



A Sysmex Group Company



Instruções de Utilização (IFU)

REF: CE-LPH 022-S/CE-LPH 022

CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe



APENAS PARA UTILIZAÇÃO PROFISSIONAL



Mais informações e outros idiomas disponíveis em ogt.com/IFU

Utilização Prevista

A CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe da CytoCell® é um teste qualitativo não automatizado de hibridação *in situ* por fluorescência (FISH) utilizado para detectar rearranjos cromossômicos entre a região 16p13.1 no cromossoma 16 e a região 16q22 no cromossoma 16 em suspensões de células derivadas do sangue fixadas em solução de Carnoy (3:1 de metanol/ácido acético) provenientes de doentes com confirmação ou suspeita de leucemia mieloide aguda (LMA).

Indicações de Utilização

Este dispositivo destina-se a ser utilizado como adjuvante de outros testes clínicos ou histopatológicos em vias reconhecidas de diagnóstico e cuidados clínicos, em que o conhecimento do estado da translocação *CBFB::MYH11* seria importante para a gestão clínica.

Limitações

Este dispositivo destina-se a detectar rearranjos com pontos de quebra na região abrangida pelos clones vermelho e verde neste conjunto de sondas, o que inclui as regiões *CBFB* e *MYH11*. Os pontos quebra fora desta região, ou os rearranjos variantes inteiramente contidos nesta região, poderão não ser detetados com este dispositivo.

Este dispositivo não se destina a ser utilizado: como diagnóstico autónomo, como diagnóstico complementar, como teste pré-natal, como rastreio populacional, como teste descentralizado ou autodiagnóstico.

Este dispositivo não foi validado para tipos de amostra, tipos de doença ou fins que não os mencionados na utilização prevista.

Destina-se a ser utilizado como adjuvante de outros testes de diagnóstico laboratoriais e não deve ser iniciada qualquer medida terapêutica apenas com base nos resultados da FISH.

A comunicação e interpretação dos resultados da FISH devem ser efetuadas por técnicos devidamente qualificados, consistentes com as normas da prática profissional e devem tomar em consideração outros resultados de testes e informações clínicas e de diagnóstico relevantes.

Este dispositivo destina-se apenas para utilização profissional em laboratório.

O não cumprimento do protocolo pode afetar o desempenho do produto e dar origem a falsos resultados positivos/negativos.

Princípios do Teste

A hibridação *in situ* por fluorescência (FISH) é uma técnica que permite detetar sequências de ADN em cromossomas metafásicos ou em núcleos interfásicos de amostras citogenéticas fixadas. A técnica recorre a sondas de ADN que se hibridam com cromossomas inteiros ou sequências únicas individuais e serve de forte adjuvante à análise citogenética por bandeamento G. Esta técnica pode agora ser aplicada como ferramenta de investigação essencial na análise cromossômica pré-natal, hematológica e de tumores sólidos. O ADN alvo, após fixação e desnaturação, fica disponível para hibridação com uma sonda de ADN marcada por fluorescência e desnaturada de forma semelhante, que tem uma

sequência complementar. Após a hibridação, a sonda de ADN não ligada e não especificamente ligada é removida e o ADN é contracorado para efeitos de visualização. A microscopia de fluorescência permite então a visualização da sonda hibridada no material alvo.

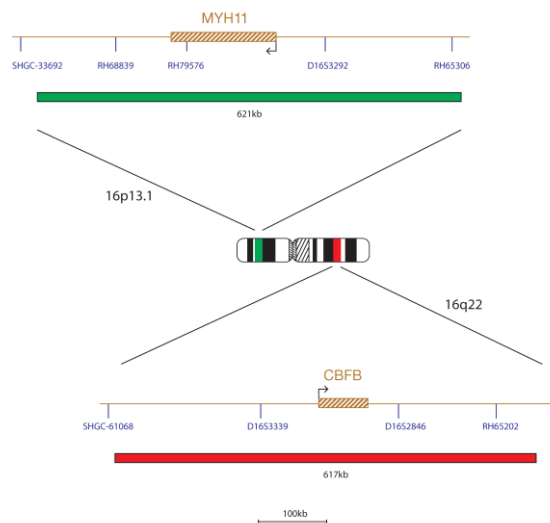
Informações sobre a Sonda

O gene *CBFB* (subunidade beta do fator de ligação ao núcleo) está localizado no 16q22, enquanto o gene *MYH11* (cadeia pesada da miosina 11) está localizado no 16p13.1. A inversão *inv(16)(p13.1q22)* e a translocação *t(16;16)(p13.1;q22)* dão origem ao gene de fusão *CBFB::MYH11*. Leucemia mieloide aguda com fusão de *CBFB::MYH11* é uma entidade patológica reconhecida de acordo com a classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS)¹. Este tipo de LMA compreende 5–8% dos casos em doentes jovens adultos e diminui em incidência em adultos mais velhos¹. A *inv(16)(p13.1q22)* é a alteração citogénica mais comum detetada em ~95% de doentes com *CBFB::MYH11*¹. O prognóstico de LMA com *CBFB::MYH11* é favorável, com taxa de sobrevivência longa em ~50% dos adultos^{1,2}.

Especificação da Sonda

CBFB, 16q22, Vermelho
MYH11, 16p13.1, Verde

CMP-H077 v005.00



A sonda de CBFB, marcada a vermelho, abrange uma região de 617 kb no 16q22 e inclui o gene *CBFB*. A sonda de MYH11, marcada a verde, abrange uma região de 621 kb no 16p13.1 e inclui o gene *MYH11*.

Materiais Fornecidos

Sonda: 50 µl por frasco (5 testes) ou 100 µl por frasco (10 testes)

As sondas são fornecidas pré-misturadas em solução de hibridação (<65% de formamida; <20 mg de sulfato de dextrano; <10% de citrato de sódio salino [SSC] 20x) e estão prontas a utilizar.

Contracorante: 150 µl por frasco (15 testes)

O contracorante é o DAPI Antifade ES (0,125 µg/ml de DAPI [4,6-diamidino-2-fenilindol] em meio de montagem baseado em glicerol).

Advertências e Precauções

1. Para utilização em diagnóstico *in vitro*. Apenas para utilização profissional em laboratório.
2. As misturas de sondas contêm formamida, que é um teratogénico; não inalar vapores nem permitir o contacto com a pele. Manuseie com cuidado; use luvas e uma bata de laboratório.
3. Manuseie o DAPI com cuidado. Utilize luvas e uma bata de laboratório.
4. Não utilize se o(s) frasco(s) estiver(em) danificado(s), ou se o conteúdo do frasco for comprometido de qualquer forma.
5. Siga a regulamentação local de eliminação relativa à sua localização juntamente com recomendações nas Ficha de dados de segurança para determinar como eliminar este produto de forma segura. Tal também se aplica a conteúdos danificados do kit de testes.
6. Elimine todos os reagentes utilizados e quaisquer outros materiais contaminados que podem ser eliminados de acordo com os procedimentos para resíduos infecciosos ou potencialmente infecciosos. É responsabilidade de cada laboratório lidar com os resíduos sólidos e líquidos de acordo com a respetiva natureza e grau de perigo, bem como tratar e eliminar os mesmos (ou encarregar um terceiro de o fazer) de acordo com quaisquer regulamentações aplicáveis.
7. Os operadores têm de ser capazes de distinguir as cores vermelha, azul e verde.
8. O não cumprimento do protocolo e dos reagentes especificados pode afetar o desempenho do produto e dar origem a falsos resultados positivos/negativos.
9. A sonda não deve ser diluída nem misturada com outras sondas.
10. A não utilização de 10 µl de sonda durante a fase de pré-desnaturação do protocolo pode afetar o desempenho do produto e dar origem a falsos resultados positivos/negativos.

DS55/CE-pt v001/2023-11-15 (H077 v5)


Página 1 de 6

11. Todos os produtos devem ser validados antes da utilização.
12. Devem ser efetuados controlos internos utilizando populações de células não afetadas em amostras de testes.

Definições de Temperatura

- -20 °C/Congelado/No congelador: -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): +15 °C a +25 °C

Conservação e Manuseamento

 O kit deve ser conservado num congelador a uma temperatura de -25 °C a -15 °C até ao prazo de validade indicado no rótulo do kit. Os frascos de sonda e de contracorante têm de ser conservados num local escuro.



A sonda FISH, o contracorante DAPI Antifade ES e a Solução de Hibridização mantêm-se estáveis ao longo dos ciclos de congelamento e descongelamento que ocorrem durante a utilização normal (em que um ciclo constitui a remoção do frasco do congelador e a sua reposição no mesmo) – 5 ciclos para o frasco de 50 µl (5 testes) de sonda FISH, 10 ciclos para o frasco de 100 µl (10 testes) de sonda FISH e 15 ciclos para o frasco de 150 µl (15 testes) de contracorante. A exposição à luz deve ser minimizada e evitada sempre que possível. Armazene os componentes no recipiente à prova de luz que foi fornecido. Os componentes utilizados e armazenados sob condições para além das mencionadas no rótulo podem não funcionar como esperado e podem afetar os resultados do ensaio de forma adversa. Devem ser evitados todos os esforços para limitar a exposição a variações de luz e de temperatura.

Equipamento e Materiais Necessários, mas não Fornecidos

É necessário utilizar equipamento calibrado:

1. Placa quente (com uma placa sólida e controlo exato da temperatura até 80 °C)
2. Micropipetas e pontas de volume variável calibradas, entre 1 µl–200 µl
3. Aparelho de banho-maria com controlo exato da temperatura de 37 °C a 72 °C
4. Tubos de microcentrifugação (0,5 ml)
5. Microscópio de fluorescência (ver secção "Recomendação de Microscópio de Fluorescência")
6. Microscópio de contraste de fase
7. Jarras de Coplin limpas em plástico, cerâmica ou vidro termorresistente
8. Pinça
9. Medidor de pH calibrado (ou tiras indicadoras de pH capazes de medir um pH de 6,5–8,0)
10. Recipiente humidificado
11. Óleo de imersão de lentes para microscópio de fluorescência
12. Centrífuga de bancada
13. Lâminas de microscópio
14. Lamelas de 24 x 24 mm
15. Temporizador
16. Incubadora a 37 °C
17. Cola de solução de borracha
18. Agitador vórtex
19. Cilindros graduados
20. Agitador magnético
21. Termómetro calibrado

Equipamento Opcional não Fornecido

1. Câmara de secagem citogenética

Reagentes Necessários, mas não Fornecidos

1. 20x Solução salina tamponada de citrato de sódio (SSC)
2. Etanol a 100%
3. Tween-20
4. Hidróxido de sódio 1M (NaOH)
5. Ácido clorídrico 1M (HCl)
6. Água purificada

Recomendação de Microscópio de Fluorescência

Utilize uma lâmpada de mercúrio de 100 watts ou equivalente e lentes planas apocromáticas para imersão em óleo 60/63x ou 100x para obter a melhor visualização possível. As substâncias fluorescentes utilizadas neste conjunto de sondas são excitadas e emitem luz nos seguintes comprimentos de onda:

Substância Fluorescente	Excitação _{máx} [nm]	Emissão _{máx} [nm]
DAPI	364	454
Aqua	418	467
Verde	495	521
Vermelho	596	615
Dourado	539	561
Laranja	551	572

Certifique-se de que os filtros de excitação e emissão apropriados, que abrangem os comprimentos de onda listados acima, estão instalados no microscópio.

Utilize um triplo filtro passa-banda de DAPI/espectro verde/espectro vermelho ou um duplo filtro passa-banda do espectro verde/espectro vermelho para obter a melhor visualização simultânea possível das substâncias fluorescentes verde e vermelha.

Verifique o microscópio de fluorescência antes de o utilizar para garantir que está a funcionar corretamente. Utilize um óleo de imersão que seja adequado à microscopia de fluorescência e formulado para baixa autofluorescência. Evite misturar o DAPI Antifade com o óleo de imersão para microscópio, dado que essa mistura vai obscurecer os sinais. Siga as recomendações dos fabricantes relativamente à vida útil da lâmpada e à duração dos filtros.

Preparação de Amostras

O kit destina-se a ser utilizado em suspensões de células derivadas do sangue fixadas em solução de Carnoy (3:1 de metanol/ácido acético) provenientes de doentes com confirmação ou suspeita de leucemia mieloide aguda (LMA), que são preparadas de acordo com as diretrizes do laboratório ou da instituição em causa. Prepare amostras secas ao ar em lâminas de microscópio de acordo com os procedimentos citogenéticos padrão. O *Manual laboratorial de citogenética* da AGT (AGT Cytogenetics Laboratory Manual) contém recomendações para a colheita de espécimes, realização de culturas, colheitas e preparação de lâminas.³

Preparação da Solução

Soluções de Etanol

Dilua etanol a 100% com água purificada utilizando os seguintes rácios e, em seguida, misture bem:

- Etanol a 70% – 7 partes de etanol a 100% para 3 partes de água purificada
 - Etanol a 85% – 8,5 partes de etanol a 100% para 1,5 partes de água purificada
- Conserve as soluções durante um máximo de 6 meses à temperatura ambiente num recipiente hermético.

Solução de SSC 2x

Dilua 1 parte de solução de SSC 20x em 9 partes de água purificada e misture bem. Verifique o pH e ajuste-o para 7,0 utilizando NaOH ou HCl conforme necessário. Conserve a solução durante um máximo de 4 semanas à temperatura ambiente num recipiente hermético.

Solução de SSC 0,4x

Dilua 1 parte de solução de SSC 20x em 49 partes de água purificada e misture bem. Verifique o pH e ajuste-o para 7,0 utilizando NaOH ou HCl conforme necessário. Conserve a solução durante um máximo de 4 semanas à temperatura ambiente num recipiente hermético.

Solução de SSC 2x e 0,05% de Tween-20

Dilua 1 parte de solução de SSC 20x em 9 partes de água purificada. Adicione 5 µl de Tween-20 por cada 10 ml e misture bem. Verifique o pH e ajuste-o para 7,0 utilizando NaOH ou HCl conforme necessário. Conserve a solução durante um máximo de 4 semanas à temperatura ambiente num recipiente hermético.

Protocolo FISH

(Nota: Certifique-se de que a exposição da sonda e do contracorante às luzes do laboratório é sempre limitada).

Preparação das Lâminas

1. Coloque uma gota de amostra celular numa lâmina de vidro para microscópio. Deixe secar. (Opcional, se estiver a utilizar uma câmara de secagem citogenética: A câmara deve ser utilizada com uma temperatura aproximada de 25 °C e humidade de 50% para que a colocação de gotas de amostra seja a melhor possível. Na ausência de uma câmara de secagem citogenética, utilize um exaustor de laboratório como alternativa).
2. Mergulhe a lâmina em SSC 2x durante 2 minutos à temperatura ambiente (TA) sem agitar.
3. Desidrate numa série de etanol (70%, 85% e 100%), cada uma durante 2 minutos à TA.
4. Deixe secar.

Pré-desnaturação

5. Retire a sonda do congelador e deixe-a aquecer até à TA. Centrifugue os tubos brevemente antes de os utilizar.
6. Certifique-se de que a solução da sonda é uniformemente misturada com uma pipeta.
7. Retire 10 µl de sonda por cada teste e transfira-os para um tubo de microcentrifugação. Reponha rapidamente o restante volume da sonda no congelador.
8. Coloque a sonda e a lâmina da amostra numa placa quente a 37 °C (+/-1 °C) durante 5 minutos para pré-aquecimento.
9. Coloque 10 µl de solução de sonda na amostra de células e aplique uma lamela com cuidado. Vede com cola de solução de borracha e deixe a cola secar completamente.

Desnaturação

10. Desnature a amostra e a sonda em simultâneo aquecendo a lâmina numa placa quente a 75 °C (+/-1 °C) durante 2 minutos.

Hibridação

11. Coloque a lâmina num recipiente húmido e resistente à luz a 37 °C (+/-1 °C) durante a noite.

Lavagens Pós-hibridação

12. Retire o DAPI do congelador e deixe-o aquecer até à TA.
13. Retire a lamela e todos os vestígios de cola com cuidado.

14. Mergulhe a lâmina em SSC 0,4x (pH 7,0) a 72 °C (+/-1 °C) durante 2 minutos sem agitar.
15. Drene a lâmina e mergulhe-a em SSC 2x e 0,05% de Tween-20 à TA (pH 7,0) durante 30 segundos sem agitar.
16. Drene a lâmina e aplique 10 µl de DAPI Antifade em cada amostra.
17. Cubra a amostra com uma lamela, elimine eventuais bolhas e deixe que a cor se desenvolva no escuro durante 10 minutos.
18. Visualize com um microscópio de fluorescência (ver secção **Recomendação de Microscópio de Fluorescência**).

Recomendações para o Procedimento

1. O envelhecimento ou o aquecimento das lâminas no forno pode reduzir a fluorescência do sinal.
2. As condições de hibridação podem ser negativamente afetadas pela utilização de reagentes que não sejam os fornecidos ou recomendados pela Cytocell Ltd.
3. Utilize um termómetro calibrado para medir as temperaturas das soluções, banhos-maria e incubadoras, uma vez que tais temperaturas são críticas para o ótimo desempenho do produto.
4. As concentrações de lavagem, o pH e as temperaturas são importantes, visto que condições pouco rigorosas podem resultar numa ligação não específica da sonda e condições demasiado rigorosas podem resultar na ausência de sinal.
5. Uma desnaturação incompleta pode resultar em ausência de sinal, e uma desnaturação excessiva também pode resultar em ligação não específica.
6. Uma hibridação excessiva pode resultar em sinais adicionais ou inesperados.
7. Os utilizadores devem otimizar o protocolo para as suas próprias amostras antes de utilizarem o teste para efeitos de diagnóstico.
8. Condições aquém do ideal podem resultar em ligação não específica que pode ser incorretamente interpretada como um sinal de sonda.

Interpretação dos Resultados

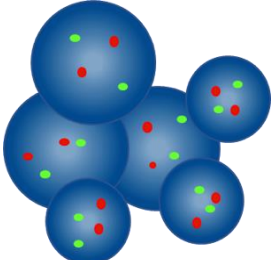
Avaliação da Qualidade das Lâminas

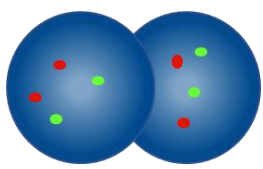
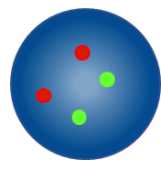
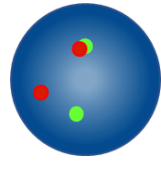
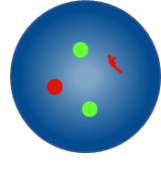
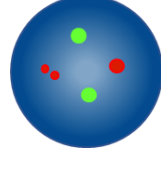
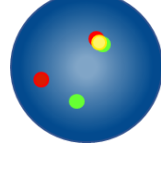
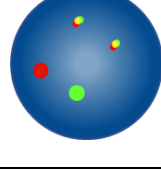
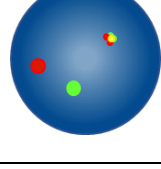
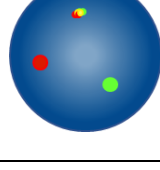
A lâmina não deve ser analisada nos seguintes casos:

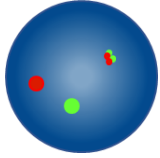
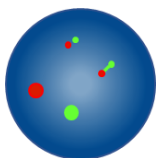
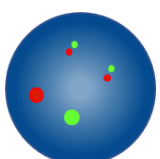
- Os sinais são demasiado fracos para analisar com filtros simples – para proceder à análise, os sinais devem ser luminosos, distintos e facilmente avaliáveis
- Há um número elevado de células agrupadas/sobrepostas a obstruir a análise.
- >50% das células não estão hibridadas
- Há um excesso de partículas fluorescentes entre as células e/ou uma névoa fluorescente que interfere com os sinais – em lâminas ideais, o fundo deve estar escuro ou preto e limpo
- Não é possível distinguir os limites dos núcleos das células, que não estão intactos

Diretrizes para a Análise

- Dois analistas devem analisar e interpretar cada amostra. Qualquer discrepância deve ser resolvida pela avaliação de um terceiro analista
- Cada analista deve estar adequadamente qualificado de acordo com as normas nacionais reconhecidas
- Cada analista deve pontuar independentemente 100 núcleos para cada amostra. O primeiro analista deve começar a análise pelo lado esquerdo da lâmina e o segundo analista pelo lado direito
- Cada analista deve documentar os seus resultados em folhas separadas
- Analise apenas núcleos intactos e não núcleos sobrepostos ou agrupados, nem núcleos cobertos por resíduos citoplasmáticos ou um elevado grau de autofluorescência
- Evite áreas com excesso de resíduos citoplasmáticos ou hibridação não específica.
- A intensidade do sinal pode variar, mesmo num único núcleo. Nesses casos, utilize filtros simples e/ou ajuste o plano focal.
- Em condições aquém das ideais, os sinais poderão parecer difusos. Se dois sinais da mesma cor se tocarem um no outro, ou se a distância entre eles não for superior a duas larguras de sinal, ou quando houver uma cadeia vaga a ligar os dois sinais, conte-os como um sinal
- Se tiver dúvidas sobre se uma célula é analisável ou não, não a analise.

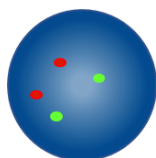
Diretrizes para a Análise	
	<p>Não contar – os núcleos estão demasiado juntos para determinar limites</p>

	<p>Não contar núcleos sobrepostos – todas as áreas de ambos os núcleos não estão visíveis</p>
	<p>Padrão de sinais normal esperado (2Verm2Verd)</p>
	<p>Padrão de sinais normal (2Verm2Verd) - um sinal vermelho e um sinal verde estão co-localizados</p>
	<p>Padrão de sinais normal (2Verm2Verd) - um dos dois sinais vermelhos está difuso</p>
	<p>Padrão de sinais normal (2Verm2Verd) - o intervalo num sinal vermelho é inferior a duas larguras de sonda</p>
	<p>Padrão de sinais normal (2Verm2Verd) - um sinal vermelho e um sinal verde estão co-localizados</p>
	<p>Padrão de sinais anormal esperado (1Verm1Verd2F) - os sinais de fusão vermelho e verde são proporcionalmente mais pequenos</p>
	<p>Padrão de sinais anormal esperado (1Verm1Verd2F) - sinais de fusão co-localizados</p>
	<p>Padrão de sinais anormal esperado (1Verm1Verd2F) - sinais de fusão co-localizados</p>

	Padrão de sinais anormal esperado (1Verm1Verd2F) - dois sinais de fusão próximos um do outro
	Contar como um sinal vermelho, um verde e dois de fusão - um sinal de fusão está difuso
	Contar como um sinal vermelho, um verde e dois de fusão - o intervalo entre o sinal vermelho e o verde nas fusões é inferior a duas larguras de sonda e os sinais de fusão vermelho e verde são proporcionalmente mais pequenos

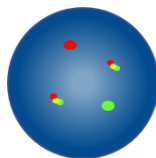
Resultados Esperados

Padrão de Sinais Normal Esperado



Numa célula normal, são esperados dois sinais vermelhos e dois sinais verdes (2Verm2Verd)

Padrões de Sinais Anormais Esperados



Numa célula com inv(16)(p13.1;q22) ou t(16;16)(p13.1;q22), o padrão de sinais esperado é um sinal vermelho, um sinal verde e duas fusões (1Verm1Verd2F).

Outros padrões de sinais são possíveis em espécimes aneuploides/desequilibrados.

Interferências/Substâncias Interferentes Relevantes Conhecidas

Sem interferências/substâncias interferentes relevantes conhecidas.

Reatividade Cruzada Conhecida

Nenhuma reatividade cruzada conhecida.

Comunicação de Incidentes Graves

Para um paciente/utilizador/terceiro na União Europeia e em países com regime regulatório idêntico (Regulamento [UE] 2017/746 sobre dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*); se, durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, ocorrer um incidente grave, comunique-o ao fabricante e à autoridade competente nacional.

No caso de incidentes sérios noutros países, comunique-os ao fabricante e, se aplicável, à autoridade competente nacional.

Contacto de vigilância do fabricante: vigilance@ogt.com

Quanto a autoridades competentes nacionais na UE, pode obter uma lista de pontos de contacto de vigilância em:

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

Características Específicas de Desempenho

Especificidade analítica

A especificidade analítica é definida como a percentagem de sinais que se hibridam com o locus correto e nenhuma outra localização. Dois loci cromossómicos foram analisados em cada uma de vinte células metafásicas de cinco amostras, proporcionando 200 pontos de dados. A localização de cada sonda hibridizada foi mapeada e o número de sinais de FISH de cromossomas metafásicos que se hibridaram com o locus correto foi registado.

A especificidade analítica de cada produto foi calculada como o número de sinais

de FISH de cromossomas metafásicos que se hibridaram com o locus correto, dividido pelo número total de sinais de FISH de cromossomas metafásicos hibridizados. Este resultado foi multiplicado por 100, sendo o mesmo expresso em forma de percentagem e fornecido com um intervalo de confiança de 95%.

Tabela 1. Especificidade analítica para a CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Alvo	Número de cromossomas metafásicos hibridados	Número de loci corretamente hibridados	Especificidade analítica	Intervalo de confiança de 95%
16q22	200	200	100%	98,12–100%
16p13.1	200	200	100%	98,12–100%

Sensibilidade Analítica

A sensibilidade analítica é a percentagem de células interfásicas pontuáveis com o padrão de sinais normal esperado. Foi analisado um mínimo de 200 células interfásicas para cada uma das 25 amostras de medula óssea, resultando num mínimo de 5000 núcleos pontuados para cada tipo de amostra. Os dados de sensibilidade foram analisados com base na percentagem de células que apresentavam um padrão de sinais esperado normal e foram expressos como percentagem com um intervalo de confiança de 95%.

Tabela 2. Sensibilidade analítica para a CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Tipo de amostra	Crítérios de sensibilidade	Resultado da sensibilidade
Medula óssea	>95%	98,94% (98,59–99,29%)

Caracterização dos Valores de Cut-off Normais

O valor de cut-off normal é definido como a percentagem de células que apresentam um padrão de sinais falso positivo com o qual um indivíduo seria considerado normal e não consistente com um diagnóstico clínico. Foi analisado um mínimo de 200 células interfásicas para cada uma das 1300 amostras de medula óssea, resultando num mínimo de 260 000 núcleos pontuados para cada tipo de amostra.

O valor de cut-off foi determinado utilizando a função β-inverso (BETAINV) no MS Excel. Foi calculado como a percentagem de células interfásicas que apresentam um padrão de sinais falso positivo utilizando o limite superior de um intervalo de confiança de 95% unilateral da distribuição binomial numa amostra de doente normal.

Tabela 3. Caracterização dos valores de cut-off normais para a CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Tipo de amostra	Resultado de Cut-off
Medula óssea	2,3%

Os laboratórios devem verificar os valores de cut-off utilizando os seus próprios dados.^{4,5}

Reprodutibilidade

Foram realizados estudos de reprodutibilidade para estabelecer:

- A reprodutibilidade intradiária em 3 centros (amostra para amostra)
- A reprodutibilidade interdiária em 3 centros (dia para dia)
- A reprodutibilidade intercentros em 3 centros (centro para centro)
- A reprodutibilidade interlotes num único centro (lote para lote)

A reprodutibilidade foi estabelecida por três laboratórios individuais, que testaram seis amostras em ocultação (duas negativas para o rearranjo, duas amostras positivas baixas que correspondiam a 1 a 3 vezes o valor de cut-off e duas amostras positivas altas que continham mais de 45% de células positivas para o rearranjo). A análise foi realizada com duas réplicas de cada amostra durante cinco dias não consecutivos.

Os três centros realizaram testes intradiários, interdiários e intercentros utilizando o mesmo lote de sonda, enquanto um dos centros também realizou testes de reprodutibilidade interlotes com três lotes diferentes de sonda.

Os resultados foram apresentados como a concordância global com a classe negativa prevista (para as amostras negativas) e com a classe positiva prevista (para as amostras positivas).

Tabela 4a. Reprodutibilidade e precisão para a CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variável	Tipo de amostra	Concordância
Intradiário (amostra para amostra), interdiária (dia para dia) e reprodutibilidade intercentros (centro para centro)	Negativa de medula óssea	100%
	Positiva baixa de medula óssea	35%
	Positiva alta de medula óssea	100%
Reprodutibilidade de lote para lote	Negativa de medula óssea	100%
	Positiva baixa de medula óssea	33%
	Positiva alta de medula óssea	100%

Um estudo de reprodutibilidade adicional foi realizado para suplementar os resultados positivos baixos utilizando duas amostras com diferentes níveis de positivo baixo (2x e 4x o valor de cut-off) e duas amostras negativas para estabelecer:

- A reprodutibilidade intradiária num único centro (amostra para amostra)
- A reprodutibilidade interdiária num único centro (dia para dia)
- A reprodutibilidade interoperacional num único centro (operador para operador)

A reprodutibilidade foi estabelecida utilizando um lote de sondas, avaliado em duas réplicas de cada amostra, testado durante cinco dias não consecutivos por dois operadores diferentes.

Os resultados foram apresentados como a concordância global com a classe positiva prevista (para as amostras positivas).

Tabela 4b. Dados de apoio adicionais para reprodutibilidade e precisão da CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variável	Tipo de amostra	Concordância
Intradiário (amostra para amostra), interdiária (dia para dia) e reprodutibilidade interoperacional (operador para operador)	Positiva baixa de medula óssea (2x cut-off)	100%
	Positiva baixa de medula óssea (4x cut-off)	100%

Desempenho Clínico

Para garantir que a CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe deteta os rearranjos pretendidos, o desempenho clínico foi estabelecido através de quatro (4) estudos sobre amostras representativas da população pretendida para o produto: material fixado com 3:1 de metanol/ácido acético residual. Estes estudos tinham uma dimensão de amostra combinada de trezentos e noventa e três (393) espécimes, com um total de vinte e oito (28) espécimes positivos e trezentos e sessenta e cinco (365) espécimes negativos. Os resultados foram comparados com o estado conhecido da amostra. Verificou-se que a concordância/discordância de resultados cumpriu os critérios de aceitação para este estudo. Os resultados destes testes foram analisados com vista a proporcionar os valores da sensibilidade clínica, da especificidade clínica e da taxa de falsos positivos (FPR) para os sinais positivos, utilizando uma abordagem unidimensional.

Tabela 5. Desempenho Clínico para a CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variável	Resultado
Sensibilidade Clínica (taxa de verdadeiros positivos, TPR) *	98,76%
Especificidade clínica (taxa de verdadeiros negativos, TNR)*	99,52%
Taxa de falsos positivos (FPR) = 1 – Especificidade*	0,48%

Resumo de Segurança e Desempenho (SSP)

O SSP será disponibilizado para o público através da base de dados europeia sobre dispositivos médicos (Eudamed), onde está ligado ao UDI-DI básico.

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

UDI-DI básico: 50558449LPH022J9

Se a Eudamed não estiver totalmente funcional, o SSP será disponibilizado para o público mediante solicitação para o e-mail SSP@oqt.com.

Informações Adicionais

Para obter mais informações sobre o produto, contacte o departamento de assistência técnica da CytoCell.

T: +44 (0)1223 294048















E: techsupport@cytozell.com

W: www.oqt.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 Nov 03]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
2. Döhner, et al. *Blood*. 2022;140(122):1345-1377.
3. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
4. 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.
5. Wiktor AE, Dyke DL, 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.

Glossário de Símbolos

EN ISO 15223-1:2021 – "Dispositivos médicos – Símbolos a utilizar com informações fornecidas pelo fabricante – Parte 1: Requisitos gerais" (© Organização Internacional de Normalização)		
Símbolo	Título	Número(s) de Referência
	pt: Fabricante	5.1.1
	pt: Representante autorizado na Comunidade Europeia/União Europeia	5.1.2
	pt: Prazo de validade	5.1.4
	pt: Código de lote	5.1.5
	pt: Número de catálogo	5.1.6
	pt: Manter afastado da luz solar	5.3.2
	pt: Limite de temperatura	5.3.7
	pt: Consultar as instruções de utilização	5.4.3
	pt: Consultar as instruções de utilização eletrónicas	5.4.3
	pt: Cuidado	5.4.4
	pt: Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	5.5.1
	pt: Suficiente para <n> testes	5.5.5
	pt: Identificação única do dispositivo	5.7.10
Símbolos EDMA para reagentes e componentes IVD, revisão de outubro de 2009		
Símbolo	Título	Número(s) de Referência
	pt: Conteúdo (ou contém)	N/D

Patentes e Marcas Comerciais

CytoCell é uma marca registada da CytoCell Limited.



CytoCell Limited

Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
REINO UNIDO

T: +44 (0)1223 294048

F: +44 (0)1223 294986

E: probes@cytoCell.com

W: www.ogt.com



Sysmex Europe SE

Bornbarch 1
22848 Norderstedt
ALEMANHA

T: +49 40 527260

W: www.sysmex-europe.com

Histórico de Versões das IFU

V001 09-10-2023: Novas IFU para Regulamento (UE) 2017/746.