

Nr. Catalogo Prodotti.: FP-003

Per diagnosi clinica e ricerca scientifica



BCR/ABL gene fusion detection kit Manuale d'istruzione

[Nome prodotto] BCR/ABL gene fusion detection kit.

[CND] W01060208

[RDM] Non Applicabile

[Specifiche di confezionamento] 10 Tests

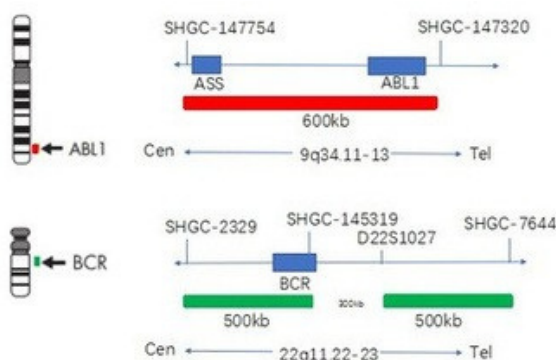
[Usi previsti]

Questo kit è utilizzato principalmente per il rilevamento della fusione genica BCR/ABL in vitro. I campioni di prova sono cellule del midollo osseo sospettate o diagnosticate in pazienti con leucemia (pazienti clinici o post-trattamento) tramite esame clinico di routine e utilizzate solo per la diagnosi ausiliaria della tipizzazione molecolare del paziente.

La leucemia è un tipo di malattia clonale maligna delle cellule staminali emopoietiche. Le cellule leucemiche clonali proliferano e si accumulano nel midollo osseo e in altri tessuti emopoietici e infiltrano altri tessuti e organi non emopoietici, a causa di una proliferazione incontrollata, differenziazione e apoptosi e inibizione della normale funzione emopoietica. Il gene BCR/ABL è una comune anomalia citogenetica nei pazienti con leucemia mieloide cronica (LMC). Il gene di fusione BCR/ABL può essere trovato nel 90% dei pazienti con LMC e la prognosi dei pazienti con gene BCR/ABL è scarsa. Questo kit è stato convalidato solo in base alle prestazioni di rilevamento della fusione genica BCR/ABL e non è stato combinato con il farmaco per la convalida clinica. Questo kit è adatto solo per il rilevamento dello stato di fusione genica BCR/ABL, i risultati del test sono solo per riferimento clinico e non devono essere utilizzati come unica base per la diagnosi. Il medico deve esprimere un giudizio completo sui risultati del test in combinazione con altri indicatori clinici.

[Principio di rilevamento]

L'ibridazione fluorescente in situ è una tecnica per la rilevazione diretta in vitro di specifici acidi nucleici nelle cellule. Secondo il principio di appaiamento di basi complementari, una sonda specifica è complementare a una sequenza bersaglio all'interno della cellula. La sonda e la sequenza bersaglio possono essere chiaramente osservate al microscopio a fluorescenza e sotto un'adeguata luce di eccitazione, grazie alla fluorescenza della sonda. Il kit utilizza una sonda ABL marcata con fluoresceina arancione e una sonda BCR marcata con fluoresceina verde. Con la tecnica di ibridazione in situ, le due sonde si legano al sito di rilevazione bersaglio. Normalmente (se il gene BCR/ABL non si è fuso), due segnali rosso arancio e due segnali verdi vengono mostrati al microscopio a fluorescenza. Quando c'è fusione, i segnali verde e arancione formano per ricombinazione un segnale di fusione giallo.



[Principali componenti del prodotto]

Il kit è composto dalla sonda arancione ABL e dalla sonda verde BCR, come mostrato nella Tabella 1. I reagenti non forniti nel kit sono mostrati nella Tabella 2

Tabella 1: Composizione kit

Nome Componente	Specifiche	Quantità	Principali componenti
BCR/ABL dual color probe	100µL/Tube	1	ABL orange probe, BCR green probe

Tabella 2: Lista dei reagenti non forniti

Nome reagente	Purezza	Nome reagente	Purezza
Cloruro di sodio	Purezza analitica AR	NP-40	Purezza analitica AR
Citrato di sodio	Purezza analitica AR	Xilene	Purezza analitica AR
Etanolo anidro	Purezza analitica AR	Proteasi K	≥40 unità/g

[Condizioni di conservazione & Validità]

Conservare sigillato al riparo dalla luce a -20 °C±5 °C. Il prodotto è valido per 12 mesi. Evitare inutili ripetuti congelamenti e scongelamenti che non devono superare le 10 volte. Dopo l'apertura, entro 24 ore per la conservazione a breve termine, conservare sigillato a 2~8 °C al buio. Per la conservazione a lungo termine dopo l'apertura, conservare il coperchio sigillato a -20 °C±5 °C al riparo dalla luce. Vedere l'etichetta del kit per la data di produzione e la data di scadenza.

[Strumenti applicabili]

1. Il sistema di imaging per microscopia a fluorescenza include microscopio a fluorescenza e set di filtri. Il kit è etichettato con fluoresceina arancione e deve essere selezionato il set di filtri compatibile con il colorante etichettato con fluorescenza.
 Fluorescenza arancione: la lunghezza d'onda di eccitazione massima è 552 nm e la lunghezza d'onda di emissione massima è 576 nm.
 Fluorescenza verde: la lunghezza d'onda di eccitazione massima è 496 nm e la lunghezza d'onda di emissione massima è 520 nm.
 Il sistema di imaging per microscopia a fluorescenza dovrebbe utilizzare un microscopio con canali arancioni e verdi. Per il microscopio a canale monocromatico, devono essere utilizzati i risultati dell'analisi della sintesi delle immagini.
2. Strumento di ibridazione automatica: è richiesta una rigorosa uniformità della temperatura e la differenza di temperatura dovrebbe essere ≤1°C.

[Requisiti Campione]

1. Tipi di campione applicabili: campione fresco non fissato conservato a 4°C per meno di 24 ore; sospensioni cellulari dopo la fissazione conservate a -20°C per meno di 6 mesi; vetrini cellulari preparati conservati a -20°C per meno di 1 mese.
2. Quando i campioni vengono conservati a una temperatura troppo alta o troppo bassa (ad esempio, congelati), non verranno utilizzati per i test e dovranno essere smaltiti.
3. Se la sospensione cellulare è eccessivamente volatile o contaminata durante la conservazione, il campione dovrà essere scartato.

[Metodo di prova]

1. Reagenti correlati

① 20×SSC, pH 5.3±0.2

Cloruro di sodio	176g
Citrato di sodio	88g

Pesare 176 g di cloruro di sodio e 88 g di citrato di sodio, sciogliere in 800 ml di acqua deionizzata, regolare il pH a 5,3±0,2 a temperatura ambiente e completare a 1 L con acqua deionizzata. Sterilizzazione a vapore ad alta pressione, conservata a 2~8 °C, la durata di conservazione della soluzione è di 6 mesi. Eliminare se il reagente appare torbido o contaminato.

② 2×SSC, pH 7,0±0,2

Prendere 100 ml del 20×SSC di cui sopra, diluire con 800 ml di acqua deionizzata, mescolare, regolare il pH a 7,0±0,2 a temperatura ambiente, completare a 1 L con acqua deionizzata, conservata a 2~8 °C, la durata di conservazione è di 6 mesi. Eliminare se il reagente appare torbido o contaminato.

③ Soluzione di etanolo: etanolo al 70%, etanolo all'85%

Diluire 700 ml, 850 ml di etanolo con acqua deionizzata fino a 1 L. La durata di conservazione è di 6 mesi. Eliminare se il reagente appare torbido o contaminato.

④ 0.3% NP-40/0.4xSSC solution, pH 7.0 ~ 7.5

NP-40	0.6mL
20xSSC	4mL

Prendi 0,6 mL di NP-40 e 4 mL di 20xSSC, aggiungi 150 mL di acqua deionizzata, mescola, regola il pH a 7,0 ~ 7,5 a temperatura ambiente, con acqua deionizzata completa fino a un volume di 200 mL. Conservato a 2~8 °C, la durata di conservazione è di 6 mesi. Eliminare se il reagente appare torbido o contaminato.

⑤ Soluzione di fissazione (metanolo: acido acetico glaciale = 3:1)

Prepara una soluzione di fissazione pronta all'uso mescolando accuratamente 30 mL di metanolo e 10 mL di acido acetico glaciale.

⑥ Soluzione di KCl 0,075 M

Pesare 2,8 g di cloruro di potassio, sciogliere in 400 mL di acqua deionizzata e completare fino a 500 mL con acqua deionizzata. Conservata a temperatura ambiente, la durata di conservazione della soluzione è di 6 mesi. Eliminare se il reagente appare torbido o contaminato.

⑦ Controcolorazione al diaminidil fenilindolo (DAPI) Utilizzare una controcolorazione anti-quenching DAPI disponibile in commercio.

2. Raccolta dei campioni e preparazione dei vetrini

① Raccolta dei campioni: prelevare il campione di cellule anticoagulanti.

② Raccolta delle cellule: il campione di cellule viene pipettato sulla punta della provetta da centrifuga e centrifugato a 1000 giri/min per 10 minuti per rimuovere il surnatante.

③ Bassa permeabilità: aggiungere 0,075 mol/L di soluzione KCL (6~8 mL) preriscaldata a 37 °C, mescolare con una pipetta e conservare in un'incubatrice a 37 °C per 20-30 minuti.

④ Pre-fissazione: aggiungere 2 mL di metanolo 3:1, soluzione fissativa di acido acetico glaciale e mescolare uniformemente. Centrifugare a 1000 giri/min per 10 minuti.

⑤ Fissazione: aspirare il surnatante; aggiungere 5 mL di soluzione fissativa di metanolo 3:1 - acido acetico glaciale appena preparata, mescolare uniformemente, fissare per 10 min, centrifugare a 1000 rpm per 10 min.

⑥ Ripetere il passaggio ⑤ finché i pellet cellulari non sono precipitati, lavati e puliti.

⑦ Preparazione della sospensione cellulare: pipettare il surnatante e aggiungere la quantità appropriata di soluzione fissativa per preparare la concentrazione appropriata di sospensione cellulare.

⑧ Preparazione dei vetrini: pipettare 3-5 µl di goccia di sospensione cellulare sui vetrini, mettere a 56 °C per 0,5-2 ore.

⑨ Il vetrino preparato può essere conservato in frigorifero a 4 °C o in frigorifero a -20 °C per circa 1-4 settimane.

3. Pretrattamento dei vetrini

① A temperatura ambiente, sciacquare i vetrini due volte con la soluzione SSC (pH 7,0) per 5 minuti ogni volta.

② Posizionare i vetrini in etanolo al 70%, etanolo all'85% e etanolo al 100% e asciugare per 2 minuti.

4. Denaturazione e ibridazione

Le seguenti operazioni devono essere eseguite in una camera oscura.

① Estrarre la sonda e lasciarla a temperatura ambiente per 5 minuti. Mescolare e centrifugare brevemente. Prendere una goccia da 10 µl nella cella e lasciarla cadere nella zona di ibridazione, coprire immediatamente l'area del vetrino di vetro di 22 mm x 22 mm; distribuire uniformemente senza bolle la sonda sotto l'area coperta dal vetrino di vetro e sigillare i bordi con gomma (la sigillatura dei bordi deve essere accurata per evitare che la pellicola secca influenzi i risultati del test durante l'ibridazione).

② Collocare i vetrini di vetro nello strumento di ibridazione, denaturare a 88 °C per 2 minuti (l'ibridatore deve essere preriscaldata a 88 °C) e ibridare a 45 °C per 2-16 ore.

5. Lavaggio

Le seguenti operazioni devono essere eseguite in una camera oscura.

① Estrarre i vetrini ibridati, rimuovere la gomma dal coprioggetto e posizionare immediatamente i vetrini in 2xSSC per 5 secondi, quindi rimuovere delicatamente il coprioggetto. Posizionare i vetrini in 2xSSC a temperatura ambiente per 1 min.

② Rimuovere e immergere i vetrini in una soluzione NP-40/0,4xSSC allo 0,3% preriscaldata a 68°C per 2 min. (Preparazione di NP-40/0,4xSSC allo 0,3%: per la preparazione di 1 L, prendere 3 mL di NP-40 e 20 mL di 20xSSC, sciogliere completamente, mescolare bene e utilizzare 1 M di NaOH per regolare il pH a 7,2).

③ Immergere i vetrini in acqua deionizzata a 37 °C per 1 min e asciugare naturalmente al buio.

6. Controcolorazione Le seguenti operazioni devono essere eseguite in camera oscura. Immergere 10µL di controcolorazione DAPI nell'area di ibridazione dei vetrini, coprire immediatamente e quindi utilizzare il filtro appropriato per osservare le sezioni al microscopio a fluorescenza.

7. Osservazione dei risultati FISH

① Metodo di osservazione dei risultati: posizionare il vetrino di vetro controcolorato sotto il microscopio a fluorescenza e prima posizionarlo sotto la lente obiettivo a bassa potenza (10x) per confermare l'area cellulare sotto il microscopio; passare a 40x sotto la lente obiettivo, trovare una posizione in cui le cellule siano distribuite uniformemente; quindi nell'obiettivo ad alta potenza (100x), sono stati osservati i risultati FISH dei nuclei. Durante l'esame microscopico, il tempo di irradiazione continua di un singolo campo visivo sotto il canale verde e il canale rosso deve essere controllato entro 40 minuti.

② Standard campione interpretabile: il segnale di ibridazione della sonda è luminoso e chiaro, i segnali arancione e verde sono facili da distinguere, la fluorescenza spontanea non influisce sul conteggio del segnale e il numero di cellule conteggiabili non è inferiore a 200.

③ Standard di cellule conteggiabili: la distribuzione delle cellule è ragionevole, non vi è sovrapposizione, la controcolorazione DAPI è chiara, ovvero il confine nucleare è chiaro e il numero di segnali arancioni, verdi o gialli formati dalla fusione nelle cellule è ≥ 1 .

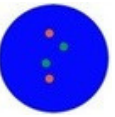
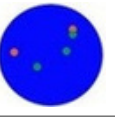
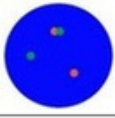
④ Metodo di conteggio: contare casualmente 200 cellule in ciascun campione, contare il numero di segnali di fusione arancioni, verdi e gialli in ciascun nucleo e calcolare il rapporto delle cellule che mostrano una modalità di segnale cellulare anomala (numero di cellule anomale / numero di cellule contate) $\times 100\%$.

Posizionare le sezioni colorate sotto un microscopio a fluorescenza e l'area delle cellule viene prima confermata sotto un obiettivo a basso ingrandimento (10x); sotto un obiettivo di ingrandimento (40x) si osserva una distribuzione uniforme delle cellule; quindi l'uniformità delle dimensioni del nucleo, l'integrità del confine nucleare, l'uniformità della colorazione DAPI, nessuna sovrapposizione dei nuclei, il segnale chiaro delle cellule vengono osservati nell'obiettivo ad alto ingrandimento (60x, 100x). Seleziona a caso almeno 200 cellule e conta i segnali arancioni e verdi nei nuclei.

[Valore di giudizio positivo]

1. Classificazione comune del segnale

Tabella 3: Guida al conteggio dei segnali a due colori

Segnale tipo	Modello di diagramma ● ABL ● BCR	Determinazione dei risultati delle cellule
Due segnali arancioni rossi, due segnali verdi (2R2G)		Negativo
Un segnale arancione, un segnale verde, due segnali di fusione (1R1G2F)		Positivo
Un segnale arancione, due segnali verdi, un segnale di fusione (1R2G1F)		Positivo
Un segnale arancione, un segnale verde, un segnale di fusione (1R1G1F)		Positivo

2. Impostazione della soglia

La soglia deve essere impostata in modo indipendente da ciascun laboratorio: sono stati selezionati in modo casuale venti campioni di cellule del sangue periferico umano e elaborati in base ai requisiti di elaborazione del campione per preparare una diapositiva di riferimento della soglia deviante. Sono state contate in modo casuale 200 cellule in ogni diapositiva di riferimento. Sono stati calcolati il numero e la percentuale di cellule che mostravano vari tipi di cellule positive, sono state calcolate la media e la deviazione standard delle percentuali statistiche.

- ① Calcolo della percentuale totale di cellule con il tipo di segnale 1R1G1F, la media e la deviazione standard della percentuale statistica e la soglia deviante è impostata come media + 3 volte la deviazione standard, registrata come soglia A.
- ② Calcolo della percentuale totale di cellule con altri tipi di segnale di fusione eccetto 1R1G1F, la media e la deviazione standard della percentuale statistica e imposta la soglia deviante come media + 3 volte la deviazione standard, che è registrata come soglia B. La soglia A è del 13,5% e la soglia B è del 4%, può essere utilizzata come riferimento. A causa delle differenze nei metodi di elaborazione dei campioni e della natura soggettiva dei conteggi dei segnali, le soglie di laboratorio saranno diverse. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire le soglie rigorosamente in conformità con il processo standard impostato dalla soglia.

[Interpretazione dei risultati di test]

1. Determinazione dei risultati FISH

Dopo aver contato 200 cellule, sono stati calcolati rispettivamente il numero e la percentuale di vari tipi di cellule positive,

- ① Se il rapporto di cellule positive del tipo di segnale 1r1g1f > soglia a, viene giudicato positivo;
- ② Ad eccezione del tipo di segnale 1r1g1f, il rapporto di cellule positive di altri tipi di segnale di fusione > soglia b, che viene giudicato positivo.
- ③ Se il rapporto di cellule positive del tipo di segnale 1r1g1f è inferiore alla soglia a, viene giudicato negativo.
- ④ Ad eccezione del tipo di segnale 1r1g1f, il rapporto di cellule positive di altri tipi di segnale di fusione < soglia b, che viene interpretato come negativo.
- ⑤ Se il rapporto di cellule positive = soglia (a o b), aumentare il numero di conteggi o analizzare l'intero film. Se è ancora inferiore o uguale alla soglia anomala, verrà interpretato come negativo, altrimenti verrà interpretato come positivo.
- ⑥ Se il rapporto delle cellule positive è compreso entro ± 3 volte la deviazione standard del valore medio, il campione deve essere trattato con cautela.

2. Giudizio di esperimento non valido

- ① Se il numero di cellule disponibili per l'analisi della sonda è inferiore a 200, questo test deve essere giudicato non valido.
- ② Se l'intensità del segnale di ibridazione della fluorescenza o lo sfondo disponibile per l'analisi non sono ideali o chiari, il che influisce sul giudizio dei risultati, questa rilevazione deve essere giudicata inaffidabile e trattata come esperimento non valido.

3. Problemi comuni e metodi di trattamento nell'esperimento

I fattori che influenzano i risultati del test e i metodi di trattamento nell'esperimento sono mostrati nella Tabella 4:

Tabella 4: FAQ and soluzioni

Domande	Cause possibili	Soluzioni raccomandate
Tropo forte sfondo	I vetrini non sono stati puliti correttamente prima della preparazione del campione.	Seguire le procedure consigliate per il lavaggio dei vetrini.
	Lavaggio inadeguato dopo l'ibridazione.	Assicurarsi che la soluzione di lavaggio sia preparata secondo le istruzioni, assicurarsi che il valore di pH e la temperatura della soluzione di lavaggio siano corretti, rimuovere il coprioggetto e ripetere i passaggi di lavaggio.
	Uso improprio dei set di filtri.	Sostituire i set di filtri appropriati per l'osservazione e per indebolire la luce di fondo.
	Condizioni di ibridazione improprie.	Assicurarsi che la temperatura dello strumento di ibridazione sia di 45 °C.
	Bassa temperatura di lavaggio.	Assicurarsi che la temperatura della soluzione sia alla temperatura richiesta per il lavaggio dei vetrini.
Colorante troppo debole	Colorante troppo debole.	68 °C 0,3%NP-40/0,4 × In soluzione SSC, agitare per 10 ~ 20 secondi, rimuovere il coprioggetto e immergere per 2 minuti. Collocare il vetrino in acqua deionizzata a 37 °C e immergerlo per 1 minuto. Asciugare il vetrino naturalmente al buio e quindi tingerlo di nuovo.

Domanda	Causa possibile	Soluzione raccomandata
	Agente colorante obsoleto o illuminazione eccessiva	Assicurarsi che l'agente colorante sia conservato a -20°C e al riparo dalla luce. Assicurarsi che l'agente colorante sia valido.
Nessun segnale o segnale debole	Denaturazione incompleta del campione.	Assicurarsi che la temperatura dello strumento di ibridazione sia di 88°C e che lo strumento di ibridazione venga preriscaldato almeno 10 minuti prima.
	Preparazione impropria dei campioni di pre-denaturazione	Si prega di fare riferimento alle domande e risposte relative alla preparazione del campione sopra riportate.
	Sonde e tampone di ibridazione miscela non adeguata prima dell'uso.	Miscelare bene la sonda e il tampone di ibridazione, centrifugare brevemente.
	La miscela della sonda sul vetrino si asciuga troppo rapidamente	Lavare il coprioggetto nella soluzione di lavaggio. Quando si copre il coprioggetto,
	Formazione di bolle sotto i coprioggetto durante l'ibridazione.	coprire la superficie della miscela della sonda e spremere delicatamente per consentire alle bolle di fuoriuscire.
	Condizioni di ibridazione non appropriate.	Assicurarsi di rispettare il tempo e la temperatura specificati per l'ibridazione; non lasciare spazi vuoti nelle guarnizioni in gomma; regolare il tempo di ibridazione come appropriato.
	Soluzione di lavaggio o condizioni di lavaggio non idonee.	Assicurarsi che la soluzione di lavaggio sia preparata secondo le specifiche del prodotto; Verificare che la temperatura della soluzione di lavaggio raggiunga la temperatura specificata nella fase di lavaggio; Assicurarsi che il termometro e il pHmetro siano correttamente calibrati.
	Conservazione inadeguata delle sonde o dei vetrini dei campioni.	Assicurarsi che la sonda sia conservata al buio a -20 °C. Mettere i vetrini non ibridati asciutti a -20 °C per una lunga conservazione o a temperatura ambiente per una breve conservazione. Mettere i vetrini ibridati a -20 °C e conservare al buio. Il periodo di conservazione non deve superare i 6 mesi.
	Agente colorante non corretto o utilizzo di agente colorante troppo luminoso.	68°C 0,3%NP-40/0,4 × In soluzione SSc, agitare per 10 ~ 20 secondi, rimuovere il coprioggetto e immergere per 2 minuti. Collocare il vetrino in acqua deionizzata a 37°C e immergerlo per 1 minuto. Asciugare il vetrino naturalmente al buio e quindi tingerlo di nuovo.
	I set di filtri selezionati non sono adatti per l'osservazione.	Utilizzare i set di filtri corretti per osservare la fluorescenza della sonda. Per i dettagli, contattare il reparto di assistenza tecnica di Wuhan HealthCare Biotechnology Co., Ltd.

[Limitazioni del metodo di prova]

Questo kit è utilizzato per la rilevazione del gene di fusione BCR/ABL e non è in grado di distinguere i punti di frattura maggiore (M-BCR) e minore (M-BCR). Questo kit è applicabile solo alla rilevazione dello stato del gene di fusione BCR/ABL. I risultati del test sono solo per riferimento clinico e non possono essere utilizzati come base per la diagnosi o il trattamento da soli.

[Indice delle prestazioni del prodotto]

- Aspetto:** la confezione esterna del kit è completa senza danni e i segni sono completi e chiari; il reagente liquido deve essere chiaramente contrassegnato senza perdite.
- Intensità del segnale di fluorescenza:** dopo che la sonda è stata effettivamente ibridata con il riferimento del cariotipo, invierà segnali di fluorescenza che possono essere riconosciuti a occhio nudo al microscopio a fluorescenza.
- Sensibilità:** dopo che la sonda è stata effettivamente ibridata con il riferimento del cariotipo, sono stati analizzati 100 cromosomi 22 di 50 cellule in metafase e almeno 98 cromosomi 22 hanno mostrato 1 segnale di fluorescenza verde; sono stati analizzati 100 cromosomi 9 di 50 cellule in metafase e almeno 98 cromosomi 9 hanno mostrato un segnale di fluorescenza arancione.
- Specificità:** dopo che la sonda si è effettivamente ibridata con il riferimento del cariotipo, sono stati analizzati 100 cromosomi 22 di 50 cellule in metafase e almeno 98 cromosomi 22 hanno mostrato un segnale di fluorescenza verde specifico nell'area bersaglio del braccio lungo; sono stati analizzati 100 cromosomi 9 di 50 cellule in metafase e almeno 98 cromosomi 9 hanno mostrato un segnale di fluorescenza arancione specifico nella regione bersaglio del braccio lungo.

5. Tasso di coincidenza di negativo e positivo: sono stati rilevati cinque materiali di riferimento negativi (cellule del midollo osseo di pazienti con leucemia con diagnosi clinica negativa del gene di fusione BCR/ABL) e sono stati analizzati i segnali di fluorescenza. I risultati hanno soddisfatto i criteri di giudizio negativo e sono stati tutti giudicati negativi. Sono stati rilevati cinque materiali di riferimento positivi (cellule del midollo osseo di pazienti con leucemia con diagnosi clinica positiva del gene di fusione BCR/ABL) e sono stati analizzati i segnali di fluorescenza. I risultati hanno soddisfatto i criteri di giudizio positivo e sono stati tutti giudicati positivi.

6. Precisione: la precisione di questo kit all'interno del lotto, tra lotti, all'interno dell'operazione, tra un'operazione e l'altra, durante il giorno e tra operatori/lettori di pellicole è inferiore al 5%.

7. Sostanza interferente: l'eparina sodica come anticoagulante non interferirà con i risultati del test.

8. Studio clinico: tra i 200 campioni testati con questo kit e il reagente di confronto contemporaneamente, il tasso di coincidenza positiva, il tasso di coincidenza negativa e il tasso di coincidenza complessivo di questo kit erano del 100% e il valore kappa era 1,00 ($P < 0,001$); in 1086 campioni rilevati simultaneamente da questo kit e dall'analisi del cariotipo, il tasso di coincidenza positiva di questo kit era del 96,39%, il tasso di coincidenza negativa era del 99,13%, il tasso di coincidenza complessivo era del 98,71% e il valore kappa era 0,95 ($P < 0,001$).

[Precauzioni]

1. Leggere attentamente questo manuale prima di effettuare il test. L'operatore deve sottoporsi a una formazione tecnica professionale. Il personale addetto al conteggio dei segnali deve essere in grado di osservare i segnali arancioni e verdi.
2. Quando si testano campioni clinici, il test non fornirà alcun risultato quando il segnale di ibridazione è difficile da contare e il campione non è sufficiente per ripetuti test. Se la quantità di cellule non è sufficiente per l'analisi, il test non fornirà risultati.
3. Il colorante DAPI utilizzato in questo esperimento è potenzialmente tossico o cancerogeno e deve essere maneggiato sotto una cappa aspirante. Indossare maschere e guanti per evitare il contatto diretto.
4. I risultati di questo kit saranno influenzati da vari fattori del campione stesso, nonché da restrizioni quali tempo di digestione enzimatica, temperatura e tempo di ibridazione, ambiente operativo e limitazioni delle attuali tecniche di biologia molecolare, che possono causare risultati di interpretazione errati. L'utente deve comprendere i potenziali errori e le limitazioni di accuratezza che possono esistere durante il processo di test.
5. Tutte le sostanze chimiche sono potenzialmente pericolose. Evitare il contatto diretto. I kit usati sono rifiuti clinici e devono essere smaltiti correttamente.

[Riferimenti]

- [1]. Butturini A, Arlinghaus RB, Gale RP. BCR/ABL and leukemia. Leuk Res, 1996 Jun;20(6):523-9.
- [2]. Jabbour E, Mathisen MS, O'Brien S. 10 years of progress in chronic myelogenous leukemia. J Natl Compr Canc Netw, 2012 Sep;10(9):1049-53.
- [3]. Kindler T, Meyer RG, Fischer T. BCR-ABL as a target for novel therapeutic interventions, 2002 Feb;6(1):85-101.
- [4]. Sawyers CL. The bcr-abl gene in chronic myelogenous leukaemia. Cancer Surv, 1992;15:37-51.
- [5]. Mohamed AN, Koppitch F, Varterasian M, Karanes C, Yao KL, Sarkar FH. BCR/ABL fusion located on chromosome 9 in chronic myeloid leukemia with a masked Ph chromosome. Genes Chromosomes Cancer, 1995 Jun;13(2):133-7.
- [6]. Chinese Medical Association Hematology Branch. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic myelogenous leukemia in China (2013 edition) [J]. Chinese Journal of Bloodology, 2013, 5(34).
- [7]. Zhang Xiaowei, He Chengyan. Progress in molecular biological experimental diagnosis of chronic myelogenous leukemia [J]. Chinese Journal of Laboratory Diagnosis, 2014, 12(8), 6.
- [8]. Chen Yajun, Tao Jianzheng. Progress in the detection of BCR/ABL gene fusion by fluorescence in situ hybridization [J]. Journal of Experimental and Laboratory Medicine, 2010, 6(28), 3.

[Informazioni di base]

Nome del registrante/Produttore: Wuhan HealthCare Biotechnology Co., Ltd.

Indirizzo: Piano 1-4, Edificio n. 8, Optics Valley Precision Medicine Industry Base Fase I, n. 9 Gaokeyuan 3rd Road, East Lake High-Tech Zone,
Wuhan City, Provincia di Hubei, Repubblica Popolare Cinese.

Tel#: +86(027)8757-0662 E-mail: cs@healthcare-biotech.com | Sito web: www.healthcare-biotech.com

[Data di approvazione del manuale & Data di revisione]

V1. 0: Data di approvazione: 1 novembre 2019.

V1. 1: Data di revisione: 24 dicembre 2021.



Via dei Colli S.Paolo 3/D – 00072 ARICCIA (RM)- Italy

Tel.: (+39)0693955058 – Fax.: (+39)0693955059

E-mail: servizioclienti@resnovaweb.it – PEC mail: resnova@pec.it

Per invio ordini: ordini@resnovaweb.it – Web site: www.resnovaweb.com