



A Sysmex Group Company



## Instruções de Utilização

REF.<sup>a</sup> LPH 101-S / LPH 101

## Sonda de Fusão Dupla da Translocação IGH/MAF v2



APENAS PARA USO PROFISSIONAL



www.cytocell.com

Mais informações e outros idiomas disponíveis em [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

### Limitações

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

O teste não se destina a ser utilizado: como diagnóstico autónomo, teste pré-natal, rastreio populacional, teste descentralizado ou autodiagnóstico. Este produto destina-se apenas a uma utilização profissional num ambiente laboratorial. Todos os resultados devem ser interpretados por técnicos adequadamente qualificados, tomando em consideração os resultados de outros testes relevantes.

Este produto não foi validado para ser utilizado com tipos de amostra ou tipos de doença que não sejam os especificados na secção da utilização prevista.

A comunicação e interpretação dos resultados da FISH devem ser consistentes com as normas da prática profissional e devem tomar em consideração outras informações clínicas e de diagnóstico. Este kit 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.

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

Este kit não foi validado para outros efeitos que não os indicados na secção da utilização prevista.

### Utilização prevista

A Sonda de Fusão Dupla da Translocação IGH/MAF CytoCell é um teste qualitativo não automatizado de hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) utilizado para detetar rearranjos cromossómicos entre a região 14q32.3 no cromossoma 14 e a região 16q23 no cromossoma 16 em suspensões de células derivadas do sangue fixadas no fixador de Carnoy (3:1 de metanol/ácido acético) de doentes com confirmação ou suspeita de mieloma múltiplo (MM).

### Indicações

Este produto 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 *IGH-MAF* seria importante para o tratamento clínico.

### Princípios do teste

A hibridização *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 hibridizam 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 cromossómica pré-natal, hematológica e de tumores sólidos. O ADN alvo, após fixação e desnaturação, está disponível para renaturação com uma sonda de ADN marcada por fluorescência e desnaturada de forma semelhante, que tem uma sequência complementar. Após a hibridização, 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 hibridizada no material alvo.

### Informações sobre a sonda

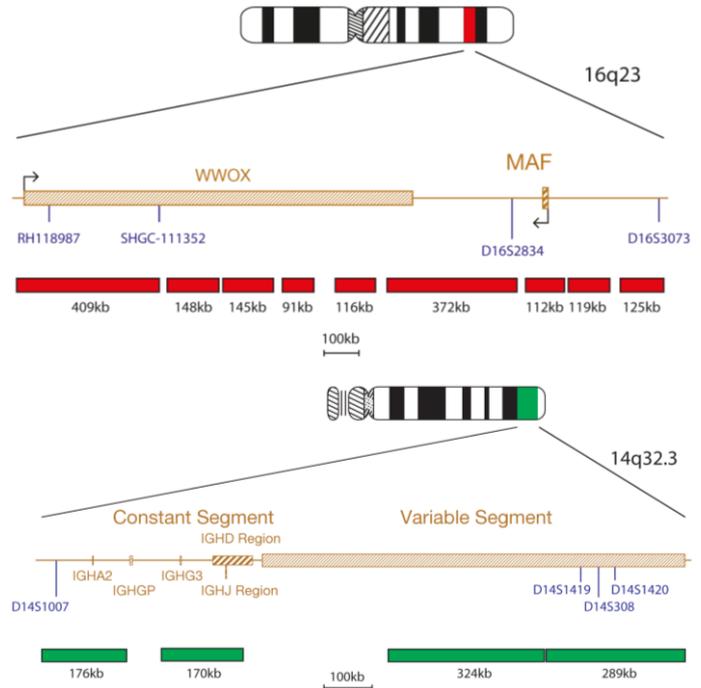
O gene *MAF* (*fator de transcrição de MAF bZIP*) está localizado no 16q23 e o gene *IGH* (*locus da cadeia pesada da imunoglobulina*) no 14q32.3. Aproximadamente 50-60% dos casos de mieloma múltiplo (MM) estão associados a translocações que envolvem o *IGH* e um dos vários parceiros, incluindo *CCND1*, *NSD2* (*WHSC1*) e *FGFR3*, *CCND3*, *MAF* ou *MAFB*<sup>1</sup>. A translocação t(14;16)(q32.3;q23) é uma translocação recorrente verificada em 2-10% dos casos de MM<sup>1</sup>.

A maioria dos pontos de quebra ocorrem no último intrão do gene *WVVOX* (*oxidoreductase contendo o domínio WV*), centromérico ao gene *MAF*. Estes pontos de quebra têm um impacto duplo de posicionamento do potenciador do *IGH* próximo do *MAF* e de perturbação do gene *WVVOX*<sup>2</sup>. A perfilagem da expressão genética das linhas de células do mieloma revelou que o *MAF* provocou a transativação da ciclina D2 (promotora da progressão do ciclo celular), impulsionando assim a proliferação de células do mieloma<sup>3</sup>.

De acordo com a literatura, os doentes com MM que produzam a t(14;16) parecem ter um resultado clínico mais agressivo<sup>4,5</sup>.

### Especificação da sonda

MAF, 16q23, Vermelho  
IGH, 14q32.3, Verde



A Sonda de Fusão Dupla da Translocação IGH/MAF v2 consiste na mistura de sondas de IGH, marcadas a verde, que abrangem partes dos segmentos Constante, J, D e Variável do gene IGH, e na mistura de sondas de MAF, marcadas a vermelho, que engloba o gene MAF e as regiões flangeadoras, bem como o gene *WVVOX*.

### Materiais fornecidos

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

As sondas são fornecidas pré-misturadas em solução de hibridização (formamida; sulfato de dextrano; citrato de sódio salino [SSC]) e estão prontas para serem utilizadas.

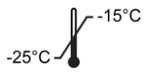
**Contracorante:** 150 µl por tubo (15 testes)

O contracorante é o DAPI Antifade (ES: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol)).

### Advertências e precauções

1. Para utilização em diagnóstico *in vitro*. Apenas para uso profissional.
2. Utilize luvas quando manusear sondas de ADN e o contracorante DAPI.
3. As soluções de sonda contêm formamida, que é um teratogénio. Não inale vapores provenientes das mesmas nem permita o contacto das mesmas com a pele. Manuseie com cuidado. Utilize luvas e uma bata de laboratório.
4. O DAPI é um potencial agente cancerígeno. Manuseie com cuidado. Utilize luvas e uma bata de laboratório.
5. Elimine todos os materiais perigosos de acordo com as diretrizes da sua instituição para a eliminação de resíduos perigosos.
6. Os operadores têm de ser capazes de distinguir as cores vermelha, azul e verde.
7. O não cumprimento do protocolo e reagentes delineados pode afetar o desempenho do produto e dar origem a falsos resultados positivos/negativos.
8. A sonda não deve ser diluída nem misturada com outras sondas.
9. A não utilização de 10 µl de sonda durante a fase pré-desnaturação do protocolo pode afetar o desempenho do produto e dar origem a falsos resultados positivos/negativos.

## Conservação e manuseamento



O kit deve ser conservado numa unidade de refrigeração a uma temperatura de -25 °C a -15 °C até ao prazo de validade indicado no rótulo do kit. Os tubos de sonda e de contracorante têm de ser conservados no escuro.



A sonda permanece estável durante os ciclos de congelamento e descongelamento que ocorrem durante a utilização normal (em que um ciclo constitui a remoção da sonda do congelador e a sua reposição no mesmo) e fica fotoestável durante um máximo de 48 horas depois de exposta a condições de luminosidade contínua. Devem ser envidados 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 e 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 do 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. Solução de citrato de sódio salino (SSC) 20x
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 <sub>máx</sub> [nm]	Emissão <sub>máx</sub> [nm]
Verde	495	521
Vermelho	596	615

Certifique-se de que os filtros de excitação e emissão adequados, 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 do fabricante relativamente à vida útil da lâmpada e à duração dos filtros.

## Preparação das amostras

O kit destina-se a ser utilizado em suspensões de células derivadas do sangue fixadas no fixador de Carnoy (3:1 de metanol/ácido acético), 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<sup>7</sup>.

## Preparação da solução

### Soluções de etanol

Dilua etanol a 100% com água purificada utilizando os seguintes rácios e depois 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 com 9 partes de água purificada e misture bem. Verifique o pH e ajuste-o para um pH 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 com 49 partes de água purificada e misture bem. Verifique o pH e ajuste-o para um pH 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 com 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 um pH 7,0 utilizando NaOH ou HCl, conforme necessário. Conserve a solução durante um máximo de 4 semanas à temperatura ambiente num recipiente hermético.

## Protocolo da FISH

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

## Preparação das lâminas

1. Coloque uma gota de amostra celular numa lâmina de microscópio de vidro. Deixe secar. (**Opcional, se utilizar uma câmara de secagem citogenética:** As gotas de amostra devem ser colocadas nas lâminas utilizando 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. Se não houver 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 o restante volume da sonda na unidade de refrigeração.
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 da 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.

## Hibridização

11. Coloque a lâmina num recipiente húmido resistente à luz a 37 °C (+/- 1 °C) e deixe-a no mesmo de um dia para o outro.

## Lavagens pós-hibridização

12. Retire o DAPI do congelador e deixe-o aquecer até à TA.
13. Retire a lamela e todos os vestígios de cda 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 a cor desenvolver-se no escuro durante 10 minutos.
18. Visualize com um microscópio de fluorescência (ver secção **Recomendação de microscópio de fluorescência**).

## Estabilidade das lâminas acabadas

As lâminas acabadas permanecem analisáveis durante 1 mês no máximo se conservadas no escuro a uma temperatura igual ou inferior à TA.

## Recomendações para o procedimento

1. O envelhecimento e aquecimento das lâminas no forno pode reduzir a fluorescência do sinal.
2. As condições de hibridização 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, aparelhos de banho-maria e incubadoras, visto que essas 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 umas 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 numa ligação não específica.
6. Uma hibridização 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 que não sejam ótimas podem resultar numa ligação não específica, que pode ser incorretamente interpretada como um sinal da sonda.

### Interpretação dos resultados

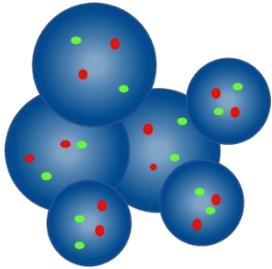
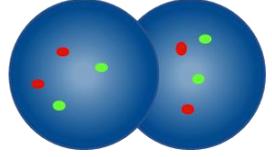
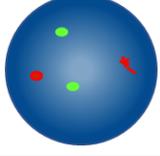
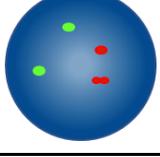
#### Avaliação da qualidade das lâminas

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 hibridizadas.
- Há um excesso de partículas fluorescentes entre as células e/ou uma névoa fluorescente que interfere com os sinais – nas lâminas que estejam em condições ideais, o fundo deve estar escuro ou preto e limpo.
- Não é possível distinguir os limites dos núcleos das células, que não estão intactos.

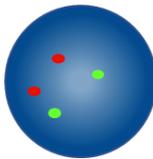
#### Diretrizes para a análise

- 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 100 núcleos para cada amostra, de forma independente. 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 os núcleos intactos e não os núcleos sobrepostos ou agrupados ou núcleos cobertos por resíduos citoplasmáticos ou elevado grau de autofluorescência.
- Evite as áreas com excesso de resíduos citoplasmáticos ou hibridização não específica.
- A intensidade do sinal pode variar, mesmo com um único núcleo. Nesses casos, utilize filtros simples e/ou ajuste o plano focal.
- Em condições que não sejam ótimas, 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 vaga cadeia 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	
	Não contar – os núcleos estão demasiado juntos para determinar limites
	Não contar núcleos sobrepostos – todas as áreas de ambos os núcleos não estão visíveis
	Contar como dois sinais vermelhos e dois sinais verdes – um dos dois sinais vermelhos é difuso
	Contar como dois sinais vermelhos e dois sinais verdes – o intervalo num sinal vermelho é inferior a duas larguras de sonda

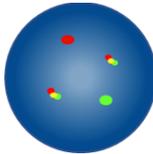
### Resultados esperados

#### Padrão de sinais normal esperado



Numa célula normal, espera-se dois sinais vermelhos e dois sinais verdes (2R, 2G).

#### Padrão de sinais anormal esperado



Numa célula com uma translocação t(14;16)(q32.3;q23), o padrão de sinais esperado é um sinal vermelho, um sinal verde e dois sinais de fusão (1R, 1G, 2F).

Outros padrões de sinais são possíveis em espécimes aneuploides/desequilibrados. Tenha em atenção que, na presença de outros rearranjos de IGH além da translocação IGH/MAF, o sinal verde de IGH pode parecer dividido.

#### Reatividade cruzada conhecida

A sonda de IGH verde pode apresentar hibridização cruzada com 15q11.2 e 16p11.2.

#### Notificação de eventos adversos

Se acreditar que este dispositivo se avariou ou sofreu uma deterioração nas respetivas características de desempenho que possa ter contribuído para um evento adverso (por exemplo, diagnóstico tardio ou incorreto, tratamento tardio ou inadequado), deve comunicá-lo imediatamente ao fabricante (**e-mail**: [vigilance@ogt.com](mailto:vigilance@ogt.com)).

Se aplicável, o evento também deve ser comunicado à respetiva autoridade competente nacional. Pode obter uma lista de pontos de contacto de vigilância em: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

#### Características específicas de desempenho

##### Especificidade analítica

A especificidade analítica é definida como a percentagem de sinais que se hibridizam com o locus correto e nenhuma outra localização. Quatro loci cromossómicos foram analisados em cada uma de vinte células metafásicas de cinco amostras, proporcionando 400 pontos de dados. A localização de cada sonda hibridizada foi mapeada e o número de sinais de FISH de cromossomas metafásicos que se hibridizaram com o locus correto foi registado.

A especificidade analítica de cada sonda do kit foi calculada como o número de sinais de FISH de cromossomas metafásicos que se hibridizaram 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 Sonda de Fusão Dupla da Translocação IGH/MAF v2

Alvo	Número de cromossomas metafásicos hibridizados	Número de loci corretamente hibridizados	Especificidade analítica	Intervalo de confiança de 95%
14q32.3	200	200	100%	98,12% - 100%
16q23	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. Um mínimo de 200 células interfásicas foram analisadas para cada uma de 25 amostras de medula óssea fixadas e cariotipicamente normais ou amostras de medula óssea negativas para um rearranjo do IGH e de 25 amostras de células CD138+ negativas para o IGH, resultando num mínimo de 5000 núcleos pontuados para cada tipo de amostra. Os dados da 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 Sonda de Fusão Dupla da Translocação IGH/MAF v2

Tipo de amostra	Crterios de sensibilidade	Resultado da sensibilidade
Medula óssea	>95%	97,8% ± 0,67%
CD138+	>95%	96,64% ± 0,78%

### Caracterização dos valores de limite normais

O valor de limite 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. Um mínimo de 200 células interfásicas foram analisadas para cada uma de 25 amostras de medula óssea fixadas e cariotipicamente normais ou amostras de medula óssea negativas para um rearranjo do IGH e de 25 amostras de células CD138+ negativas para o IGH, resultando num mínimo de 5000 núcleos pontuados para cada tipo de amostra.

O valor de limite foi determinado utilizando a função  $\beta$ -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 limite normais para a Sonda de Fusão Dupla da Translocação IGH/MAF v2**

Tipo de amostra	Resultado de limite
Medula óssea	1,5%
CD138+	1,5%

Os laboratórios têm de verificar os valores de limite utilizando os seus próprios dados<sup>7,8</sup>.

### Precisão

A precisão deste produto foi medida em termos da precisão intradiária (amostra para amostra), da precisão interdiária (dia para dia) e da precisão interlotes de um único centro (lote para lote).

Três amostras foram utilizadas para avaliar a precisão deste produto: uma amostra de medula óssea normal fabricada (derivada de 25 amostras individuais), uma amostra de células CD138+ normal fabricada (derivada de 28 amostras individuais) e uma amostra de células CD138+ positiva baixa (2-4x o valor de limite do produto, criado pela adição de um positivo conhecido à amostra de células CD138+ normal), a qual foi utilizada para desafiar o produto à volta do valor de limite estabelecido.

Para estabelecer as precisões interdiária e intradiária, as amostras foram avaliadas em cinco datas não consecutivas e, para estabelecer a precisão de lote para lote, três lotes do produto foram avaliados com quatro réplicas das mesmas amostras. Os resultados foram apresentados como a concordância global com a classe negativa prevista (para as amostras negativas).

**Tabela 4. Reprodutibilidade e precisão para a Sonda de Fusão Dupla da Translocação IGH/MAF v2**

Variável	Tipo de amostra	Concordância
Precisão intradiária e precisão interdiária	Medula óssea normal (negativa)	100%
	CD138+ normal (negativa)	100%
	CD138+ positiva baixa	100%
Precisão de lote para lote	Medula óssea normal (negativa)	100%
	CD138+ normal (negativa)	100%
	CD138+ positiva baixa	100%

### Desempenho clínico

Para assegurar que o produto deteta os rearranjos pretendidos, o desempenho clínico foi estabelecido através de dois estudos, com amostras representativas da população pretendida para o produto: um utilizando espécimes de células CD138+ e outro utilizando espécimes de medula óssea. O tamanho da amostra para cada estudo foi de vinte espécimes, com uma população-alvo de cinco espécimes positivos de fusão IGH-MAF e quinze espécimes negativos de fusão IGH-MAF. Todas as amostras foram anonimadas e aleatorizadas para evitar enviesamentos na análise. Os resultados foram comparados com o estado conhecido da amostra. A sonda identificou corretamente o estado das amostras em todos os casos.

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 Sonda de Fusão Dupla da Translocação IGH/MAF v2**

Variável	Resultado
Sensibilidade clínica (taxa de verdadeiros positivos, TPR)	97,3%
Especificidade clínica (taxa de verdadeiros negativos, TNR)	99,8%
Taxa de falsos positivos (FPR) = 1 – Especificidade	0,2%

### Informações adicionais

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

T: +44 (0)1223 294048

E: techsupport@cytoCELL.com

W: www.ogt.com

### Bibliografia

1. Fonseca *et al.*, Cancer Res 2004;64:1546-1558
2. Walker *et al.*, Blood 2013;121(17):3413-3419
3. Chang H *et al.*, Leukemia 2007;21:1572-1574
4. Fonseca *et al.*, Leukemia 2009;23(12):2210-2221
5. Sawyer, Cancer Genetics 2011;204(1):3-12
6. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
7. 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.
8. 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.

### Guia dos símbolos

REF. <sup>a</sup>	pt: Número de catálogo
	pt: Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	pt: Código de lote
	pt: Consulte as Instruções de Utilização
	pt: Fabricante
	pt: Prazo de validade
	pt: Limite de temperatura
	pt: Manter afastado da luz solar
	pt: Suficiente para <n> testes
	pt: Conteúdo

### Patentes e marcas comerciais

CytoCell é uma marca comercial registada da Cytocell Ltd.

### Cytocell Ltd.

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

