



A Sysmex Group Company



Bruksanvisning

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

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



ENDAST FÖR PROFESSIONELLT BRUK



Mer information och andra språkversioner finns på ogt.com/IFU

Avsett ändamål

CytoCell® BCR/ABL (ABL1) *Plus* Translocation, Dual Fusion Probe är ett kvalitativt, icke-automatiserat, fluorescerande *in situ*-hybridiseringstest (FISH) som används för att upptäcka rearrangemang mellan region 9q34.1 på kromosom 9 och region 22q11.2 på kromosom 22 med eller utan samtidig deletion av region ASS1 vid 9q34.1 på kromosom 9 i hematologiskt erhållna cellsuspensioner fixerade i Carnoys lösning (3:1 metanol/ättiksyra) från patienter med fastställt eller misstänkt kronisk myeloisk leukemi (KML), akut myeloisk leukemi (AML) eller akut lymfatisk leukemi (ALL).

Bruksanvisning

Den här enheten är avsedd att vara ett komplement till övriga kliniska och histopatologiska undersökningar inom ramen för sedvanlig diagnostik och sjukvård där kännedom om translokationsstatus för *BCR::ABL1* och deletionsstatus för *ASS1* skulle ha betydelse för den kliniska handläggningen.

Begränsningar

Den här enheten används för att upptäcka rearrangemang med brytpunkter i regionen som avgränsas av de röda och gröna klonerna i denna sonduppsättning, vilken innefattar regionen som omfattas av aquaklonerna i denna sonduppsättning, vilken innefattar regionerna *ABL1*, *BCR* och *ASS1*. Brytpunkter utanför denna region, varianter av rearrangemang som ligger helt inom denna region eller partiella förluster av denna region upptäcks inte alltid med denna enhet. Enheten är inte avsedd för fristående diagnostisering, behandlingsvägledande diagnostik, prenatal testning, populationsbaserad screening, patientnära testning eller egentestning. Enheten har inte validerats för användning på andra prov- eller sjukdomstyper, eller för ändamål som faller utanför den avsedda användning som anges.

Den är avsedd som komplement till andra diagnostiska laboratorietester och behandling bör inte sättas in enbart på grundval av FISH-resultaten.

Rapportering och tolkning av FISH-resultat ska utföras av kvalificerad personal i enlighet med professionell praxis och annan klinisk och diagnostisk information samt andra relevanta testresultat bör beaktas. Den här enheten är endast avsedd för professionellt bruk i laboratorium.

Underlåtenhet att följa anvisningarna kan påverka prestanda och leda till falskt positiva/negativa resultat.

Principer för testet

In situ-hybridisering med fluorescens (FISH) är en teknik för att upptäcka DNA-sekvenser på metafaskromosomer eller interfaskkärnor från fixerade cytogenetiska prover. Med den här tekniken används DNA-sonder som hybridiserar till hela kromosomer eller enstaka unika sekvenser och fungerar som ett kraftfullt komplement till cytogenetisk analys med Giemsa-färgning. Tekniken går nu att tillämpa som ett viktigt undersökningsverktyg vid prenatala, hematologiska och solida tumörers kromosomanalyser. Mål-DNA kan efter fixering och denaturering hybridisera till en likaledes denaturerad, fluorescensmärkt DNA-sond med en komplementär sekvens. Efter hybridisering avlägsnas obunden och ospecifikt bunden DNA-sond, och DNA kontrastfärgas för visualisering. Fluorescensmikroskopi synliggör sedan den hybridiserade sonden på målmaterialet.

Information om sonden

BCR-genen (*BCR* activator of RhoGEF and GTPase) sitter på 22q11.2, *ABL1*-genen (*ABL* proto-oncogene 1, non-receptor tyrosine kinase) sitter på 9q34.1 och *ASS1*-genen (*argininosuccinate synthase 1*) sitter på 9q34.1. Translokation mellan *BCR* och *ABL1* ger upphov till fusionsgenen *BCR::ABL1*. Förekomst av en *BCR::ABL1*-fusion har stor betydelse för diagnos och prognos vid ett flertal hematologiska sjukdomar.

Translokationen t(9;22)(q34.1;q11.2) är det typiska kännetecknet för kronisk myeloisk leukemi (KML) och ses i cirka 90 – 95 % av alla fall¹. Återstående fall har en translokationsvariant eller en kryptisk translokation mellan 9q34.1 och 22q11.2 som inte kan identifieras genom rutinmässig cytogenetisk analys¹. *BCR::ABL1*-fusioner kan också hittas i 25 % av fallen med akut lymfatisk leukemi (ALL) hos vuxna och i 2 – 4 % av ALL-fallen hos barn¹. Detta rearrangemang ses också i sällsynta fall av akut myeloisk leukemi (AML)².

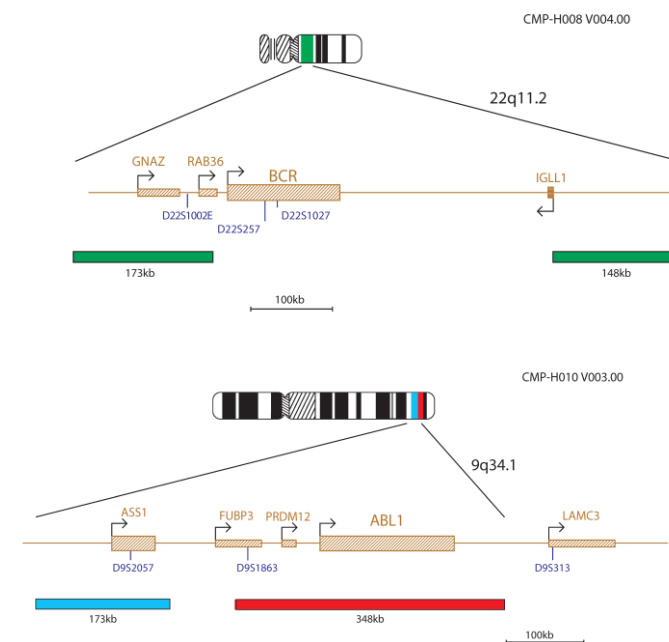
Translokationen mellan kromosom 9 och 22 kan åtföljas av förlorade proximala sekvenser på den resulterande kromosom 9, inklusive regionen med *ASS1* (*argininosuccinate synthase 1*)³.

Sondens specifikationer

ASS1, 9q34.1, Aqua

ABL1, 9q34.1, röd

BCR, 22q11.2, grön



Den gröna sondblandningen innehåller en sond på 173 kb som fäster centromert om *BCR*-genen och sträcker sig över generna *GNAZ* och *RAB36*. En andra grön sond täcker en region på 148 kb telomert om *BCR*-genen sträcker sig över en del av *IGLL1*-genen.

Den röda sondblandningen innehåller en röd sond på 348 kb som sträcker sig över gen *ABL1* och en aquafärgad sond på 173 kb som sträcker sig över gen *ASS1*.

Material som medföljer

Sond: 50 µl per flaska (5 tester) eller 100 µl per flaska (10 tester).

Sonderna tillhandahålls förblandade i hybridiseringslösning (< 65 % formamid, < 20 mg dextransulfat, < 10 % av 20x natriumklorid-natriumcitrat (SSC-buffert)) och är färdiga att användas.

Kontrastfärg: 150 µl per flaska (15 tester).

Kontrastfärgen är DAPI antifade ES (0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenylindol) i glycerolbaserat fästmedel).

Varningar och försiktighetsåtgärder

1. För användning vid *in vitro*-diagnostik. Endast för professionellt bruk i laboratorium.
2. Sondblandningarna innehåller formamid som är en teratogen. Undvik inandning av ångorna och hudkontakt. Hanteras varsamt. Använd handskar och laboratorierock.
3. Hantera DAPI varsamt. Använd handskar och laboratorierock.
4. Använd inte skadade flaskor eller om dess innehåll har äventyrats på något sätt.
5. Kassera produkten på ett säkert sätt genom att följa lokala bestämmelser samt rekommendationerna i säkerhetsdatabladet. Detta gäller även för skadat testkitsinnehåll.
6. Kassera använd reagens och annat kontaminerat material för engångsbruk på samma sätt som vid kassering av smittfarligt eller potentiellt smittfarligt avfall. Det är laboratoriets ansvar att hantera fast och flytande avfall i enlighet med dess typ och hur pass farligt det är. Avfallet ska hanteras och kasseras (av personal eller via extern hjälp) i enlighet med tillämpliga bestämmelser.
7. Alla användare måste kunna skilja mellan färgerna rött, blått och grönt.

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

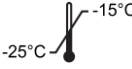
Sidan 1 av 5

- 8. Underlåtenhet att följa det föreskrivna protokollet och reagenserna kan påverka prestandan och leda till falskt positiva/negativa resultat.
- 9. Sonden får inte spädas eller blandas med andra sonder.
- 10. Underlåtenhet att använda 10 µl sond i protokollsteget före denaturering kan påverka prestandan och leda till falskt positiva/negativa resultat.
- 11. Alla produkter måste valideras före användning.
- 12. Interna kontroller med opåverkade cellpopulationer i testproverna ska utföras.

Temperatursdefinitioner

- -20 °C/fryst/i frys: -25 °C till -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Rumstemperatur (RT): +15 °C till +25 °C

Förvaring och hantering

 Kittet ska förvaras mellan -25 °C och -15 °C i ett frysskåp fram till det utgångsdatum som anges på etiketten. Sonden och flaskorna med kontrastfärg måste förvaras mörkt.

 FISH-sonden, DAPI Antifade ES-kontrastfärgen och hybridiseringslösningen är stabila under frysnings- och upptiningscykler vid normal användning (när en cykel utgörs av att flaskan tas ut och sätts tillbaka i frysen- 5 cykler för FISH-sondflaskor på 50 µl (5 tester), 10 cykler för FISH-sondflaskor på 100 µl (10 tester) och 15 cykler för kontrastfärgsflaskor på 150 µl (15 tester). Minimera risken för ljusexponering och undvik om möjligt. Förvara komponenterna i den medföljande ljusskyddade behållaren. Om komponenterna hanteras eller förvaras i förhållanden utöver de som anges på etiketten är det möjligt att de inte fungerar som de ska, vilket kan påverka analysresultaten. Se till att undvika exponering av ljus och temperaturförändringar.

Utrustning och material som behövs men inte medföljer

Utrustningen som används måste vara kalibrerad:

- 1. Värmeplatta (med en fast platta och exakt temperaturreglering upp till 80 °C)
- 2. Kalibrerade mikropipetter och spetsar med varierande volym mellan 1 µl– 200 µl
- 3. Vattenbad med exakt temperaturreglering vid 37 °C och 72 °C
- 4. Mikrocentrifugrör (0,5 ml)
- 5. Fluorescensmikroskop (Se avsnittet om rekommendationer för fluorescensmikroskop)
- 6. Faskontrastmikroskop
- 7. Rena Coplin-burkar av plast, keramik eller värmebeständigt glas
- 8. Pincett
- 9. Kalibrerad pH-mätare (eller indikatorremsor som mäter pH 6,5 – 8,0)
- 10. Behållare med befuktning
- 11. Immersionsolja för linser till fluorescensmikroskop
- 12. Bänkcentrifug
- 13. Objektglas
- 14. Täckglas 24 x 24 mm
- 15. Tidur
- 16. 37 °C inkubator
- 17. Lim i gummilösning
- 18. Vortexblandare
- 19. Mätglas
- 20. Magnetisk omrörare
- 21. Kalibrerad termometer

Valfri utrustning som inte medföljer

- 1. Cytogenetisk torkkammare

Reagenser som behövs men inte medföljer

- 1. 20 x salt-natriumcitrat (SSC)-lösning
- 2. 100 % etanol
- 3. Tween-20
- 4. 1 M natriumhydroxid (NaOH)
- 5. 1 M saltsyra (HCl)
- 6. Renat vatten

Rekommendationer för fluorescensmikroskop

Använd en 100 W kvicksilverlampa eller motsvarande och plana inoljade akromatiska objektiv 60/63 x eller 100 x för optimal visualisering. De fluoroformer som används i denna sonduppsättning exciteras och emitteras vid följande våglängder:

Fluorofor	Excitation _{max} [nm]	Emission _{max} [nm]
Aqua	418	467
Grön	495	521
Röd	596	615

Se till att mikroskopet är försett med rätt excitations- och emissionsfilter för de ovan angivna våglängderna.

Använd ett enkelt bandpassfilter för aquaspektrumet för optimal visualisering av aquaspektrumet, eller ett tredubbelt bandpassfilter för rött/grönt/aquafärgat spektrum för samtidig visualisering av de gröna, röda och aquafärgade fluoroformerna.

Kontrollera fluorescensmikroskopet före användning för att säkerställa att det fungerar felfritt. Använd immersionsolja som lämpar sig för fluorescensmikroskopi och har en sammansättning med låg autofluorescens. Undvik att blanda DAPI

antifade med immersionsolja för mikroskopet eftersom detta gör signalerna tydliga. Följ tillverkarnas rekommendationer beträffande lampans livslängd och filterns ålder.

Provberedning

Kitet är utformat för att användas på hematologiskt erhållna cellsuspensioner fixerade i Carnoys lösning (3:1 metanol/ättiksyra) som är beredda enligt laboratoriets eller institutionens riktlinjer. Bered lufttorkade prover på objektglas i enlighet med cytogenetiska standardförfaranden. AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* innehåller rekommendationer för provtagning, odling, insamling och objektglas-framställning⁴.

Lösningsberedning

Etanollösningar

Späd 100-procentig etanol med renat vatten i följande förhållanden och blanda noggrant:

- 70-procentig etanol – 7 delar 100-procentig etanol med 3 delar renat vatten
 - 85-procentig etanol – 8,5 delar 100-procentig etanol med 1,5 delar renat vatten
- Förvara lösningarna upp till 6 månader i rumstemperatur i en lufttät behållare.

2 x SSC-lösning

Späd ut 1 del 20 x SSC-lösning med 9 delar renat vatten och blanda väl. Kontrollera pH-värdet och justera till pH 7,0 med den mängd NaOH eller HCl som krävs. Förvara lösningen upp till 4 veckor i rumstemperatur i en lufttät behållare.

0,4 x SSC-lösning

Späd ut 1 del 20 x SSC-lösning med 49 delar renat vatten och blanda väl. Kontrollera pH-värdet och justera till pH 7,0 med den mängd NaOH eller HCl som krävs. Förvara lösningen upp till 4 veckor i rumstemperatur i en lufttät behållare.

2 x SSC, 0,05 % Tween-20-lösning

Späd 1 del 20 x SSC-lösning med 9 delar renat vatten. Tillsätt 5 µl Tween-20 per 10 ml och blanda väl. Kontrollera pH-värdet och justera till pH 7,0 med den mängd NaOH eller HCl som krävs. Förvara lösningen upp till 4 veckor i rumstemperatur i en lufttät behållare.

FISH-protokoll

(Obs! Se till att sonden och kontrastfärgen aldrig utsätts för mer än begränsat med laboratoriebelysning).

Förberedelse av objektglas

- 1. Applicera cellprovet på ett objektglas för mikroskop. Låt det torka. (**Vid användning av cytogenetisk torkkammare:** Kammaren ska användas vid cirka 25 °C och 50 % luftfuktighet för optimal applicering av cellprovet. Om en cytogenetisk torkkammare inte finns att tillgå är ett dragskåp ett alternativ).
- 2. Sänk ned objektglaset i 2 x SSC i 2 minuter i rumstemperatur (RT) utan beröring.
- 3. Dehydrera i en serie bad med etanol efter varandra (70 %, 85 % och 100 %), vart och ett i 2 minuter vid rumstemperatur (RT).
- 4. Låt det torka.

Före denaturering

- 5. Ta ut sonden ur frysskåpet och låt den värmas upp till rumstemperatur (RT). Centrifugera rören lätt före användning.
- 6. Säkerställ att sondlösningen är väl blandad med en pipett.
- 7. Avlägsna 10 µl av sonden per test och överför till ett mikrocentrifugrör. Lägg snabbt tillbaka återstående sond i frysen.
- 8. Låt sonden och objektglaset förvärmas på en värmeplatta vid 37 °C (+/- 1 °C) i 5 minuter.
- 9. Applicera 10 µl av sondblandningen på cellprovet och lägg försiktigt på ett täckglas. Försegla med lim i gummilösning och låt limmet torka helt.

Denaturering

- 10. Denaturera provet och sonden samtidigt genom att värma objektglaset på en värmeplatta vid 75 °C (+/- 1 °C) i 2 minuter.

Hybridisering

- 11. Lägg objektglaset över natten i en fuktig, ljusstät behållare vid 37 °C (+/- 1 °C).

Tvättar efter hybridisering

- 12. Ta ut DAPI ur frysskåpet och låt den värmas upp till rumstemperatur (RT).
- 13. Ta bort täckglaset och alla spår av lim noggrant.
- 14. Låt objektglaset ligga i 0,4 x SSC (pH 7,0) vid 72 °C (+/- 1 °C) i 2 minuter utan beröring.
- 15. Låt objektglaset rinna av och sänk ned det i 2 x SSC, 0,05 % Tween-20 vid rumstemperatur (RT) (pH 7,0) i 30 sekunder utan beröring.
- 16. Låt objektglaset rinna av och applicera 10 µl DAPI mot blekning (antifade) på varje prov.
- 17. Lägg ett täckglas över, avlägsna eventuella bubblor och låt färgen utvecklas i mörker i 10 minuter.
- 18. Granska i ett fluorescensmikroskop (se **Rekommendationer för fluorescensmikroskop**).

Rekommendationer för förfarande

- 1. Objektglas som har ugnsfixerats eller åldrats ger en svagare fluorescenssignal.
- 2. Hybridiseringen kan påverkas negativt vid användning av andra reagenser än de som tillhandahålls eller rekommenderas av CytoceLL Ltd.
- 3. Använd en kalibrerad termometer för att mäta temperaturen på lösningar, vattenbad och inkubatorer eftersom dessa temperaturer är avgörande för att produkten ska fungera optimalt.

- Vätskekonzentration, pH-värden och temperaturer är viktiga eftersom för låg noggrannhet kan leda till icke-specifik bindning av sonden, och för hög noggrannhet kan innebära att signalerna uteblir.
- Ofullständig denaturering kan ge utebliven signal, och överdenaturering kan även resultera i icke-specifik bindning.
- Överhybridisering kan ge extra eller oväntade signaler.
- Användaren bör optimera protokollet för sina egna prover innan testet används för diagnosändamål.
- Bristfälliga förhållanden kan resultera i icke-specifik bindning som kan misstolkas som en sondersignal.

Tolkning av resultaten

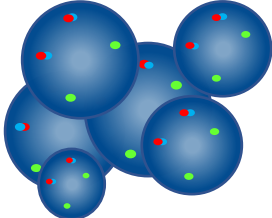
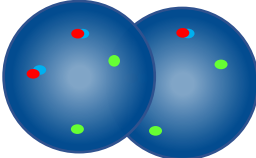
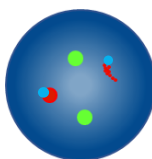
Bedömning av objektglaskvalitet

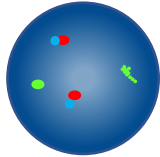
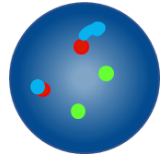
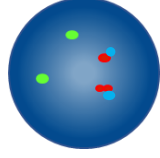
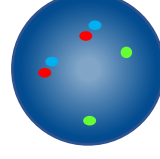
Objektglaset ska inte analyseras i följande fall:

- Signalerna är för svaga för analys i enstaka filter – för att fortsätta analysen ska signalerna framträda klart och tydligt och vara lätta att utvärdera
- Det finns ett stort antal hopklumpade/överlappande celler som försvårar analysen
- Om > 50 % av cellerna inte är hybridiserade
- Det finns en stor mängd fluorescerande partiklar mellan cellerna och/eller en fluorescerande dimma som stör signalerna – optimalt ska bakgrunden framstå mörk eller svart och ren
- Cellkärnornas gränser går inte att urskilja och är inte intakta

Riktlinjer för analysen

- Två analytiker bör analysera och tolka varje prov. Eventuella avvikelser bör avgöras av en tredje analytikers utvärdering
- Alla analytiker ska ha lämpliga kvalifikationer enligt godkända nationella standarder
- Varje analytiker ska oberoende av de andra bedöma 100 kärnor i varje prov. Den första analytikern ska börja analysen från vänster sida av objektglaset och den andra analytikern från höger
- Varje analytiker ska dokumentera sina resultat i separata utskrifter
- Analysera endast hela kärnor, inte kärnor som är överlappande, hopklumpade eller täckta av cytoplasmiskt skräp eller hög grad av autofluorescens
- Undvik områden med överskott av cytoplasmiskt skräp eller icke-specifik hybridisering
- Signalintensiteten kan variera även med en enstaka kärna. Använd i så fall enstaka filter och/eller justera fokalplanet
- Under icke optimala förhållanden kan signalerna verka otydliga. Om två signaler med samma färg vidrör varandra eller om avståndet mellan dem inte är högre än två signalbreddar eller om en tunn sträng förbinder de två signalerna ska de betraktas som en signal
- Om det finns tvivel om huruvida en cell går att analysera eller inte, låt bli att analysera den

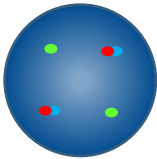
Riktlinjer för analysen	
	Räkna inte – kärnorna ligger för nära varandra för att avgränsningarna ska kunna bedömas
	Räkna inte överlappande kärnor – alla områden för båda kärnorna är inte synliga
	Räkna som två röda/aqua fusionssignaler – en av de två röda signalerna är diffus

	Räkna som två röda/aqua fusionssignaler och två gröna signaler – en av de två gröna signalerna är diffus
	Räkna som två röda/aqua fusionssignaler och två gröna signaler – en av de två aquasignalerna är diffus
	Räkna som två röda/aqua fusionssignaler och två gröna signaler – mellanrummet i en av de röda signalerna är mindre än två sondbredder
	Räkna som två röda/aqua fusionssignaler och två gröna signaler – mellanrummet mellan den röda signalen och aquasignalen är mindre än två sondbredder

Förväntade resultat

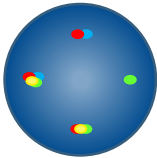
Förväntat normalt signalmönster

Trefärgad Dual Fusion Probe

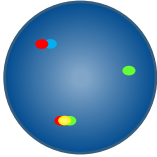


I en normal cell förväntas två röda/aqua fusionssignaler och två gröna signaler (2RA2G).

Förväntade onormala signalmönster



I en cell med rearrangemanget t(9;22)(q34.1;q11.2) förväntas en röd/aqua fusionssignal, en röd/grön fusionssignalsignal, en röd/grön/aqua fusionssignal (1RA1G1RG1RGA).



I en cell med rearrangemanget t(9;22)(q34.1;q11.2) med en deletion av proximala 9q och distala 22q förväntas en röd/aqua fusionssignal, en grön signal och en röd/grön fusionssignal (1RA1G1RG).

Andra signalmönster är möjliga i aneuploida/obalanserade prover.

Kända relevanta störningar/störande ämnen

Inga kända relevanta störningar/störande ämnen.

Känd korsreaktivitet

Den gröna distala BCR-sonden kan visa upp till 2 signaler på kromosom 7 vid 7q11.2.

Rapportering av allvarliga incidenter

För patienter/användare/tredje part inom EU och i länder med samma bestämmelser ((EU) 2017/746-direktiv om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik): allvarliga incidenter som sker i samband med användning av den här enheten ska rapporteras till tillverkaren och behörig nationell myndighet. Allvarliga incidenter som sker i andra länder ska rapporteras till tillverkaren och behörig nationell myndighet (om tillämpligt). För kontakt gällande säkerhetsövervakning hos tillverkare: vigilance@oqt.com En förteckning över kontaktpunkter för säkerhetsövervakning för behöriga nationella myndigheter inom EU finns på: https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Specifika prestanda
Analytisk specificitet

Analytisk specificitet definieras som den procentandel signaler som hybridiserar till rätt locus och ingen annan plats. Tre (3) kromosomloci i var och en av 100 metafasceller från fem (5) prover analyserades, varav 600 datapunkter erhöles. Placeringen av varje hybridiserad sond kartlades och antalet FISH-signalerna i metafaskromosomer som hybridiserade till rätt locus registrerades.

Den analytiska specificiteten hos varje sond i uppsättningen beräknades som antal FISH-signalerna i metafaskromosomer som hybridiserats till rätt locus, dividerat med det totala antalet hybridiserade FISH-signalerna i metafaskromosomer. Detta resultat multiplicerades med 100, uttrycktes som procent och angavs med 95 % konfidensintervall.

Tabell 1. Analytisk specificitet för BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe

Mål	Antal hybridiserade metafaskromosomer	Antal korrekt hybridiserade loci	Analytisk specificitet	95 % konfidensintervall
9q34.1	200	200	100 %	98,12 – 100 %
22q11.2	200	200	100 %	98,12 – 100 %
9q34.1	200	200	100 %	98,12 – 100 %

Analytisk sensitivitet

Analytisk sensitivitet är den procentandel bedömningsbara interfasceller som har det förväntade normala signalmönstret. Minst 100 interfasceller analyserades för vart och ett av 25 fixerade cellsuspensioner från benmärgsprover som bedömdes som negativa för BCR::ABL1-translokation och ASS1-deletion, vilket gav minst 2 500 bedömda cellkärnor för varje provtyp. Sensitivitetsdata analyserades baserat på procentandelen celler som uppvisade ett normalt förväntat signalmönster och uttrycktes som procent med 95 % konfidensintervall.

Tabell 2. Analytisk sensitivitet för BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe

Provtyp	Sensitivitetskriterier	Sensitivitetsresultat
Benmärg	> 95 %	100,0 % (± ej tillämpligt)

Beskrivning av normala cut-off-värden (gränsvärden)

Det normala cut-off-värdet definieras som procentandelen celler som uppvisar ett falskt positivt signalmönster med vilket en individ skulle anses normal och som inte stämmer överens med en klinisk diagnos. Minst 100 interfasceller analyserades för vart och ett av 25 fixerade cellsuspensioner från benmärgsprover som bedömdes som negativa för ett BCR::ABL1-rearrangemang, vilket gav minst 2 500 bedömda cellkärnor för varje provtyp.

Cut-off-värdet beräknades med β -invers-funktionen (BETAINV) i MS Excel. Det beräknades som procentandelen interfasceller som uppvisade ett falskt positivt signalmönster. Den övre gränsen av ett ensidigt 95 % konfidensintervall av binomialfördelningen i ett normalt patientprov användes.

Tabell 3. Beskrivning av normala cut-off-värden för BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe

Provtyp	Signalmönster	Cut-off-resultat
Benmärg	1RA1G1RG	2,95 %
	1RA1G1RG1RGA	2,95 %

Laboratorierna måste verifiera cutoff-värden med hjälp av sina egna data^{5,6}.

Precision

Produktens precision har uppmätts som precision inom samma dag (från prov till prov), precision mellan olika dagar (från dag till dag) och precision mellan olika loter på samma inrättning (från lot till lot).

Tre prov användes för att bedöma produktens precision: resterande fixerat restmaterial av 3:1 metanolättiksyra från oidentifierade benmärgsprover från Cytocells provbank för fixerade celler. Urvalsstorleken var tre (3) inom det förväntade intervallet för normalt och lågt positivt.

För att fastställa precisionen mellan dagar och inom samma dag utvärderades proverna under tio (10) ej efterföljande dagar, och för att fastställa precisionen mellan loter utvärderades tre (3) lotnummer av produkten på tre (3) replikat av samma prover. Resultaten presenterades som övergripande överensstämmelse med den förutspått negativa klassen (för de negativa proverna).

Tabell 4. Reproducerbarhet och precision för BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe

Variabel	Provtyp	Överensstämmelse
Reproducerbarhet under samma dag (prov till prov) och mellan dagar (dag till dag)	Benmärg, negativt	96,7 %
	Benmärg lågt positivt 1RA1G1RG	96,7 %
	Benmärg lågt positivt 1RA1G1RG1RGA	83,3 %
Reproducerbarhet mellan loter	Benmärg, negativt	100,0 %
	Benmärg lågt positivt 1RA1G1RG	100,0 %
	Benmärg lågt positivt 1RA1G1RG1RGA	77,8 %

Kliniska prestanda

För att säkerställa att produkten upptäcker de avsedda rearrangemangen fastställdes dess kliniska prestanda i två studier av representativa prover från den avsedda populationen för produkten: Hematologiskt erhållna cellsuspensioner fixerade i Carnoys lösning (3:1 metanol/ättiksyra) från patienter med fastställd eller misstänkt kronisk myeloisk leukemi (KML), akut myeloisk leukemi (AML) eller akut lymfatisk leukemi (ALL) som är beredda enligt laboratoriets eller institutionens riktlinjer. Studierna hade en kombinerad urvalsstorlek på 125 prover, bestående av 99 BCR::ABL1 translokationsnegativa och 26 BCR::ABL1 translokationspositiva prov. Resultaten jämfördes med provets kända status. Sonden identifierade provets status korrekt i samtliga fall.

Resultaten av dessa tester analyserades för att fastställa klinisk sensitivitet, klinisk specificitet och frekvensen av falskt positiva resultat (false positive rate, FPR) för positiva signaler med hjälp av en endimensionell metod.

Tabell 5. Kliniska prestanda för BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe

Variabel	Resultat
Klinisk sensitivitet (verkligt positivt resultat, TPR)	98,97 %
Klinisk specificitet (verkligt negativt resultat, TNR)	99,73 %
Falskt positivt resultat (FPR) = 1 – specificitet	0,27 %

Säkerhets- och prestandasammanfattning (SSP, Summary of Safety and Performance)

Säkerhets- och prestandasammanfattningen ska vara tillgänglig via den europeiska databasen för medicintekniska produkter (Eudamed) och länkat till grundläggande UDI-DI. Eudamed URL: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> Grundläggande UDI-DI: 50558449LPH038JQ

Om Eudamed inte är fullt funktionellt ska säkerhets- och prestandasammanfattningen göras offentlig via e-postbegäran till SSP@oqt.com.

Mer information

Kontakta CytoCells tekniska support för att få mer information om produkten. Tfn: +44 (0)1223 294048 E-post: techsupport@cytocell.com Hemsida: www.oqt.com

Referenser

- 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>
- Soupir et al., Am J Clin Pathol 2007;127:642-650
- Robinson et al., Leukemia 2005;19(4):564-71
- 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.

Symbolordlista

SS-EN ISO 15223-1:2021 – ”Medicintekniska produkter – Symboler att användas vid märkning av produkt och information till användare – Del 1: Allmänna krav” (© International Organization for Standardization)		
Symbol	Titel	Referensnummer
	sv: Tillverkare	5.1.1
	sv: Auktoriserad representant inom den europeiska gemenskapen/EU	5.1.2
	sv: Utgångsdatum	5.1.4
	sv: Kod för tillverkningsatsen	5.1.5
	sv: Katalognummer	5.1.6
	sv: Skydda mot solljus	5.3.2
	sv: Temperaturgräns	5.3.7
	sv: Se bruksanvisningen	5.4.3
 oqt.com/IFU	sv: Se bruksanvisning i elektronisk form	5.4.3
	sv: Iaktta försiktighet	5.4.4
	sv: Medicinteknisk enhet för <i>in vitro</i> - diagnostik	5.5.1
	sv: Innehållet räcker till <n> tester	5.5.5
	sv: Unik produktidentifiering	5.7.10
EDMA-symboler för IVD-reagens och -komponenter – reviderade i oktober 2009		
Symbol	Titel	Referensnummer
	sv: Innehåll (eller innehåller)	Ej tillämpligt

Patent och varumärken
CytoCell är registrerat varumärke som tillhör Cytocell Limited.



Cytocell Limited
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
STORBRITANNIEN

Tfn: +44 (0)1223 294048
Fax: +44 (0)1223 294986
E-post: probes@cytocell.com
Hemsida: www.oqt.com



Sysmex Europe SE
Bornbarch 1
22848 Norderstedt
TYSKLAND

Tfn: +49 40 527260
Hemsida: www.sysmex-europe.com

Bruksanvisningsversion
V001 2023-06-13: Ny bruksanvisning för bestämmelsen (EU) 2017/746
V002 2025-08-29: Borttagning av UKCA-märket.