



A Sysmex Group Company



Istruzioni per l'uso (IFU)

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

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



SOLO PER USO PROFESSIONALE



Ulteriori informazioni e altre lingue disponibili su [ogt.com/IFU](http://ogt.com/IFU)

### Uso previsto

CytoCell® BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe è un test qualitativo, non automatizzato, d'ibridazione *in situ* fluorescente (FISH) utilizzato per rilevare riarrangiamenti cromosomici tra la regione 9q34.1 sul cromosoma 9 e la regione 22q11.2 sul cromosoma 22, con o senza delezioni concomitanti della regione ASS1 di 9q34.1 sul cromosoma 9, in sospensioni cellulari di derivazione ematologica fissate in soluzione di Carnoy (metanolo/acido acetico 3:1) da pazienti con diagnosi confermata o sospetta di leucemia mieloide cronica (LMC), leucemia mieloide acuta (LMA) o leucemia linfoblastica acuta (LLA).

### Indicazioni per l'uso

Il presente dispositivo è ideato come aggiunta ad altri test clinici e istopatologici in percorsi diagnostici e di cura clinica riconosciuti, dove la conoscenza dello stato di traslocazione di BCR::ABL1 e della delezione di ASS1 sarebbe importante per la gestione clinica.

### Limitazioni

Il presente dispositivo è ideato per individuare riarrangiamenti con breakpoint nella regione coperta dai cloni rosso e verde o le delezioni nella regione coperta dai cloni ciano in questo set di sonde, le quali includono le regioni ABL1, BCR e ASS1. I breakpoint esterni a questa regione, riarrangiamenti varianti interamente contenuti entro questa regione o perdite parziali di questa regione potrebbero non venire rilevati da questo dispositivo. Il presente dispositivo non è destinato a: utilizzo come diagnostica indipendente, test diagnostico di accompagnamento, test prenatale, screening basato sulla popolazione, analisi decentrate o autodiagnosi.

Il presente dispositivo non è stato convalidato per tipi di campione, tipi di patologie od obiettivi diversi da quelli specificati nell'uso previsto.

È concepito in aggiunta ad altri test diagnostici di laboratorio e l'azione terapeutica non deve essere messa in atto esclusivamente sulla base del risultato della FISH. La refertazione e l'interpretazione dei risultati della FISH devono essere eseguite da personale adeguatamente qualificato, devono essere coerenti con gli standard professionali della pratica medica e devono prendere in considerazione altri risultati di test rilevanti e informazioni cliniche e diagnostiche. Il presente dispositivo è solo per uso professionale di laboratorio.

La mancata aderenza al protocollo può incidere sulle prestazioni e portare a risultati falsi positivi/negativi.

### Principi del test

L'ibridazione *in situ* fluorescente (fluorescence in situ hybridization, FISH) è una tecnica che consente di rilevare sequenze di DNA su cromosomi in metafase o in nuclei interfascici di campioni citogenetici fissati. La tecnica prevede l'utilizzo di sonde di DNA in grado di ibridare cromosomi interi o singole sequenze uniche e rappresenta un potente strumento in aggiunta all'analisi citogenetica con bandeggio G. Tale tecnica può essere applicata oggi come strumento diagnostico essenziale nell'analisi cromosomica prenatale, ematologica e dei tumori solidi. Il DNA bersaglio, dopo fissazione e denaturazione, è disponibile per l'annealing con

una sonda di DNA similmente denaturata, marcata con sostanza fluorescente, dotata di una sequenza complementare. Terminata l'ibridazione, la sonda di DNA non legata o legata in modo non specifico viene rimossa e il DNA viene colorato con un colorante di contrasto. L'utilizzo della microscopia a fluorescenza permette quindi la visualizzazione della sonda ibridata sul materiale bersaglio.

### Informazioni sulla sonda

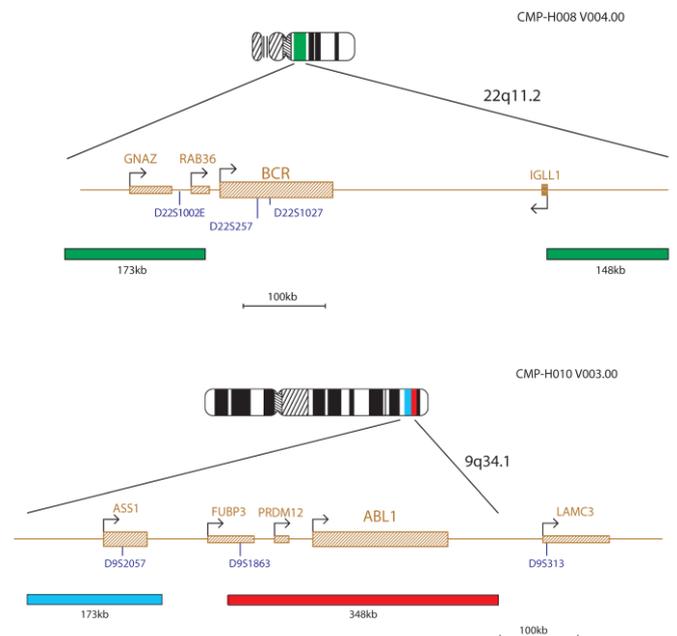
Il gene BCR (attivatore BCR di RhoGEF e GTPasi) è localizzato su 22q11.2, il gene ABL1 (ABL proto-oncogene 1, non-recettore tirosin-chinasi) è localizzato su 9q34.1 e il gene ASS1 (argininosuccinato sintetasi 1) è localizzato su 9q34.1. La traslocazione tra BCR e ABL1 determina la fusione genica BCR::ABL1. La presenza di una fusione BCR::ABL1 ha implicazioni diagnostiche e prognostiche importanti in una serie di disturbi ematologici.

La traslocazione t(9;22)(q34.1;q11.2) è il tratto caratteristico della leucemia mieloide cronica (LMC) ed è rilevata in circa il 90–95% dei casi<sup>1</sup>. I casi rimanenti hanno una traslocazione variante o un riarrangiamento criptico che comprende 9q34.1 e 22q11.2 che non può essere identificato con analisi citogenetiche di routine<sup>1</sup>. La fusione BCR::ABL1 può essere rilevata anche nel 25% dei casi di leucemia linfoblastica acuta (LLA) negli adulti e nel 2–4% dei casi di LLA nei bambini<sup>1</sup>. Questo riarrangiamento è stato inoltre osservato in rari casi di leucemia mieloide acuta (LMA)<sup>2</sup>.

La traslocazione tra i cromosomi 9 e 22 può essere accompagnata da perdita di sequenze prossimali sul cromosoma derivativo 9, tra cui la regione ASS1 (argininosuccinato sintetasi 1)<sup>3</sup>.

### Specifiche della sonda

ASS1, 9q34.1, ciano  
ABL1, 9q34.1, rosso  
BCR, 22q11.2, verde



Il mix della sonda verde contiene una sonda di 173 kb centromerica rispetto al gene BCR che si estende sui geni GNAZ e RAB36. Una seconda sonda verde copre una regione di 148 kb telomerica rispetto al gene BCR che si estende su parte del gene IGLL1.

Il mix delle sonde rossa e ciano contiene una sonda rossa di 348 kb che copre il gene ABL1 e una sonda ciano di 173 kb che si estende sul gene ASS1.

### Materiali forniti

**Sonda:** 50 µL per fiala (5 test) o 100 µL per fiala (10 test).

Le sonde sono fornite già mescolate nella soluzione d'ibridazione (formammide <65%; destrano solfato <20 mg; citrato salino di sodio (SSC) 20x <10%) e sono pronte all'uso.

**Colorante di contrasto:** 150 µL per fiala (15 test).

Il colorante di contrasto è DAPI Antifade ES (DAPI (4,6-diammidino-2-fenilindolo) 0,125 µg/mL in mounting medium a base di glicerolo).

### Avvertenze e precauzioni

1. Per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale di laboratorio.
2. I mix di sonde contengono formammide, una sostanza teratogena; non respirare fumi ed evitare il contatto con la pelle. Maneggiare con cura; indossare guanti e un camice da laboratorio.
3. Maneggiare DAPI con cura; indossare guanti e un camice da laboratorio.
4. Non utilizzare se la fiala o le fiale sono danneggiate o se il contenuto è in qualche modo compromesso.
5. Attenersi ai regolamenti sullo smaltimento locali e alle raccomandazioni presenti nella Scheda di dati di sicurezza per garantire uno smaltimento sicuro del prodotto. Ciò si applica anche al contenuto del kit di test danneggiato.

DS1064/CE-it v001.00/2023-06-13 (H008 v4 / H010 v3)

- Smaltire tutti i reagenti usati e i materiali monouso contaminati attenendosi alle procedure per i rifiuti infetti o potenzialmente infetti. È responsabilità di ciascun laboratorio maneggiare i rifiuti solidi e liquidi secondo la rispettiva natura e il livello di pericolosità, gestendoli e smaltendoli (o disponendone la gestione e lo smaltimento) nel rispetto dei regolamenti applicabili.
- Gli operatori devono essere in grado di distinguere i colori rosso, blu e verde.
- La mancata aderenza al protocollo descritto e ai reagenti può incidere sulle prestazioni e portare a risultati falsi positivi/negativi.
- La sonda non deve essere diluita o miscelata con altre sonde.
- Il mancato utilizzo di 10 µL di sonda durante lo stadio di pre-denaturazione del protocollo può incidere sulle prestazioni e portare a risultati falsi positivi/negativi.
- Tutti i prodotti devono essere convalidati prima dell'uso.
- I controlli interni devono essere eseguiti utilizzando popolazioni di cellule inalterate nei campioni di prova.

#### Definizioni delle temperature

- 20 °C / Congelato / In congelatore: da -25 °C a -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Temperatura ambiente (TA): da +15 °C a +25 °C

#### Conservazione e manipolazione

 Conservare il kit in congelatore ad una temperatura compresa tra -25 °C e -15 °C fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta del kit. Conservare le fiale della sonda e del colorante di contrasto al buio.



La sonda FISH, il colorante di contrasto DAPI Antifade ES e la soluzione d'ibridazione rimangono stabili durante i cicli di congelamento-scongelo sperimentati durante l'uso normale (dove un ciclo rappresenta la rimozione della fiala dal congelatore e la sua ricollocazione all'interno di quest'ultimo):

5 cicli per la fiala da 50 µL (5 test) di sonda FISH, 10 cicli per la fiala da 100 µL (10 test) di sonda FISH e 15 cicli per la fiala da 150 µL (15 test) di colorante di contrasto. L'esposizione alla luce deve essere ridotta al minimo ed evitata ove possibile. Conservare i componenti nel contenitore a tenuta di luce fornito. I componenti utilizzati e conservati in condizioni diverse da quelle indicate sull'etichetta potrebbero avere prestazioni diverse da quelle attese e influenzare negativamente i risultati del test. È necessario intraprendere ogni possibile sforzo per limitare l'esposizione a variazioni di luce e temperatura.

#### Apparecchiature e materiali necessari ma non forniti

È necessario utilizzare apparecchiature calibrate:

- Piastra riscaldante (con una piastra solida e controllo accurato della temperatura fino a 80 °C)
- Micropipette e puntali a volume calibrato variabile compreso tra 1 µL e 200 µL
- Bagno termostato con controllo accurato della temperatura a 37 °C e 72 °C
- Provette da microcentrifuga (0,5 mL)
- Microscopio a fluorescenza (vedere la sezione Configurazione ottimale del microscopio a fluorescenza)
- Microscopio a contrasto di fase
- Contenitori di Coplin in plastica trasparente, ceramica o vetro resistente al calore
- Pinzette
- Misuratore di pH calibrato (o strisce indicatrici di pH capaci di misurare valori di pH da 6,5 a 8,0)
- Contenitore umidificato
- Olio per immersione per l'obiettivo del microscopio a fluorescenza
- Centrifuga da banco
- Vetrini da microscopia
- Coprioggetto 24x24 mm
- Timer
- Incubatore a 37 °C
- Colla per vetrini
- Miscelatore a vortice
- Cilindri graduati
- Agitatore magnetico
- Termometro calibrato

#### Apparecchiature opzionali non fornite

- Camera di essiccazione per citogenetica

#### Reagenti necessari ma non forniti

- Soluzione 20x di citrato salino di sodio (SSC)
- Etanolo al 100%
- Tween-20
- Iodossido di sodio (NaOH) 1M
- Acido cloridrico (HCl) 1M
- Acqua purificata

#### Configurazione ottimale del microscopio a fluorescenza

Per una visualizzazione ottimale della sonda si raccomanda di utilizzare una lampada a mercurio da 100 watt e obiettivi Plan Achromat a immersione in olio 60/63x e 100x. I fluorofori utilizzati in questo set di sonde si ecciteranno ed emetteranno luce alle seguenti lunghezze d'onda:

Fluoroforo	Eccitazione <sub>max</sub> [nm]	Emissione <sub>max</sub> [nm]
Ciano	418	467
Verde	495	521
Rosso	596	615

Assicurare un'eccitazione appropriata e assicurarsi che i filtri di emissione che coprono le lunghezze d'onda elencate sopra siano adatti al microscopio.

Utilizzare un filtro singolo passabanda spettro ciano per una visualizzazione ottimale dello spettro ciano o un triplo filtro passabanda spettro rosso/spettro verde/spettro ciano per una visualizzazione simultanea dei fluorofori verdi, rossi e ciano.

Controllare il microscopio a fluorescenza prima dell'uso per garantire che funzioni correttamente. Utilizzare olio per immersione adatto alla microscopia a fluorescenza e formulato in modo da avere una bassa autofluorescenza. Evitare di miscelare DAPI Antifade con l'olio per immersione per microscopia onde evitare l'oscuramento dei segnali. Seguire le raccomandazioni del fabbricante in relazione alla vita della lampada e all'età dei filtri.

#### Preparazione del campione

Il kit è progettato per l'utilizzo su sospensioni cellulari di derivazione ematologica fissate in soluzione di Carnoy (metanolo/acido acetico 3:1), preparate secondo le linee guida del laboratorio o dell'istituto. Stendere i campioni essiccati all'aria su vetrini da microscopia secondo le procedure citogenetiche standard. L'AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* contiene raccomandazioni per il prelievo, la coltura, la raccolta di campioni e per l'allestimento di vetrini<sup>4</sup>.

#### Preparazione della soluzione

##### Soluzioni di etanolo

Diluire l'etanolo al 100% con acqua purificata utilizzando i seguenti rapporti e miscelare accuratamente:

- Etanolo al 70%: 7 parti di etanolo al 100% per 3 parti di acqua purificata
  - Etanolo all'85%: 8,5 parti di etanolo al 100% per 1,5 parti di acqua purificata
- Conservare le soluzioni per un massimo di 6 mesi a temperatura ambiente in un contenitore a chiusura ermetica.

##### Soluzione 2xSSC

Diluire 1 parte di soluzione 20xSSC con 9 parti di acqua purificata e miscelare accuratamente. Controllare il pH e correggere a pH 7,0 mediante NaOH oppure HCl come richiesto. Conservare la soluzione per un massimo di 4 settimane a temperatura ambiente in un contenitore a chiusura ermetica.

##### Soluzione 0,4xSSC

Diluire 1 parte di soluzione 20xSSC con 49 parti di acqua purificata e miscelare accuratamente. Controllare il pH e correggere a pH 7,0 mediante NaOH oppure HCl come richiesto. Conservare la soluzione per un massimo di 4 settimane a temperatura ambiente in un contenitore a chiusura ermetica.

##### Soluzione 2xSSC, Tween-20 0,05%

Diluire 1 parte di soluzione 20xSSC con 9 parti di acqua purificata. Aggiungere 5 µL di Tween-20 per 10 mL e miscelare accuratamente. Controllare il pH e correggere a pH 7,0 mediante NaOH oppure HCl come richiesto. Conservare la soluzione per un massimo di 4 settimane a temperatura ambiente in un contenitore a chiusura ermetica.

#### Protocollo FISH

(Nota: durante l'intera procedura limitare l'esposizione della sonda e del colorante di contrasto alle luci di laboratorio).

#### Preparazione del vetrino

- Caricare il campione cellulare su un vetrino da microscopia. Lasciare asciugare il vetrino. (**Facoltativo, se si utilizza una camera di essiccazione per citogenetica:** La camera deve essere utilizzata a una temperatura di circa 25 °C e un'umidità del 50% per un caricamento ottimale del campione cellulare. Se non è disponibile una camera di essiccazione per citogenetica, utilizzare una cappa aspirante come alternativa).
- Immergere il vetrino in 2xSSC per 2 minuti a temperatura ambiente (TA) senza agitare.
- Disidratare in una serie crescente di etanolo (70%, 85% e 100%), 2 minuti a TA per ciascuna gradazione.
- Lasciare asciugare il vetrino.

#### Pre-denaturazione

- Rimuovere la sonda dal congelatore e lasciarla riscaldare a TA. Centrifugare brevemente le provette prima dell'uso.
- Assicurarsi che la soluzione della sonda venga miscelata in modo uniforme mediante una pipetta.
- Prelevare 10 µL di sonda per ogni test e trasferirli in una provetta da microcentrifuga. Riporre velocemente la sonda rimanente nel congelatore.
- Porre la sonda e il vetrino del campione a preriscaldare su una piastra riscaldante a 37 °C (+/- 1 °C) per 5 minuti.
- Caricare 10 µL del mix di sonde sul campione cellulare e coprire delicatamente con un coprioggetto. Sigillare con colla per vetrini e far asciugare completamente.

#### Denaturazione

- Denaturare il campione e la sonda contemporaneamente riscaldando il vetrino su una piastra riscaldante a 75 °C (+/- 1 °C) per 2 minuti.

### Ibridazione

11. Posizionare il vetrino su un contenitore umido a prova di luce a 37 °C (+/- 1 °C) per una notte.

### Lavaggi post-ibridazione

12. Rimuovere il DAPI dal congelatore e lasciarlo riscaldare a TA.
13. Rimuovere attentamente il coprioggetto e tutte le tracce di colla.
14. Immergere il vetrino in 0,4xSSC (pH 7,0) a 72 °C (+/- 1 °C) per 2 minuti, senza agitare.
15. Far sgocciolare il vetrino e immergerlo in 2xSSC, Tween-20 0,05% (pH 7,0) a TA per 30 secondi senza agitare.
16. Far sgocciolare il vetrino e applicare 10 µL di DAPI Antifade su ciascun campione.
17. Coprire con un coprioggetto, rimuovere eventuali bolle e attendere che si sviluppi il colore lasciando il vetrino al buio per 10 minuti.
18. Analizzare con un microscopio a fluorescenza (vedere **Configurazione ottimale del microscopio a fluorescenza**).

### Raccomandazioni per l'uso

1. L'eccessivo riscaldamento o l'invecchiamento dei vetrini potrebbe ridurre la fluorescenza del segnale.
2. Le condizioni di ibridazione potrebbero essere influenzate negativamente dall'impiego di reagenti differenti rispetto a quelli forniti o raccomandati da Cytocell Ltd.
3. Utilizzare un termometro calibrato per la misura delle temperature delle soluzioni, dei bagni termostati e degli incubatori, in quanto queste temperature sono di importanza critica per le prestazioni ottimali del prodotto.
4. Le concentrazioni del lavaggio (stringenza), il pH e la temperatura sono di fondamentale importanza in quanto condizioni di stringenza blande possono favorire un legame non specifico della sonda e condizioni di stringenza troppo elevate possono condurre alla mancanza del segnale.
5. La denaturazione incompleta può tradursi in una mancanza del segnale, mentre una denaturazione eccessiva può anche tradursi in un legame non specifico.
6. Come esito di una sovra-ibridazione, possono verificarsi segnali aggiuntivi o imprevisti.
7. Prima di utilizzare il test per obiettivi diagnostici, è necessario ottimizzare il protocollo per i propri campioni.
8. Condizioni sub-ottimali possono avere come esito un legame non specifico che può essere interpretato erroneamente come segnale di sonda.

### Interpretazione dei risultati

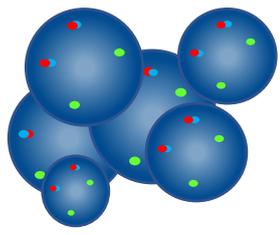
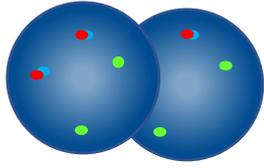
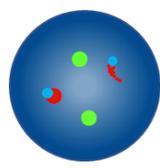
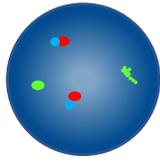
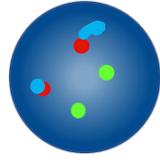
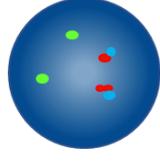
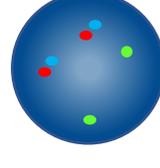
#### Valutazione della qualità dei vetrini

Il vetrino non deve essere analizzato se:

- I segnali sono troppo deboli da analizzare in filtri singoli; al fine di procedere con l'analisi, i segnali devono essere intensi, distinti e facilmente valutabili
- Sono presenti numerose cellule aggregate/sovrapposte che impediscono l'analisi
- L'ibridazione non è avvenuta in >50% delle cellule
- È presente un eccesso di particelle fluorescenti tra le cellule e/o una foschia fluorescente che interferisce con i segnali; in vetrini ottimali lo sfondo deve apparire scuro o nero e pulito
- I confini dei nuclei cellulari non possono essere distinti e non sono integri

#### Linee guida per l'analisi

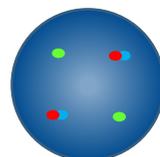
- Ogni campione deve essere analizzato e interpretato da due analisti. Eventuali discrepanze devono essere risolte mediante valutazione da parte di un terzo analista
- Ciascun analista deve essere adeguatamente qualificato secondo gli standard nazionali riconosciuti
- Ciascun analista deve valutare indipendentemente 100 nuclei per ciascun campione. Il primo analista deve iniziare l'analisi dal lato sinistro del vetrino e il secondo analista dal lato destro
- Ciascun analista deve documentare i propri risultati in fogli separati
- Analizzare solo nuclei integri, non sovrapposti o stipati, né coperti da detriti citoplasmatici o da un elevato grado di autofluorescenza
- Evitare le aree in cui è presente un eccesso di detriti citoplasmatici o di ibridazione non specifica
- L'intensità del segnale può variare, anche per un singolo nucleo. In tali casi, utilizzare filtri singoli e/o correggere il piano focale
- In condizioni sub-ottimali, i segnali possono apparire diffusi. Se due segnali dello stesso colore si toccano o se la distanza tra gli stessi non è maggiore di due larghezze del segnale, o quando vi è un filamento debole che connette i due segnali, contare come un segnale
- In caso di dubbio se la cellula sia analizzabile o meno, non analizzarla

Linee guida per l'analisi	
	Non contare: nuclei troppo vicini per determinarne i confini
	Non contare nuclei che si sovrappongono: non sono visibili tutte le aree dei due nuclei
	Contare come due segnali di fusione rossi/ciano e due segnali verdi: uno dei due segnali rossi è diffuso
	Contare come due segnali di fusione rossi/ciano e due segnali verdi: uno dei due segnali verdi è diffuso
	Contare come due segnali di fusione rossi/ciano e due segnali verdi: lo spazio in un segnale rosso è minore di due lunghezze di sonda
	Contare come due segnali di fusione rossi/ciano e due segnali verdi - lo spazio in un segnale rosso è minore di due lunghezze di sonda
	Contare come due segnali di fusione rossi/ciano e due segnali verdi: uno dei due segnali rosso e ciano è minore di due lunghezze di sonda

### Risultati attesi

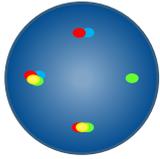
Profilo del segnale normale atteso

### Dual Fusion Probe a tre colori

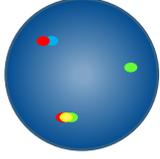


In una cellula normale, sono attesi due segnali di fusione rosso/ciano e due segnali verdi (2RC2V).

**Profili del segnale anormale atteso**



In una cellula con un riarrangiamento t(9;22)(q34.1;q11.2), sono attesi un segnale di fusione rosso/ciano, uno verde, uno di fusione rosso/verde e uno di fusione rosso/verde/ciano (1RC1V1RV1RVC).



In una cellula con un riarrangiamento t(9;22)(q34.1;q11.2) con una delezione di 9q prossimale e 22q distale, sono attesi un segnale di fusione rosso/ciano, un segnale verde e un segnale di fusione rosso/verde (1RC1V1RV).

Altri profili del segnale sono possibili in campioni aneuploidi/non bilanciati.

**Interferenze rilevanti / sostanze interferenti note**

Non sono note interferenze rilevanti / sostanze interferenti.

**Reattività crociata nota**

La sonda verde distale per BCR potrebbe mostrare fino a 2 segnali sul cromosoma 7 in corrispondenza di 7q11.2.

**Segnalazione di incidenti gravi**

Per un paziente/utilizzatore/terza parte nell'Unione europea e nei Paesi con un regime normativo identico (Regolamento (UE) 2017/746 sui dispositivi medico-diagnostici *in vitro*); se durante l'utilizzo del presente dispositivo o in seguito al suo utilizzo si verificasse un incidente grave, si prega di segnalarlo al fabbricante o alla propria Autorità nazionale competente.

Per gli incidenti gravi verificatisi in altri Paesi, si prega di segnalarli al fabbricante e, se possibile, alla propria Autorità nazionale competente.

Contatto di vigilanza del fabbricante: [vigilance@ogt.com](mailto:vigilance@ogt.com)

Per le Autorità nazionali competenti europee, è possibile trovare un elenco di punti di vigilanza all'indirizzo:

[https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts\\_en](https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en)

**Caratteristiche specifiche di prestazione**

**Specificità analitica**

La specificità analitica è definita come percentuale di segnali che si ibridano al locus corretto e nessun'altra localizzazione. Sono stati analizzati tre (3) loci cromosomici in ciascuna delle 100 cellule metafasiche provenienti da cinque (5) campioni, ottenendo 600 punti di dati. È stata mappata la localizzazione di ciascuna sonda ibridata ed è stato registrato il numero di segnali FISH di cromosomi in metafase che si sono ibridati al locus corretto.

La specificità analitica di ciascuna sonda nel kit è stata calcolata come il numero di segnali FISH di cromosomi in metafase che si sono ibridati al locus corretto diviso per il numero totale di segnali FISH ibridati di cromosomi in metafase, tale risultato è stato moltiplicato per 100, espresso come percentuale e dato con un intervallo di confidenza al 95%.

**Tabella 1. Specificità analitica per BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe**

Bersaglio	Numero di cromosomi in metafase ibridati	Numero di loci correttamente ibridati	Specificità analitica	Intervallo di confidenza al 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%

**Sensibilità analitica**

La sensibilità analitica è la percentuale di cellule in interfase valutabili che presentano il profilo del segnale normale atteso. È stato analizzato un minimo di 100 cellule in interfase per ciascuna delle 25 sospensioni cellulari fissate da midollo osseo ritenute negative per una traslocazione di BCR::ABL1 e per una delezione di ASS1, ottenendo come minimo la valutazione di 2.500 nuclei per ciascun tipo di campione. I dati relativi alla sensibilità sono stati analizzati in base alla percentuale di cellule che mostra un profilo del segnale normale ed espressi come percentuale con un intervallo di confidenza al 95%.

**Tabella 2. Sensibilità analitica per BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe**

Tipo di campione	Criteri di sensibilità	Risultati di sensibilità
Midollo osseo	>95%	100,0% (± N/D)

**Caratterizzazione dei valori normali di cut-off**

Il cut-off normale è definito come la percentuale di cellule che esibiscono un profilo del segnale falso positivo a cui un individuo sarebbe considerato normale e non coerente con una diagnosi clinica. È stato analizzato un minimo di 100 cellule in interfase per ciascuna delle 25 sospensioni cellulari fissate da campioni di midollo osseo ritenute negative per una traslocazione di BCR::ABL1, ottenendo come minimo la valutazione di 2.500 nuclei per ciascun tipo di campione.

Il valore di cut-off è stato determinato utilizzando la funzione β-inversa (BETAINV) in MS Excel. È stato calcolato come la percentuale di cellule in interfase che mostra un profilo del segnale falso positivo utilizzando il limite superiore di un intervallo unilaterale di confidenza al 95% della distribuzione binomiale in un campione normale di pazienti.

**Tabella 3. Caratterizzazione dei valori normali di cut-off per BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe**

Tipo di campione	Profilo del segnale	Risultati di cut-off
Midollo osseo	1RC1V1RV	2,95%
	1RC1V1RV1RVC	2,95%

I laboratori devono verificare i valori di cut-off utilizzando i propri dati<sup>5,6</sup>.

**Precisione**

La precisione di questo prodotto è stata misurata in termini di precisione intra-giorno (da campione a campione), precisione inter-giorno (da giorno a giorno) e precisione per sito singolo inter-lotto (da lotto a lotto).

Sono stati utilizzati tre campioni per valutare la precisione del prodotto: materiale fissato in metanolo/acido acetico 3:1 da campioni di midollo osseo anonimizzati, ottenuti dalla banca di campioni cellulari fissati di Cytocell. I campioni erano tre (3) e rientravano nell'intervallo previsto di normale e positivo basso.

Per stabilire la precisione inter-giorno e intra-giorno, i campioni sono stati valutati in dieci (10) giorni non consecutivi e per stabilire la precisione da lotto a lotto sono stati valutati tre (3) lotti del prodotto su tre (3) repliche degli stessi campioni. I risultati sono stati presentati come l'accordo globale con la classe negativa prevista (per i campioni negativi).

**Tabella 4. Riproducibilità e precisione per BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe**

Variabile	Tipo di campione	Accordo
Riproducibilità intra-giorno (da campione a campione) e inter-giorno (da giorno a giorno)	Midollo osseo negativo	96,7%
	Midollo osseo positivo basso 1RC1V1RV	96,7%
	Midollo osseo positivo basso 1RC1V1RV1RVC	83,3%
Riproducibilità da lotto a lotto	Midollo osseo negativo	100,0%
	Midollo osseo positivo basso 1RC1V1RV	100,0%
	Midollo osseo positivo basso 1RC1V1RV1RVC	77,8%

**Prestazione clinica**

Per assicurarsi che il prodotto rilevi i riarrangiamenti desiderati, è stata stabilita la prestazione clinica nel corso di due studi su campioni rappresentativi della popolazione prevista per il prodotto: sospensioni cellulari di derivazione ematologica fissate in soluzione di Carnoy (metanolo/acido acetico 3:1) da pazienti con diagnosi confermata o sospetta di leucemia mieloide cronica (LMC), leucemia mieloide acuta (LMA) o leucemia linfoblastica acuta (LLA), preparate secondo le linee guida del laboratorio o dell'istituto. Gli studi includevano un campione combinato delle dimensioni di 125 campioni, dei quali 99 negativi per una traslocazione di BCR::ABL1 e 26 positivi per una traslocazione di BCR::ABL1. I risultati sono stati confrontati allo stato noto del campione. La sonda ha identificato correttamente lo stato dei campioni in tutti i casi.

I risultati di tali test sono stati analizzati al fine di fornire la sensibilità clinica, la specificità clinica e il valore del tasso di falsi positivi (FPR) per segnali positivi, utilizzando un approccio unidimensionale.

**Tabella 5. Prestazione clinica per BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe**

Variabile	Risultato
Sensibilità clinica (tasso di veri positivi, TPR)	98,97%
Specificità clinica (tasso di veri negativi, TNR)	99,73%
Tasso di falsi positivi (FPR) = 1 – Specificità	0,27%

## Riepilogo sulla sicurezza e le prestazioni (SSP)

L'SSP deve essere reso disponibile al pubblico tramite il database europeo sui dispositivi medici (Eudamed), dove esso è collegato al Basic UDI-DI.

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

Basic UDI-DI: 50558449LPH038JQ

Qualora Eudamed non fosse del tutto operativo, l'SSP deve essere reso disponibile al pubblico su richiesta tramite email all'indirizzo [SSP@ogt.com](mailto:SSP@ogt.com).

## Informazioni aggiuntive

Per informazioni aggiuntive sul prodotto contattare il Dipartimento di Assistenza Tecnica CytoCell.

Tel.: +44 (0)1223 294048

E-mail: [techsupport@cytozell.com](mailto:techsupport@cytozell.com)

Sito web: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

## Bibliografia

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.

## Glossario dei simboli

EN ISO 15223-1:2021 - "Dispositivi medici - Simboli da usare con le informazioni fornite dal fabbricante - Parte 1: Requisiti generali" (© International Organization for Standardization)		
Simbolo	Titolo	Numero/i di riferimento
	it: Fabbricante	5.1.1
	it: Rappresentante autorizzato nella Comunità europea/Unione europea	5.1.2
	it: Data di scadenza	5.1.4
	it: Codice lotto	5.1.5
	it: Numero di catalogo	5.1.6
	it: Tenere lontano dalla luce del sole	5.3.2
	it: Limite di temperatura	5.3.7
	it: Consultare le istruzioni per l'uso	5.4.3
	it: Consultare le istruzioni per l'uso in formato elettronico	5.4.3
	it: Attenzione	5.4.4
	it: Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	5.5.1
	it: Contenuto sufficiente per <n> test	5.5.5
	it: Identificativo unico del dispositivo	5.7.10
Simboli EDMA per reagenti e componenti dell'IVD, revisione ottobre 2009		
Simbolo	Titolo	Numero/i di riferimento
	it: Contenuti (o contiene)	N/D

## Brevetti e marchi commerciali

CytoCell è un marchio registrato di Cytozell Limited.



### CytoCell Limited

Oxford Gene Technology  
418 Cambridge Science Park  
Milton Road  
CAMBRIDGE  
CB4 0PZ  
REGNO UNITO

Tel.: +44 (0)1223 294048

Fax: +44 (0)1223 294986

E-mail: [probes@cytozell.com](mailto:probes@cytozell.com)

Sito web: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)



### Sysmex Europe SE

Bombarch 1  
22848 Norderstedt  
GERMANIA

Tel.: +49 40 527260

Sito web: [www.sysmex-europe.com](http://www.sysmex-europe.com)

## Cronologia delle versioni delle Istruzioni per l'uso (IFU)

V001 2023-06-13: Nuove Istruzioni per l'uso (IFU) per il Regolamento (UE) 2017/746.