie is een weergave van de natuurlijke variatie van een test wanneer deze enkele keren onder dezelfde condities wordt herhaald. Dit werd bepaald door het analyseren van herhaalde tests met sondes van dezelfde partij op hetzelfde monster, die op dezelfde dag onder dezelfde condities werden uitgevoerd.

Reproduceerbaarheid is een weergave van de variabiliteit van een test en is bepaald met betrekking tot variabiliteit tussen monsters, dagen en partijen. De reproduceerbaarheid van dag tot dag werd bepaald door het analyseren van dezelfde monsters op drie verschillende dagen. De reproduceerbaarheid van partij tot partij werd bepaald door het analyseren van dezelfde monsters met sondes uit drie verschillende partijen op dezelfde dag. De reproduceerbaarheid van monster tot monster werd bepaald door het analyseren van drie replica's van een monster op één dag. Voor ieder monster werden de signaalpatronen van 100 interfasecellen vastgelegd en werd het percentage cellen met het verwachte signaalpatroon berekend.

De reproduceerbaarheid en precisie werden berekend als de standaardafwijking (STDEV) tussen replica's voor iedere variabele en als algehele gemiddelde STDEV.

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

Variabele	Standaardafwijking (STDEV)
Precisie	0,19
Monster tot monster	0,19
Dag tot dag	0,38
Partij tot partij	0,00
Algehele afwijking	0,30

Klinische prestatie

De klinische prestatie werd bepaald door middel van een representatief monster voor de beoogde populatie voor dit product. Voor ieder monster werden de signaalpatronen van ≥ 100 interfasecellen vastgelegd. Er werd bepaald of een monster normaal/abnormaal was door het percentage cellen met het specifieke abnormaal signaalpatroon te vergelijken met de normale drempelwaarde. De resultaten werden vervolgens vergeleken met de bekende status van het monster.

De resultaten van de klinische gegevens werden geanalyseerd om de sensitiviteit, specificiteit en drempelwaarden vast te stellen aan de hand van een eendimensionale benadering.

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

Variabele	Resultaat
Klinische sensitiviteit (TPR [true positive rate; percentage terecht positieven])	96,9%
Klinische specificiteit (TNR [true negative rate; percentage terecht negatieven])	100%
Percentage fout-positieven (FPR) = 1 - Specificiteit	0%

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

- Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
- Soupir *et al.*, Am J Clin Pathol 2007;127:642-650
- Robinson *et al.*, Leukemia 2005;19(4):564-71
- Siu *et al.*, BMC Blood Disorders 2009;9:4
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16-23.

Symbolenverklaring

REF	nl: Catalogusnummer
	nl: Medisch apparaat voor <i>in-vitro</i> diagnostiek
	nl: Partijnummer
	nl: Raadpleeg de gebruiksaanwijzing
	nl: Fabrikant
	nl: Houdbaarheidsdatum
	nl: Temperatuurgrens
	nl: Buiten bereik van zonlicht bewaren
	nl: Bevat voldoende voor <n> tests
	nl: Inhoud

Patenten en handelsmerken

CytoCell is een geregistreerd handelsmerk van CytoCell Ltd.

CytoCell Ltd.

Oxford Gene Technology,
418 Cambridge Science Park,
Milton Road,
Cambridge, CB4 0PZ, VK
T: +44(0) 1223 294048
F: +44(0) 1223 294986
E: probes@cytozell.com
W: www.ogt.com

