



A Sysmex Group Company



Instrucțiuni de utilizare (IFU)

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

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



NUMAI PENTRU UTILIZARE PROFESIONALĂ



Informații suplimentare și în alte limbi sunt disponibile pe ogt.com/IFU

Destinație de utilizare

CytoCell® BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe este un test calitativ, ne-automatizat de hibridizare fluorescentă *in situ* (FISH), utilizat pentru detecția rearanjamentelor cromozomiale între regiunea 9q34.1 a cromozomului 9 și regiunea 22q11.2 a cromozomului 22, cu sau fără delețiile concomitente ale regiunii ASS1 la 9q34.1 pe cromozomul 9, în suspensii de celule de origine hematologică, fixate în soluție Carnoy (metanol/acid acetic 3:1), de la pacienți cu diagnostic suspectat sau confirmat de leucemie mieloidă cronică (LMC), leucemie acută mieloidă (LAM) sau leucemie acută limfoblastică (LAL).

Indicații de utilizare

Acest dispozitiv este conceput pentru a fi utilizat complementar la alte teste clinice și histopatologice în cadrul algoritmilor stabiliți de diagnostic și tratament în situațiile în care cunoașterea statutului privind translocatia *BCR::ABL1* și statutului privind deleția *ASS1* poate fi importantă pentru alegerea strategiei de gestionare clinică.

Limitări

Acest dispozitiv este conceput pentru a detecta rearanjamentele cu puncte de ruptură în regiunea acoperită de clone roșii și verzi și deleții în regiunea acoperită de clone aqua din acest set de sonde, care include regiunile *ABL1*, *BCR* și *ASS1*. Este posibil ca punctele de ruptură din afara acestei regiuni, variante ale rearanjamentelor conținute în întregime în interiorul acestei regiuni sau pierderile parțiale ale acestei regiuni să nu fie detectate cu acest dispozitiv. Acest dispozitiv nu este destinat pentru: utilizarea ca mijloc de diagnosticare de sine stătător, utilizarea ca mijloc de diagnosticare auxiliar, testare prenatală, screening la nivel de populație, testare la locul de acordare a asistenței medicale sau autotestare. Acest dispozitiv nu a fost validat pentru utilizarea pe tipuri de probe, pe alte tipuri de boli sau în alte scopuri decât cele specificate în destinația de utilizare. Este destinat ca test complementar altor teste diagnostice de laborator, iar acțiunea terapeutică nu trebuie inițiată exclusiv pe baza rezultatului FISH.

Raportarea și interpretarea rezultatelor FISH trebuie să fie făcute de către personal calificat corespunzător, concordante cu standardele de practică profesională și trebuie să ia în considerare alte rezultate ale testelor relevante, informații clinice și diagnostice. Acest dispozitiv este destinat numai pentru utilizare profesională de laborator.

Nerespectarea protocolului poate afecta performanța și poate duce la rezultate fals pozitive/negative.

Principiul testului

Hibridizarea fluorescentă *in situ* (FISH) este o tehnică care permite detecția secvențelor de ADN pe cromozomii în metafază sau nucleii în interfază din probe citogenetice fixate. Această tehnică presupune utilizarea sondelor de ADN care se hibridizează la cromozomi întregi sau la secvențe unice separate și servește ca un important test complementar analizei citogenetice cu bandare G. Această tehnică poate fi aplicată în prezent ca instrument de investigație esențial în cadrul analizei cromozomiale prenatale, hematologice și a tumorilor solide. ADN-ul țintă, după fixare și denaturare, este disponibil pentru aliniere la o sondă de ADN denaturată în mod similar și marcată fluorescent, care are o secvență complementară. După hibridizare, sonda de ADN nelegată și legată în mod nespecific este îndepărtată,

iar ADN-ul este contracolorat pentru vizualizare. După aceea, microscopia de fluorescență permite vizualizarea sondei hibridizate pe materialul țintă.

Informații privind sonda

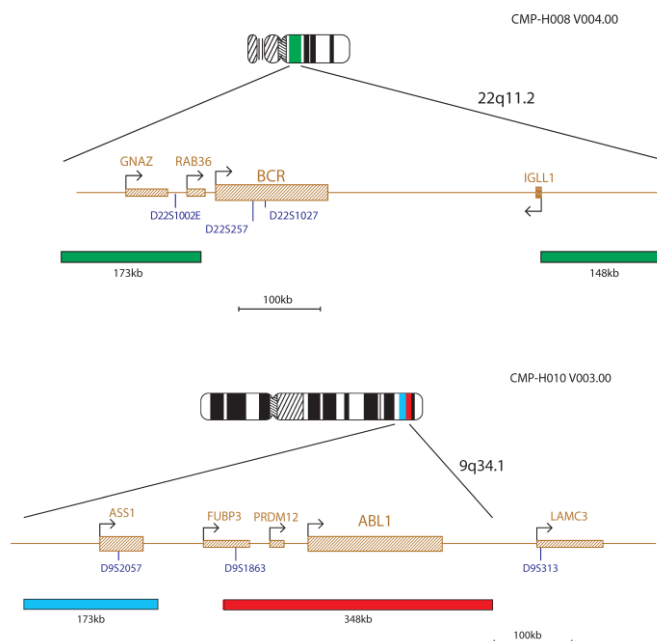
Gena *BCR* (activatorul *BCR* al proteinelor *RhoGEF* și *GTP-azei*) se localizează la nivelul 22q11.2, gena *ABL1* (*ABL* proto-oncogenă 1, tirozin-kinază nereceptoare) se localizează la nivelul 9q34.1, iar gena *ASS1* (*argininosuccinat-sintetaza 1*) se localizează la nivelul 9q34.1. Translocarea dintre *BCR* și *ABL1* dă naștere la gena de fuziune *BCR::ABL1*. Prezența unei fuziuni *BCR::ABL1* are implicații diagnostice și prognostice importante într-un șir de afecțiuni hematologice.

Translocatia *t(9;22)(q34.1;q11.2)* reprezintă semnul distinctiv al leucemiei mieloid cronice (LMC) fiind prezentă în aproximativ 90-95% din cazuri. În celelalte cazuri se detectează variante ale translocatiei sau se conțin translocatii criptice cu implicarea regiunilor 9q34.1 și 22q11.2, care nu pot fi identificate în cadrul analizelor citogenetice obișnuite¹. Fuziunile *BCR::ABL1* pot fi detectate și la 25% dintre adulții cu leucemie acută limfoblastică (LAL), precum și în 2-4% din cazurile de LAL la copii¹. Acest tip de rearanjament a fost observat și în cazuri rare de leucemie acută mieloidă (LAM)².

Translocatia între cromozomii 9 și 22 poate fi însoțită de pierderea secvențelor proximale de pe cromozomul 9 rezultat, inclusiv a regiunii *ASS1* (*argininosuccinat-sintetaza 1*)³.

Specificatii privind sonda

ASS1, 9q34.1, aqua
ABL1, 9q34.1, roșu
BCR, 22q11.2, verde



Amestecul de sondă verde conține o sondă de 173 kb centromeric față de gena *BCR* care cuprinde genele *GNAZ* și *RAB36*. O a doua probă verde acoperă o regiune de 148 kb telomerică față de gena *BCR* care cuprinde o parte din gena *IGLL1*.

Amestecul de sondă roșie și aqua conține o sondă roșie de 348 kb care cuprinde gena *ABL1* și o sondă aqua de 173 kb care cuprinde gena *ASS1*.

Materiale furnizate

Sonda: 50 µl per flacon (5 teste) sau 100 µl per flacon (10 teste).

Sondele sunt furnizate pre-amestecate în soluție de hibridizare (< 65% formamidă; < 20 mg dextran sulfat; < 10% de soluție salină - citrat de sodiu (SSC)) 20x și sunt gata de utilizare.

Contracolorant: 150 µl per flacon (15 teste).

Contracolorantul este DAPI Antifade ES (0,125µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol) în mediu de montare pe bază de glicerol).

Atenționări și precauții

1. Pentru diagnosticare *in vitro*. Numai pentru utilizare profesională în laborator.
2. Amestecurile de sonde conțin formamidă, care este teratogen; nu inhalați vaporii și nu permiteți contactul cu pielea. Manevrați cu atenție; purtați mănuși și halat de laborator.
3. Manevrați DAPI cu atenție; purtați mănuși și halat de laborator.
4. Nu utilizați dacă flaconul/flacoanele este/sunt deteriorat/e sau conținutul flaconului este compromis în orice fel.
5. Respectați reglementările locale de eliminare pentru locația dvs., împreună cu recomandările din fișa cu date de securitate, pentru a determina modul sigur de eliminare a acestui produs. Acest lucru este valabil și pentru conținutul deteriorat al kitului de testare.
6. Eliminați toți reactivii utilizați și orice alte materiale de unică folosință contaminate în conformitate cu procedurile pentru deșeuri infecțioase sau

DS1064/CE-ro v002.00/2025-08-29 (H008 v4 / H010 v3)

Pagina 1 din 5

- potențial infecțioase. Este responsabilitatea fiecărui laborator să manipuleze deșeurile solide și lichide în funcție de natura și gradul lor de periculozitate și să le trateze și să le elimine (sau să dispună tratarea și eliminarea lor) în conformitate cu toate reglementările aplicabile.
- Operatorii trebuie să fie capabili să distingă culorile roșu, albastru și verde.
 - Nerespectarea protocolului specificat, inclusiv a indicațiilor privind reactivii, poate afecta performanța și poate duce la rezultate fals pozitive/negative.
 - Sonda nu trebuie diluată sau amestecată cu alte sonde.
 - Neutilizarea a 10 µl de sondă la etapa de pre-denaturare a protocolului poate afecta performanța și poate duce la rezultate fals pozitive/negative.
 - Toate produsele trebuie validate înainte de utilizare.
 - Controlarele interne trebuie efectuate prin utilizarea unor populații de celule neafectate în probele de testare.

Definiții pentru temperatură

- 20 °C / Congelator / În congelator: între -25 °C și -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Temperatura camerei (TC): între +15 °C și +25 °C

Păstrare și manevrare

Kitul trebuie păstrat la temperaturi cuprinse între -25 °C și -15 °C în congelator până la data de expirare indicată pe eticheta kitului. Flacoanele cu sondă și contracolorant trebuie păstrate la întuneric.



Sonda FISH, contracolorantul DAPI Antifade ES și soluția de hibridizare rămân stabile de-a lungul ciclurilor de congelare-decongelare prin care trec în timpul utilizării normale (unde un ciclu reprezintă scoaterea flaconului din congelator și repunerea acestuia în congelator) - 5 cicluri pentru flaconul de 50 µl (5 teste) de sondă FISH, 10 cicluri pentru flaconul de 100 µl (10 teste) de sondă FISH și 15 cicluri pentru flaconul de 150 µl (15 teste) de contracolorant. Expunerea la lumină trebuie să fie redusă la minimum și evitată ori de câte ori este posibil. Păstrați componentele în recipient rezistent la lumină furnizat. Componentele utilizate și păstrate în alte condiții decât cele menționate pe etichetă pot să nu funcționeze conform așteptărilor și pot afecta negativ rezultatele analizei. Trebuie depuse toate eforturile pentru a limita expunerea la lumină și modificările de temperatură.

Echipamente și materiale necesare, dar neincluse în setul de livrare

Trebuie utilizate echipamente calibrate:

- Placă fierbinte (cu placă solidă și control precis al temperaturii până la 80 °C)
- Micropipete cu volum variabil, calibrate și vârfuri, în intervalul 1 µl - 200 µl
- Baie de apă cu control precis al temperaturii la 37 °C și 72 °C
- Eprubete de microcentrifugă (0,5 ml)
- Microscop de fluorescență (vă rugăm să consultați secțiunea Recomandare privind microscopul de fluorescență)
- Microscop în contrast de fază
- Vase Coplin din plastic, ceramică sau sticlă rezistentă la căldură, curate
- Pensă
- pH-metru calibrat (sau benzi indicatoare de pH capabile să măsoare valori ale pH-ului de 6,5 - 8,0)
- Recipient umidificat
- Ulei de imersie pentru lentile de microscop de grad de fluorescență
- Centrifugă pentru banc de lucru
- Lame de microscop
- Lamele de 24x24 mm
- Cronometru
- Incubator la 37 °C
- Adeziv din soluție de cauciuc
- Mixer vortex
- Cilindri gradați
- Agitator magnetic
- Termometru calibrat

Echipamente opționale, care nu sunt furnizate

- Camără de uscare de citogenetică

Reactivi necesari, dar care nu sunt furnizați

- Soluție salină - citrat de sodiu (SSC - saline-sodium citrate) 20x
- Etanol 100%
- Tween-20
- Hidroxid de sodiu (NaOH) 1M
- Acid clorhidric (HCl) 1M
- Apă purificată

Recomandare privind microscopul de fluorescență

Utilizați o lampă cu mercur de 100 wați sau echivalent și obiective plane apocromate cu imersie în ulei de 60/63x sau 100x pentru vizualizare optimă. Fluoroforii utilizați în acest set de sonde vor fi excitați și vor emite la următoarele lungimi de undă:

Fluorofor	Excitația _{max} [nm]	Emisia _{max} [nm]
Aqua	418	467
Verde	495	521
Roșu	596	615

Asigurați-vă de atașarea la microscop a unor filtre de excitație și emisie adecvate care acoperă lungimile de undă enumerate mai sus.

Utilizați un filtru cu o singură bandă de trecere în spectrul aqua pentru vizualizarea optimă a spectrului aqua sau un filtru cu trei benzi de trecere în spectrul roșu/verde/aqua pentru vizualizarea simultană a fluoroforilor de culoare verde, roșie și aqua.

Verificați microscopul de fluorescență înainte de utilizare, pentru a vă asigura că acesta funcționează corect. Utilizați ulei de imersie potrivit pentru microscopia de fluorescență și este formulat pentru autofluorescență redusă. Evitați amestecul agentului anti-diminuare a colorării DAPI cu uleiul de imersie pentru microscop, deoarece acest lucru ar estompa semnalele. Urmăți recomandările producătorului cu privire la durata de viață a lămpii și vârsta filtrelor.

Prepararea probelor

Kitul este conceput pentru utilizarea pe suspensii de celule de origine hematologică, fixate în soluție Carnoy (metanol/acid acetic 3:1), care sunt preparate în conformitate cu ghidurile laboratorului sau instituției. Preparați probele uscate la aer pe lame de microscop în conformitate cu procedurile standard de citogenetică. *Manualul de laborator de analize citogenetice (Cytogenetics Laboratory Manual)* al AGT (Association of Genetic Technologists) conține recomandări pentru colectarea specimenelor, cultura, recoltarea și crearea lamelor⁴.

Prepararea soluțiilor

Soluțiile de etanol

Diluati etanol 100% cu apă purificată prin utilizarea următoarelor proporții și amestecați temeinic:

- Etanol 70% - 7 părți etanol 100% la 3 părți apă purificată
- Etanol 85% - 8,5 părți etanol 100% la 1,5 părți apă purificată

Păstrați soluțiile timp de maximum 6 luni la temperatura camerei, într-un recipient ermetic.

Soluție SSC 2x

Diluati 1 parte soluție SSC 20x cu 9 părți apă purificată și amestecați temeinic. Verificați pH-ul și ajustați la pH de 7,0 prin utilizarea de NaOH sau HCl, după cum este necesar. Păstrați soluția timp de maximum 4 săptămâni la temperatura camerei într-un recipient ermetic.

Soluție SSC 0,4x

Diluati 1 parte soluție SSC 20x cu 49 părți apă purificată și amestecați temeinic. Verificați pH-ul și ajustați la pH de 7,0 prin utilizarea de NaOH sau HCl, după cum este necesar. Păstrați soluția timp de maximum 4 săptămâni la temperatura camerei într-un recipient ermetic.

Soluție SSC 2x, Tween-20 0,05%

Diluati 1 parte soluție SSC 20x cu 9 părți apă purificată. Adăugați 5 µl de Tween-20 per 10 ml și amestecați temeinic. Verificați pH-ul și ajustați la pH de 7,0 prin utilizarea de NaOH sau HCl, după cum este necesar. Păstrați soluția timp de maximum 4 săptămâni la temperatura camerei într-un recipient ermetic.

Protocolul FISH

(Notă: Limitați expunerea în orice moment a sondei și a contracolorantului la lumina din laborator.)

Prepararea lamei

- Depuneți punctiform proba de celule pe o lamă de microscop din sticlă. Lăsați să se usuce. (Opțional, dacă utilizați o cameră de uscare destinată analizelor citogenetice: Camera trebuie să funcționeze la aproximativ 25 °C și umiditate de 50% pentru depunerea punctiformă optimă a probei de celule. Dacă nu este disponibilă o cameră de uscare de citogenetică, utilizați ca alternativă o hotă.)
- Imersați lama în SSC 2x timp de 2 minute la temperatura camerei (TC), fără agitare.
- Deshidratați în serii de etanol (70%, 85% și 100%), fiecare timp de 2 minute la TC.
- Lăsați să se usuce.

Pre-denaturarea

- Scoateți sonda din congelator și lăsați-o să se încălzească până la TC. Centrifugați scurt eprubetele înainte de utilizare.
- Asigurați-vă de faptul că soluția de sondă este amestecată uniform, cu o pipetă.
- Îndepărtați 10 µl de sondă per test și transferați într-o eprubetă de microcentrifugă. Puneți rapid la loc în congelator sonda rămasă.
- Plasați sonda și lama cu probă pentru preîncălzire pe o placă fierbinte de 37 °C (+/- 1 °C) timp de 5 minute.
- Depuneți punctiform 10 µl de amestec de sondă pe proba de celule și aplicați cu atenție o lamelă. Sigilați cu adeziv din soluție de cauciuc și lăsați adezivul să se usuce complet.

Denaturarea

- Denaturați simultan proba și sonda prin încălzirea lamei pe o placă fierbinte la 75 °C (+/- 1 °C) timp de 2 minute.

Hibridizarea

11. Plasați lama într-un recipient umed, impermeabil pentru lumină, la 37 °C (+/- 1 °C) și lăsați-o să stea peste noapte.

Spălările post-hibridizare

- 12. Scoateți DAPI din congelator și lăsați să se încălzească la TC.
- 13. Îndepărtați cu atenție lamela și toate urmele de adeziv.
- 14. Imersați lama în SSC 0,4x (pH 7,0) la 72 °C (+/- 1 °C) timp de 2 minute fără agitare.
- 15. Lăsați lama să se scurgă și imersați-o în SSC 2x, Tween-20 0,05% la TC (pH 7,0) timp de 30 secunde fără agitare.
- 16. Lăsați lama să se scurgă și aplicați 10 µl de agent anti-diminuare a colorării DAPI pe fiecare probă.
- 17. Acoperiți cu o lamelă, îndepărtați orice eventuale bule și lăsați culoarea să se dezvolte la întuneric timp de 10 minute.
- 18. Vizualizați cu un microscop de fluorescență (consultați secțiunea

Recomandare privind microscopul de fluorescență).

Recomandări procedurale

- 1. Coacerea sau îmbătrânirea lamelor poate reduce semnalul de fluorescență.
- 2. Condițiile de hibridizare pot fi influențate în mod negativ de utilizarea unor reactivi diferiți de cei furnizați sau recomandați de Cytocell Ltd.
- 3. Utilizați un termometru calibrat pentru măsurarea temperaturilor soluțiilor, băilor de apă și incubatoarelor, deoarece aceste temperaturi sunt critice pentru performanța optimă a produsului.
- 4. Concentrațiile, pH-ul și temperaturile de spălare sunt importante, deoarece o strictețe redusă poate avea ca rezultat legarea nespecifică a sondei, iar o strictețe prea mare poate avea ca rezultat lipsa de semnal.
- 5. Denaturarea incompletă poate avea ca rezultat lipsa de semnal, iar denaturarea exagerată poate avea ca rezultat, de asemenea, legarea nespecifică.
- 6. În urma hibridizării excesive se pot forma semnale suplimentare sau neașteptate.
- 7. Utilizatorii trebuie să optimizeze protocolul pentru propriile lor probe înainte de utilizarea testului în scopuri diagnostice.
- 8. Condițiile suboptimale pot avea ca rezultat legarea nespecifică, care poate fi interpretată eronat ca semnal al sondei.

Interpretarea rezultatelor

Evaluarea calității lamei

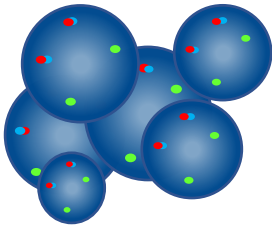
Lama nu trebuie analizată dacă:

- Semnalele sunt prea slabe pentru a fi analizate în filtre unice - pentru a continua analiza, semnalele trebuie să apară luminoase, distincte și ușor evaluabile
- Există un număr mare de celule agregate/suprapuse care obstrucționează analiza
- >50% dintre celule nu sunt hibridizate
- Există un exces de particule fluorescente între celule și/sau o ceață fluorescentă care interferează cu semnalele - în lamele optime, fundalul trebuie să apară întunecat sau negru și curat
- Marginile nucleilor celulelor nu pot fi distinse și nu sunt intacte

Linii directe privind analiza

- Fiecare probă trebuie analizată și interpretată de doi analiști. Orice discrepanță trebuie rezolvată prin evaluarea de către un al treilea analist
- Fiecare analist trebuie să fie calificat adecvat în conformitate cu standardele recunoscute la nivel național
- Fiecare analist trebuie să atribuie un scor în mod independent unui număr de 100 de nuclei pentru fiecare probă. Primul analist trebuie să înceapă analiza din partea stângă a lamei, iar cel de-al doilea analist, din partea dreaptă
- Fiecare analist trebuie să își documenteze rezultatele în fișe separate
- Analizați numai nucleii intacti, nu și pe cei suprapuși sau aglomerați sau nucleii acoperiți de resturi citoplasmice sau cu un grad ridicat de autofluorescență
- Evitați zonele în care există un exces de resturi citoplasmice sau hibridizare nespecifică
- Intensitatea semnalului poate varia, chiar și în cazul unui singur nucleu. În astfel de cazuri, utilizați filtre unice și/sau ajustați planul focal
- În condiții suboptimale, semnalele pot apărea difuze. Dacă două semnale de aceeași culoare se ating unul pe celălalt, sau dacă distanța dintre ele nu este mai mare decât două lățimi de semnal, sau atunci când există un fir slab care conectează cele două semnale, considerați ca un singur semnal
- Dacă aveți orice dubii cu privire la caracterul analizabil al unei celule, nu o analizați

Linii directe privind analiza



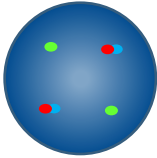
Nu se analizează — nucleele se află prea aproape unele de celelalte pentru a le putea determina hotarele

	Nucleele suprapuse nu se analizează — nu sunt vizibile toate zonele celor două nuclee
	Considerați ca două semnale de fuziune roșii/aqua și două semnale verzi — unul dintre cele două semnale roșii este difuz
	Considerați ca două semnale de fuziune roșii/aqua și două semnale verzi — unul dintre cele două semnale verzi este difuz
	Considerați ca două semnale de fuziune roșii/aqua și două semnale verzi — unul dintre cele două semnale aqua este difuz
	Considerați ca două semnale de fuziune roșii/aqua și două semnale verzi — breșa în cadrul unui semnal roșu este mai mică decât două lățimi de sondă
	Considerați ca două semnale de fuziune roșii/aqua și două semnale verzi — breșa dintre semnalele roșu și aqua este mai mică decât două lățimi de sondă

Rezultate așteptate

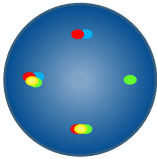
Tiparul de semnale normal așteptat

Sonda de fuziune duală cu trei culori

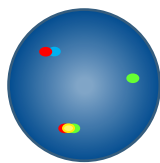


Într-o celulă normală se așteaptă detectarea a două semnale de fuziune roșii/aqua și două semnale verzi (2RA2V).

Tiparul de semnale anormale așteptat



Într-o celulă cu rearanjare t(9;22)(q34.1;q11.2) se așteaptă detectarea a unui semnal de fuziune roșu/aqua, unui semnal verde, unui semnal de fuziune roșu/verde, unui semnal de fuziune roșu/verde/aqua (1RA1V1RV1RVA).



Într-o celulă cu rearanjament t(9;22)(q34.1;q11.2) și deleția la nivelul regiunii proximale 9q și cel al regiunii distale 22q se așteaptă detectarea a unui semnal de fuziune roșu/aqua, a unui semnal verde și a unui semnal de fuziune roșu/verde (1RA1V1RV).

În specimene cu aneuploidie/neechilibrate sunt posibile și alte modele de semnale.

Interferențe/Substanțe interferente cunoscute relevante

Nu se cunosc interferențe/substanțe interferente relevante.

Reactivitate încrucișată cunoscută

Sonda verde BCR poate prezenta până la 2 semnale pe cromozomul 7 la 7q11.2.

Raportarea incidentelor grave

Pentru un pacient/utilizator/terț din Uniunea Europeană și din țările cu un regim de reglementare identic (Regulamentul (UE) 2017/746 privind dispozitivele medicale de diagnostic *in vitro*); dacă, în timpul utilizării acestui dispozitiv sau ca urmare a utilizării acestuia, a avut loc un incident grav, vă rugăm să îl raportați producătorului și autorității naționale competente din țara dvs.

Pentru incidente grave în alte țări, vă rugăm să le raportați producătorului și, dacă este cazul, autorității naționale competente din țara dvs.

Punct de contact de urgență al producătorului: vigilance@oqt.com

Pentru autoritățile naționale competente din UE, o listă de puncte de contact de urgență se găsește la:

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

Caracteristici de performanță specifice

Specificitatea analitică

Specificitatea analitică este definită ca procentul de semnale care se hibridizează la locusul corect și nu în altă locație. Au fost analizate trei (3) locusuri cromozomiale în fiecare dintre 100 de celule în metafază din cinci (5) probe, rezultând 600 puncte de date. Locația fiecărei sonde hibridizate a fost mapată și a fost înregistrat numărul de semnale FISH de cromozomi în metafază care s-au hibridizat în locusul corect.

Specificitatea analitică a fiecărei sonde din kit a fost calculată ca numărul de semnale FISH de cromozomi în metafază hibridizați la locusul corect împărțit la numărul total de semnale FISH de cromozomi în metafază hibridizați; acest rezultat a fost înmulțit cu 100, a fost exprimat ca procent și i-a fost atribuit un interval de încredere de 95%.

Tabelul 1. Specificitatea analitică a BCR/ABL (ABL1) *Plus* Translocation, Dual Fusion Probe

Ținta	Numărul de cromozomi în metafază hibridizați	Numărul de locusuri cu hibridizare corectă	Specificitatea analitică	Interval de încredere de 95%
9q34.1	200	200	100%	98,12% - 100%
22q11.2	200	200	100%	98,12% - 100%
9q34.1	200	200	100%	98,12% - 100%

Sensibilitatea analitică

Sensibilitatea analitică este procentul de celule de interfază cărora li se poate atribui un scor cu tiparul de semnale normal așteptat. A fost analizat un minim de 100 celule în interfază pentru fiecare 25 de suspensii de celule fixate provenite din măduva osoasă și care au fost considerate negative pentru o translocare BCR::ABL1 și o deleție ASS1, rezultând un minim de 2500 de nuclei cărora li s-a atribuit un scor pentru fiecare tip de probă. Datele privind sensibilitatea au fost analizate pe baza procentului de celule care prezintă un model așteptat de semnale normal și au fost exprimate ca procent cu un interval de încredere de 95%.

Tabelul 2. Sensibilitatea analitică a BCR/ABL (ABL1) *Plus* Translocation, Dual Fusion Probe

Tip de probă	Criterii de sensibilitate	Rezultat de sensibilitate
Măduvă osoasă	>95%	100,0% (± N/A)

Caracterizarea valorilor limită de normalitate

Valoarea normală de referință este definită ca procentul de celule care prezintă un model de semnale fals pozitive la care o persoană ar fi considerată normală și care nu este concordant cu un diagnostic clinic. A fost analizat un minim de 100 celule în interfază pentru fiecare 25 de probe de suspensii de celule fixate provenite din măduva osoasă, care au fost considerate negative pentru o translocare BCR::ABL1, rezultând un minimum de 2500 de nuclei cărora li s-a atribuit un scor pentru fiecare tip de probă.

Valoarea normală de referință a fost determinată prin utilizarea funcției β -inversă (BETAINV) din MS Excel. Aceasta a fost calculată ca procentul de celule în interfază care prezintă un model de semnale fals pozitive prin utilizarea limitei superioare a unui interval de încredere de 95% unilateral al distribuției binomiale într-o probă de la un pacient normal.

Tabelul 3. Caracterizarea valorilor limită de normalitate pentru BCR/ABL (ABL1) *Plus* Translocation, Dual Fusion Probe

Tip de probă	Tipar de semnale	Rezultat de referință
Măduvă osoasă	1RA1V1RV	2,95%
	1RA1V1RV1RVA	2,95%

Laboratoarele trebuie să verifice valorile de referință în baza propriilor date^{5,6}.

Precizia

Precizia acestui produs a fost măsurată în termeni de precizie în cadrul aceleiași zile (între probe), precizie între zile diferite (între zile) și precizie între loturi diferite în cadrul aceleiași centru (între loturi).

Au fost utilizate trei probe pentru a evalua precizia acestui produs: material rezidual fixat în metanol/ acid acetic 3:1 din probe de măduvă osoasă anonimizate provenite din banca de probe de celule fixate Cytocell. Mărimea eșantionului a fost de trei (3), acoperind intervalul așteptat de pozitivitate normală și scăzută.

Pentru a stabili precizia între zile diferite și în cadrul aceleiași zile, probele au fost evaluate la (10) date care nu au fost consecutive, iar pentru a stabili precizia între loturi, au fost evaluate trei (3) loturi de produs pe trei (3) replicare ale aceluiași probe. Rezultatele au fost prezentate ca fiind concordanța globală cu clasa negativă prezisă (pentru probele negative).

Tabelul 4. Reproducibilitatea și precizia BCR/ABL (ABL1) *Plus* Translocation, Dual Fusion Probe

Variabilă	Tip de probă	Concordanța
Reproducibilitatea în cadrul aceleiași zile (între probe) și între zile diferite (între zile)	Măduvă osoasă negativ	96,7%
	Măduvă osoasă Slab pozitiv 1RA1V1RV	96,7%
	Măduvă osoasă Slab pozitiv 1RA1V1RV1RVA	83,3%
Reproducibilitatea între loturi	Măduvă osoasă negativ	100,0%
	Măduvă osoasă Slab pozitiv 1RA1V1RV	100,0%
	Măduvă osoasă Slab pozitiv 1RA1V1RV1RVA	77,8%

Performanța clinică

Pentru a asigura faptul că produsul detectează rearanjamentele de destinație, performanța clinică a fost stabilită în cadrul a două studii efectuate pe probe reprezentative ale populației de destinație pentru produs: Suspensii de celule de origine hematologică, fixate în soluție Carnoy (metanol/acid acetic 3:1), de la pacienți cu diagnostic suspectat sau confirmat de leucemie mieloidă cronică (LCM), leucemie mieloidă acută (LAM) sau leucemie acută limfoblastică (LAL), care sunt preparate în conformitate cu ghidurile laboratorului sau instituției. Studiile au avut o dimensiune combinată a eșantionului de 125 de specimene, cuprinzând 99 de specimene negative pentru translocarea BCR::ABL1 și 26 de specimene pozitive pentru translocarea BCR::ABL1. Rezultatele au fost comparate cu statutul cunoscut al probei. Sonda a identificat corect statutul probelor în toate cazurile.

Rezultatele acestor teste au fost analizate pentru a furniza valorile privind sensibilitatea clinică, specificitatea clinică și rata de rezultate fals pozitive (FPR, false positive rate) pentru semnalele pozitive, prin utilizarea unei abordări unidimensionale.

Tabelul 5. Performanța clinică pentru BCR/ABL (ABL1) *Plus* Translocation, Dual Fusion Probe

Variabilă	Rezultat
Sensibilitate clinică (rata de rezultate adevărat pozitive - TPR, true positive rate)	98,97%
Specificitate clinică (rata de rezultate real negative - TNR, true negative rate)	99,73%
Rata de rezultate fals pozitive (FPR, false positive rate) = 1 - specificitatea	0,27%

Rezumatul de siguranță și performanță (SSP)

SSP trebuie să fie pus la dispoziția publicului prin Baza de date europeană a dispozitivelor medicale (Eudamed), unde este pus în legătură cu UDI-DI de bază. URL Eudamed: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>
UDI-DI de bază: 50558449LPH038JQ

Dacă Eudamed nu este complet funcțională, SSP trebuie să fie pus la dispoziția publicului, la cerere, prin solicitare la adresa SSP@oqt.com.

Informații suplimentare

Pentru informații suplimentare referitoare la produs, vă rugăm să contactați departamentul de asistență tehnică CytoCell.

Tel: +44 (0)1223 294048

E: techsupport@cytozell.com

Internet: www.oqt.com

Referințe

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, MJ. and Lawce HJ. (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.

Glosarul simbolurilor

EN ISO 15223-1:2021 - „Dispozitive medicale - Simboluri care trebuie utilizate împreună cu informațiile care trebuie furnizate de către producător - Partea 1: Cerințe generale” (© International Organization for Standardization)		
Simbol	Titlu	Număr/numere de referință
	ro: Producător	5.1.1
	ro: Reprezentant autorizat pentru Comunitatea Europeană/Uniunea Europeană	5.1.2
	ro: Data de expirare	5.1.4
	ro: Seria de fabricație	5.1.5
	ro: Număr de catalog	5.1.6
	ro: A se feri de lumina solară	5.3.2
	ro: Limită de temperatură	5.3.7
	ro: Consultați instrucțiunile de utilizare	5.4.3
	ro: Consultați instrucțiunile de utilizare electronice	5.4.3
	ro: Precauție	5.4.4
	ro: Dispozitiv medical pentru diagnostic <i>in vitro</i>	5.5.1
	ro: Conține o cantitate suficientă pentru <n> teste	5.5.5
	ro: Identificator unic al dispozitivului	5.7.10
Simboluri EDMA pentru reactivi și componente IVD, revizie octombrie 2009		
Simbol	Titlu	Număr/numere de referință
	ro: Conținut (sau conținuturi)	Nu este cazul

Brevete și mărci comerciale

CytoCell este marcă comercială înregistrată a CytoCell Limited.



CytoCell Limited
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
MAREA BRITANIE

Tel: +44 (0)1223 294048
F: +44 (0)1223 294986
E: probes@cytoCell.com
Internet: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Bombarch 1
22848 Norderstedt
GERMANIA

Tel: +49 40 527260
Internet: www.sysmex-europe.com

Istoricul versiunilor IFU

V001 2023-06-13: Noi IFU pentru Regulamentul (UE) 2017/746
V002 2025-08-29: Eliminarea mărcii UKCA.