



A Sysmex Group Company



Instrucțiuni de utilizare

REF: LPH 036-S / LPH 036

## Sonda EVI1 (MECOM) Breakapart Probe



NUMAI PENTRU UTILIZARE PROFESIONALĂ



www.cytoCELL.com

Informații suplimentare și în alte limbi sunt disponibile pe [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

### Limitări

Acest dispozitiv este conceput pentru a detecta rearanjamentele cu puncte de ruptură în regiunea la care se atașează clonele roșii, verzi și albastre din acest set de sonde, care include regiunea *EVI1* (*MECOM*). Este posibil ca punctele de ruptură din afara acestor regiuni sau variante ale rearanjamentelor conținute în întregime în interiorul regiunilor respective să nu fie detectate cu acest produs.

Acest test nu este destinat pentru: utilizarea ca diagnosticare de sine stătătoare, testare prenatală, screening la nivel de populație, testare la locul de acordare a asistenței medicale sau autotestare. Acest produs este destinat numai pentru utilizare profesională de laborator; toate rezultatele trebuie interpretate de personal cu calificare adecvată, luând în considerare rezultatele relevante ale altor teste.

Acest produs nu a fost validat pentru utilizarea pe tipuri de probe sau tipuri de boli altele decât cele specificate în destinația de utilizare.

Raportarea și interpretarea rezultatelor FISH trebuie să fie concordante cu standardele de practică profesională și trebuie să ia în considerare alte informații clinice și diagnostice. Acest kit este destinat ca test complementar altor teste diagnostice de laborator, iar acțiunea terapeutică nu trebuie inițiată exclusiv pe baza rezultatului FISH.

Nerespectarea protocolului poate afecta performanța și poate duce la rezultate fals pozitive/negative.

Acest kit nu a fost validat pentru scopuri în afara destinației de utilizare specificate.

### Destinația de utilizare

Sonda CytoCell EVI1 (*MECOM*) Breakapart Probe este un test calitativ, ne-automatizat de hibridizare fluorescență *in situ* (FISH), utilizat pentru detecția rearanjamentelor cromozomiale cu implicarea regiunii 3q26.2 a cromozomului 3 în suspensii de celule de origine hematologică, fixate în soluție Carnoy (metanol/acid acetic 3:1), de la pacienți cu diagnostic suspectat sau confirmat de leucemie acută mieloidă (LAM) sau sindrom mielodisplazic (SMD).

### Indicații

Acest produs este conceput pentru a fi utilizat complementar la alte teste clinice și histopatologice în cadrul algoritmilor stabiliți de diagnostic și tratament în situațiile în care cunoașterea statutului privind translocarea *EVI1* (*MECOM*) poate fi importantă pentru alegerea strategiei de gestionare clinică.

### Principiul testului

Hibridizarea fluorescență *in situ* (FISH) este o tehnică care permite detecția secvențelor de ADN pe cromozomii în metafază sau nuclei în interfază din probe citogenetice fixate. Această tehnică presupune utilizarea sondelor de ADN care se hibridizează la cromozomi întregi sau la secvențe unice separate și servește ca un important test complementar analizei citogenetice cu bandare G. Această tehnică poate fi aplicată în prezent ca instrument de investigație esențial în cadrul analizei cromozomiale prenatale, hematologice și a tumorilor solide. ADN-ul țintă, după fixare și denaturare, este disponibil pentru aliniere la o sondă de ADN denaturată în mod similar și marcată fluorescent, care are o secvență complementară. După hibridizare, sonda de ADN nelegată și legată în mod nespecific este îndepărtată, iar ADN-ul este contracolorat pentru vizualizare. După aceea, microscopia de fluorescență permite vizualizarea sondei hibridizate pe materialul țintă.

### Informații privind sonda

Rearanjamentele oncogenei *MECOM* (*locus complex MDS1 și EVI1*), localizate la nivelul 3q26.2, se observă frecvent la pacienții cu neoplazii hematologice de origine mieloidă.

*MECOM* codifică o proteină „deget de zinc” cu expresie neadekvată în celulele leucemice la 2-5% dintre pacienții cu LAM și SMD<sup>1</sup>. Această expresie dereglată se datorează adesea unui rearanjament cromozomial cu implicarea regiunii 3q26.2, două cele mai frecvente aberații fiind t(3;3)(q21;q26.2) și inv(3)(q21q26.2)<sup>1</sup>. Localizarea punctelor de ruptură în cazul acestor translocări și inversii este foarte variabilă.

Punctele de ruptură în cazul inversiilor se localizează centromeric față de gena *MECOM* și cu includerea acesteia, având o lungime de aproximativ 600kb. Majoritatea punctelor de ruptură în cazul translocărilor 3q26.2 se localizează telomeric față de gena *MECOM* și cuprind o regiune care include capătul telomeric al genei *MDS1* și gena *MYNN*<sup>2</sup>.

Rearanjamentele cromozomiale cu implicarea regiunii 3q26.2 se asociază cu neoplazii meloide, expresia aberantă a genei *MECOM*, prognostic nefavorabil și evoluție clinică agresivă<sup>2</sup>.

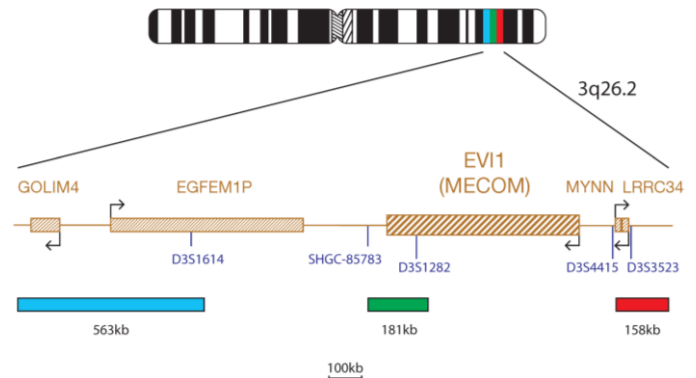
LAM cu inv(3)(q21q26.2) sau t(3;3)(q21;q26.2) este inclusă ca o entitate nozologică recunoscută în clasificarea Organizației Mondiale a Sănătății (OMS) a neoplasmelor meloide și leucemiei acute. Aceasta este o LAM transformată sau de novo cu evoluție clinică foarte agresivă și aberații care implică gena *MECOM* de la nivelul 3q26.2 și gena *RPN1* (riboforin I) de la nivelul 3q21<sup>3</sup>.

Rearanjamentele *MECOM* au fost detectate și caz de afecțiune asociată cu tratamentul în rezultatul translocării t(3;21)(q26.2;q22) cu fuziunea *MECOM-RUNX1*<sup>3,4</sup>.

Rearanjamentele *MECOM* sunt foarte eterogene, iar detecția lor prin metode citogenetice convenționale poate fi dificilă, FISH fiind un instrument util în acest sens.

### Specificații privind sonda

EV11, 3q26.2, roșu  
EV11, 3q26.2, verde  
EV11, 3q26.2, albastru



Componenta roșie a setului de sonde EVI1 constă dintr-o sondă de 158kb, localizată telomeric față de markerul D3S4415, și include gena *LRR34*. Componenta roșie se atașează de o regiune de 181kb, care include porțiunea centromerică a genei *EVI1* (*MECOM*) și ajunge până dincolo de markerul D3S1282. Componenta albastră se atașează de o regiune de 563kb localizată centromeric față de gena *EVI1*, care include markerul D3S1614.

### Materiale furnizate

**Sonda:** 50 μl per flacon (5 teste) sau 100 μl per flacon (10 teste)  
Sondele sunt furnizate pre-amestecate în soluție de hibridizare (formamidă; dextran sulfat; soluție salină — citrat de sodiu (SSC)) și sunt gata de utilizare.

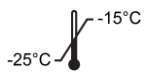
**Contracolorant:** 150 μl per flacon (15 teste)

Contracolorantul este un agent anti-diminuare a colorării DAPI (ES: 0,125 μg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol)).

### Atenționări și precauții

1. Pentru diagnosticare *in vitro*. Numai pentru utilizare profesională.
2. Purtați mănuși la manevrarea sondelor de ADN și a contracolorantului DAPI.
3. Amestecurile de sonde conțin formamidă, care este teratogen; nu inhalați vaporii și nu permiteți contactul cu pielea. Manevrați cu atenție; purtați mănuși și halat de laborator.
4. DAPI este potențial carcinogen. Manevrați cu atenție; purtați mănuși și halat de laborator.
5. Eliminați toate materialele periculoase în conformitate cu ghidurile instituției dumneavoastră privind eliminarea deșeurilor periculoase.
6. Operatorii trebuie să fie capabili să distingă culorile roșu, albastru și verde.
7. Nerespectarea protocolului specificat, inclusiv a indicațiilor privind reactivi, poate afecta performanța și poate duce la rezultate fals pozitive/negative.
8. Sonda nu trebuie diluată sau amestecată cu alte sonde.
9. Neutilizarea a 10 μl de sondă la etapa de pre-denaturare a protocolului poate afecta performanța și poate duce la rezultate fals pozitive/negative.

## Păstrare și manevrare



Kitul trebuie păstrat la temperaturi cuprinse între -25 °C și -15 °C în congelator până la data de expirare, indicată pe eticheta kitului. Flacoanele cu sondă și contracolorant trebuie păstrate la întuneric.



Sonda rămâne stabilă pe întreaga durată a ciclurilor de congelare-decongelare, produse în timpul utilizării normale (un ciclu constituind scoaterea sondei din congelator și punerea ei la loc în congelator), și este fotostabilă timp de maximum 48 de ore după expunere la iluminare continuă. Trebuie depuse toate eforturile pentru a limita expunerea la lumină și variațiile de temperatură.

## Echipamente și materiale necesare, dar neincluse în setul de livrare

Trebuie utilizate echipamente calibrate:

1. Placă fierbinte (cu placă solidă și control precis al temperaturii până la 80 °C)
2. Micropipete cu volum variabil, calibrate și vărfuri, în intervalul 1 µl - 200 µl
3. Baie de apă cu control precis al temperaturii la 37 °C și 72 °C
4. Eprubete de microcentrifugă (0,5 ml)
5. Microscop de fluorescență (vă rugăm să consultați secțiunea Recomandare privind microscopul de fluorescență)
6. Microscop în contrast de fază
7. Vase Coplin din plastic, ceramică sau sticlă rezistentă la căldură, curate
8. Pensă
9. pH-metru calibrat (sau benzi indicatoare de pH capabile să măsoare valori ale pH-ului de 6,5 – 8,0)
10. Recipient umidificat
11. Ulei de imersie pentru lentile de microscop de grad de fluorescență
12. Centrifugă pentru banc de lucru
13. Lamă de microscop
14. Lamele de 24x24 mm
15. Cronometru
16. Incubator la 37 °C
17. Adeziv din soluție de cauciuc
18. Mixer vortex
19. Cilindri gradați
20. Agitator magnetic
21. Termometru calibrat

## Echipamente opționale, care nu sunt furnizate

1. Cameră de uscare de citogenetică

## Reactivi necesari, dar care nu sunt furnizați

1. Soluție salină - citrat de sodiu (SSC - saline-sodium citrate) 20x
2. Etanol 100%
3. Tween-20
4. Hidroxid de sodiu (NaOH) 1M
5. Acid clorhidric (HCl) 1M
6. Apă purificată

## Recomandare privind microscopul de fluorescență

Utilizați o lampă cu mercur de 100 wați sau echivalent și obiective plane apocromate cu imersie în ulei de 60/63x sau 100x pentru vizualizare optimă. Fluoroforii utilizați în acest set de sonde vor fi excitați și vor emite la următoarele lungimi de undă:

Fluorofor	Excitația <sub>max</sub> [nm]	Emisia <sub>max</sub> [nm]
Aqua	418	467
Verde	495	521
Rosu	596	615

Asigurați-vă de atașarea la microscop a unor filtre de excitație și emisie adecvate care acoperă lungimile de undă enumerate mai sus. Utilizați un filtru cu bandă de trecere triplă DAPI/spectru verde/spectru roșu sau un filtru cu bandă de trecere dublă spectru verde/spectru roșu pentru vizualizarea simultană optimă a fluoroforilor de culoare verde și roșie. Utilizați un filtru cu o singură bandă de trecere în spectrul aqua pentru vizualizarea optimă a spectrului aqua sau un filtru cu trei benzi de trecere în spectrul roșu/verde/aqua pentru vizualizarea simultană a fluoroforilor de culoare verde, roșie și aqua.

Verificați microscopul de fluorescență înainte de utilizare, pentru a vă asigura că acesta funcționează corect. Utilizați ulei de imersie potrivit pentru microscopia de fluorescență și formulat pentru autofluorescență redusă. Evitați amestecul agentului anti-diminuare a colorării DAPI cu uleiul de imersie pentru microscop, deoarece acest lucru ar estompa semnalele. Urmați recomandările producătorului cu privire la durata de viață a lămpii și vârsta filtrelor.

## Prepararea probelor

Kitul este conceput pentru utilizarea pe suspensii de celule de origine hematologică, fixate în soluție Carnoy (metanol/acid acetic 3:1), care sunt preparate în conformitate cu ghidurile laboratorului sau instituției. Preparați probele uscate la aer pe lame de microscop în conformitate cu procedurile standard de citogenetică. *Manualul de laborator de analize citogenetice (Cytogenetics Laboratory Manual)* al AGT (Association of Genetic Technologists) conține recomandări pentru colectarea specimenelor, cultura, recoltarea și crearea lamelor<sup>5</sup>.

## Prepararea soluțiilor

### Soluțiile de etanol

Diluati etanol 100% cu apă purificată în proporțiile indicate mai jos și amestecați bine.

- Etanol 70% - 7 părți etanol 100% la 3 părți apă purificată
- Etanol 85% - 8,5 părți etanol 100% la 1,5 părți apă purificată

Păstrați soluțiile timp de maximum 6 luni la temperatura camerei, într-un recipient ermetic.

### Soluție SSC 2x

Diluati 1 parte soluție SSC 20x cu 9 părți apă purificată și amestecați temeinic. Verificați pH-ul și ajustați la pH de 7,0 prin utilizarea de NaOH sau HCl, după cum este necesar. Păstrați soluția timp de maximum 4 săptămâni la temperatura camerei într-un recipient ermetic.

### Soluție SSC 0,4x

Diluati 1 parte soluție SSC 20x cu 49 părți apă purificată și amestecați temeinic. Verificați pH-ul și ajustați la pH de 7,0 prin utilizarea de NaOH sau HCl, după cum este necesar. Păstrați soluția timp de maximum 4 săptămâni la temperatura camerei într-un recipient ermetic.

### Soluție SSC 2x, Tween-20, 0,05%

Diluati 1 parte soluție SSC 20x cu 9 părți apă purificată. Adăugați 5 µl de Tween-20 per 10 ml și amestecați temeinic. Verificați pH-ul și ajustați la pH de 7,0 prin utilizarea de NaOH sau HCl, după cum este necesar. Păstrați soluția timp de maximum 4 săptămâni la temperatura camerei într-un recipient ermetic.

### Protocolul FISH

(Notă: Asigurați-vă de faptul că expunerea sondei și a contracolorantului la lumină din laborator este limitată în toate momentele temporale.)

### Prepararea lamei

1. Depuneți punctiform proba de celule pe o lamă de microscop din sticlă. Lăsați să se usuce. (Opțional, dacă utilizați o cameră de uscare destinată analizelor citogenetice: lamele trebuie plasate într-o cameră de uscare pentru analize citogenetice. Camera trebuie să funcționeze la aproximativ 25 °C și umiditate de 50% pentru depunerea punctiformă optimă a probei de celule. Dacă nu este disponibilă o cameră de uscare de citogenetică, utilizați ca alternativă o hotă.)
2. Imersați lama în SSC 2x timp de 2 minute la temperatura camerei (RT - room temperature), fără agitare.
3. Deshidratați în serii de etanol (70%, 85% și 100%), fiecare timp de 2 minute la RT.
4. Lăsați să se usuce.

### Pre-denaturarea

5. Scoateți sonda din congelator și lăsați-o să se încălzească până la temperatura camerei. Centrifugați scurt eprubetele înainte de utilizare.
6. Asigurați-vă de faptul că soluția de sondă este amestecată uniform, cu o pipetă.
7. Îndepărtați 10 µl de sondă per test și transferați într-o eprubetă de microcentrifugă. Puneți rapid la loc în congelator sonda rămasă.
8. Plasați sonda și lama cu probă pentru preîncălzire pe o placă fierbinte de 37 °C (+/- 1 °C) timp de 5 minute.
9. Depuneți punctiform 10 µl de amestec de sondă pe proba de celule și aplicați cu atenție o lamelă. Sigilați cu adeziv din soluție de cauciuc și lăsați adezivul să se usuce complet.

### Denaturarea

10. Denaturați simultan proba și sonda prin încălzirea lamei pe o placă fierbinte la 75 °C (+/- 1 °C) timp de 2 minute.

### Hibridizarea

11. Plasați lama într-un recipient umed, impermeabil pentru lumină, la 37 °C (+/- 1 °C) și lăsați-o să stea peste noapte.

### Spălările post-hibridizare

12. Scoateți DAPI din congelator și lăsați să se încălzească la RT.
13. Îndepărtați cu atenție lamela și toate urmele de adeziv.
14. Imersați lama în SSC 0,4x (pH 7,0) la 72 °C (+/- 1 °C) timp de 2 minute fără agitare.
15. Lăsați lama să se scurgă și imersați-o în SSC x2, Tween-20 0,05% la RT (pH 7,0) timp de 30 secunde fără agitare.
16. Lăsați lama să se scurgă și aplicați 10 µl de agent anti-diminuare a colorării DAPI pe fiecare probă.
17. Acoperiți cu o lamelă, îndepărtați orice eventuale bule și lăsați culoarea să se dezvolte la întuneric timp de 10 minute.
18. Vizualizați cu un microscop de fluorescență (consultați secțiunea **Recomandare privind microscopul de fluorescență**).

### Stabilitatea pe lame finite

Lamele finite rămân analizabile timp de maximum 1 lună dacă sunt păstrate la întuneric, la/sub RT.

### Recomandări procedurale

1. Coacerea sau îmbătrânirea lamelor poate reduce semnalul de fluorescență
2. Condițiile de hibridizare pot fi influențate în mod negativ de utilizarea unor reactivi diferiți de cei furnizați sau recomandați de Cytocell Ltd.
3. Utilizați un termometru calibrat pentru măsurarea temperaturii soluțiilor, băilor de apă și incubatoarelor, deoarece aceste temperaturi sunt critice pentru performanța optimă a produsului.

4. Concentrațiile, pH-ul și temperaturile de spălare sunt importante, deoarece o strictețe redusă poate avea ca rezultat atașarea nespecifică a sondei, iar o strictețe prea mare poate avea ca rezultat lipsa de semnal
5. Denaturarea incompletă poate avea ca rezultat lipsa de semnal, iar denaturarea excesivă poate avea ca rezultat atașarea nespecifică
6. În urma hibridizării excesive se pot forma semnale suplimentare sau neașteptate
7. Înainte de utilizarea testului în scopuri diagnostice, utilizatorii trebuie să optimizeze protocolul pentru propriile lor probe
8. Condițiile suboptimale pot avea ca rezultat atașarea nespecifică, care poate fi interpretată eronat ca semnal al sondei

#### Interpretarea rezultatelor

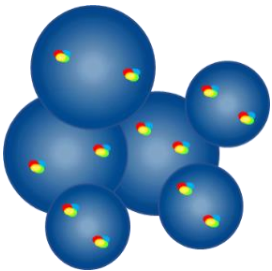
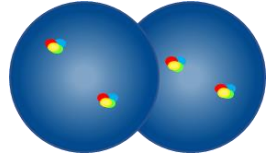
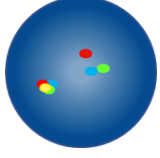
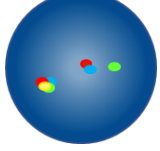
##### Evaluarea calității lamei

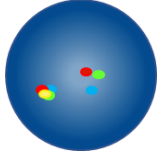
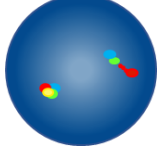
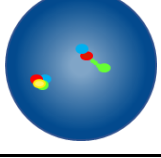
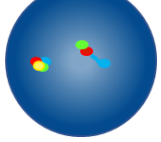
Lama nu trebuie analizată dacă:

- Semnalele sunt prea slabe pentru a fi analizate în filtre unice - pentru a continua analiza, semnalele trebuie să apară luminoase, distincte și ușor evaluabile
- Există un număr mare de celule agregate/suprapuse care obstrucționează analiza
- >50% dintre celule nu sunt hibridizate
- Există un exces de particule fluorescente între celule și/sau o ceață fluorescentă care interferează cu semnalele - în lamele optime, fundalul trebuie să apară întunecat sau negru și curat
- Marginile nucleilor celulelor nu pot fi distinse și nu sunt intacte

##### Linii directe privind analiza

- Fiecare probă trebuie analizată și interpretată de doi analiști. Orice discrepanță trebuie rezolvată prin evaluarea de către un al treilea analist
- Fiecare analist trebuie să fie calificat adecvat în conformitate cu standardele recunoscute la nivel național
- Fiecare analist trebuie să atribuie un scor în mod independent unui număr de 100 de nuclee pentru fiecare probă. Primul analist trebuie să înceapă analiza din partea stângă a lamei, iar cel de-al doilea analist, din partea dreaptă
- Fiecare analist trebuie să își documenteze rezultatele în fișe separate
- Analizați numai nucleele intacte, nu și pe cei suprapuși sau aglomerați sau nuclee acoperiți de resturi citoplasmice sau cu un grad ridicat de autofluorescență
- Evitați zonele în care există un exces de resturi citoplasmice sau hibridizare nespecifică
- Intensitatea semnalului poate varia, chiar și în cazul unui singur nucleu. În astfel de cazuri, utilizați filtre unice și/sau ajustați planul focal
- În condiții suboptimale, semnalele pot apărea difuze. Dacă două semnale de aceeași culoare se ating unul pe celălalt, sau dacă distanța dintre ele nu este mai mare decât două lățimi de semnal, sau atunci când există un fir slab care conectează cele două semnale, considerați ca un singur semnal
- Atunci când analizați sonde descompuse în trei culori, dacă există un spațiu între semnalele roșu, verde și albastru, dar care nu este mai mare decât lățimea a două semnale, considerați ca semnal nerearanjat/fuzionat
- Dacă aveți orice dubii cu privire la caracterul analizabil al unei celule, nu o analizați

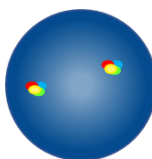
Linii directe privind analiza	
	Nu se analizează — nucleele se află prea aproape unele de celelalte pentru a le putea determina hotarele
	Nucleele suprapuse nu se analizează — nu sunt vizibile toate zonele celor două nuclee
	Considerați ca 2 semnale de fuziune — breșa dintre semnalul roșu și cel verde/albastru este mai mică decât lățimea a două semnale
	Considerați ca 2 semnale de fuziune — breșa dintre semnalul verde și cel roșu/albastru este mai mică decât lățimea a două semnale

	Considerați ca 2 semnale de fuziune — breșa dintre semnalul albastru și cel roșu/verde este mai mică decât lățimea a două semnale
	Considerați ca 2 semnale de fuziune — în cadrul fuziunii din dreapta sus semnalul roșu este difuz
	Considerați ca 2 semnale de fuziune — în cadrul fuziunii din dreapta sus semnalul verde este difuz
	Considerați ca 2 semnale de fuziune — în cadrul fuziunii din dreapta sus semnalul albastru este difuz

#### Rezultate așteptate

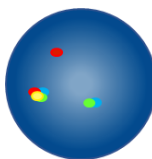
Strategia de utilizare a trei culori permite evidențierea prezenței unei translocății sau inversii și permite distingerea fiecărui tip aparte de rearanjament.

#### Tiparul de semnale normal așteptat

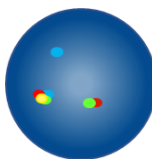


Într-o celulă normală se așteaptă detectarea a două semnale co-localizate roșu/verde/albastru (2RVA).

#### Modele de semnale anormale așteptate



Într-o celulă cu translocăție  $t(3;nn)(q21;nn)$ , modelul așteptat de semnale este: un semnal roșu, un semnal de fuziune verde/albastru și un semnal de fuziune roșu/verde/albastru (1R, 1VA, 1RVA).



Într-o celulă cu o inversie  $inv(3)(q21q26.2)$ , modelul așteptat de semnale este: un semnal de fuziune roșu/verde, un semnal separat albastru și un semnal de fuziune roșu/verde/albastru (1RV, 1A, 1RVA).

Sunt posibile alte tipare de semnale în speciemenle cu aneuploidie/neechilibrate.

#### Reactivitate încrucișată cunoscută

Nu este cunoscută nicio reactivitate încrucișată.

#### Raportarea evenimentelor adverse

Dacă credeți că dispozitivul a funcționat necorespunzător sau a suferit o deteriorare a caracteristicilor de performanță, care este posibil să fi contribuit la producerea unui eveniment advers (de exemplu, diagnosticare întârziată sau eronată, tratament întârziat sau inadecvat), acest lucru trebuie raportat imediat producătorului (**e-mail**: [vigilance@ogt.com](mailto:vigilance@ogt.com)).

Dacă acest lucru este aplicabil, evenimentul trebuie raportat, de asemenea, autorității competente la nivel național. O listă de puncte de contact de urgență se găsește la: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

## Caracteristici de performanță specifice

### Specificitatea analitică

Specificitatea analitică este procentul de semnale care se hibridizează la locusul corect și nu în altă locație. Specificitatea analitică a fost stabilită prin analizarea unui total de 200 locusuri țintă. Specificitatea analitică a fost calculată ca numărul de semnale FISH care se hibridizează la locusul corect împărțit la numărul total de semnale FISH hibridizate.

Tabelul 1. Specificitatea analitică a sondei EVI1 Breakapart Probe

Sonda	Locusul țintă	Nr. de semnale hibridizate la locusul corect	Nr. total de semnale hibridizate	Specificitatea (%)
Roșu EVI1	3q26	200	200	100
Verde EVI1	3q26	200	200	100
Albastru EVI1	3q26	200	200	100

### Sensibilitatea analitică

Sensibilitatea analitică este procentul de celule de interfază cărora li se poate atribui un scor cu tiparul de semnale normal așteptat. Sensibilitatea analitică a fost stabilită prin analizarea celulelor în interfază din diferite probe normale. Sensibilitatea a fost calculată ca procentul de celule cărora li se poate atribui un scor cu tiparul de semnale așteptat (cu un interval de încredere de 95%).

Tabelul 2. Sensibilitatea analitică a sondei EVI1 Breakapart Probe

Nr. de celule cu tipare de semnale așteptate	Nr. de celule cu semnale cărora li se poate atribui un scor	Sensibilitatea (%)	Interval de încredere de 95%
4957	5000	99,14	98,84 – 99,36

### Caracterizarea valorilor limită de normalitate

Valoarea limită de normalitate, în asociere cu sondele FISH, este procentul maxim de celule în interfază cărora li se poate atribui un scor cu un tipar de semnale normal specific la care proba este considerată normală pentru tiparul de semnale respectiv.

Valoarea normală de referință a fost stabilită în baza probelor fără rearanjamentul pentru detecția căruia este prevăzută sonda, utilizând funcția inversă beta. Două analiști independenți au înregistrat pentru fiecare probă modelele de semnale a 100 de nuclei în interfază, astfel fiind obținute câte 200 de înregistrări pentru fiecare probă.

Tabelul 3. Caracterizarea valorilor normale de referință ale sondei EVI1 Breakapart Probe

Tipar de semnale anormal	Numărul de probe analizate pentru generarea valorii de referință	Numărul de nuclei analizați într-o probă	Numărul maxim de modele de semnale fals pozitive	Valoarea normală de referință (%)
1R, 1VA, 1RVA	25	200	3	4
1RV, 1A, 1RVA	25	200	3	4

Laboratoarele trebuie să verifice valorile de referință în baza propriilor date<sup>6,7</sup>.

### Reproductibilitatea

Reproductibilitatea a fost stabilită în trei laboratoare independente, în care au fost analizate șase probe mascate (două probe fără rearanjament, două probe cu pozitivitate slabă de 1-3 ori mai mare decât valoarea de referință și două probe cu pozitivitate înaltă — cu prezența rearanjamentului în peste 45% dintre celule). Analiza a fost efectuată folosind două replicare ale fiecărei probe în decursul a cinci zile neconsecutive.

În toate cele trei laboratoare, au fost comparate rezultatele obținute cu același set de sonde în diferite momente ale aceleiași zile, în zile diferite și în laboratoare diferite, iar unul dintre laboratoare a determinat, de asemenea, reproductibilitatea rezultatelor obținute cu trei seturi de sonde diferite.

Reproductibilitatea a fost calculată în baza concordanței între variabilele analizate în timpul fiecărui test.

Tabelul 4. Reproductibilitatea și precizia sondei EVI1 Breakapart Probe

Semnal	Studiul de reproductibilitate	Proba	Concordanța (%)
Inversare (1RV, 1A, 1RVA)	În aceeași zi / în zile diferite / în laboratoare diferite	Negativă	100
		Înalt pozitivă	100
	Seturi de sonde diferite	Negativă	92
		Înalt pozitivă	100
Translocația (1R, 1VA, 1RVA)	În aceeași zi / în zile diferite / în laboratoare diferite	Negativă	100
		Înalt pozitivă	100
	Seturi de sonde diferite	Negativă	100
		Înalt pozitivă	100

### Performanța clinică

Performanța clinică a fost stabilită în baza unui set reprezentativ de pacienți neselectați, care au primit trimitere la investigații în legătură cu LAM sau SMD, fiind colectate 100 de specimene. Ratele de incidență a rearanjamentelor detectate cu această sondă au fost comparate cu cele prezentate în literatură.

Pentru efectuarea acestei comparații, intervalul de încredere indicat în literatură într-un set de 100 de probe a fost calculat în baza testării proporțiilor pentru 1 eșantion cu corecție de continuitate.

Tabelul 5. Performanța clinică a sondei EVI1 Breakapart Probe

Rearanjament	Prevalența			
	Analiza literaturii (%)	Limita inferioară a intervalului de încredere 95% (%)	Studiu clinic (%)	Limita superioară de încredere 95% (%)
LAM cu rearanjamente inv(3)/t(3;3)/MECOM	1,3	0,1	4	6,7
SMD cu rearanjamente MECOM	0,4	0		5,3

### Informații suplimentare

Pentru informații suplimentare referitoare la produs, vă rugăm să contactați departamentul de asistență tehnică CytoCell.

Tel: +44 (0)1223 294048









E-mail: techsupport@cytozell.com

Internet: www.ogt.com

### Referințe

1. Soderholm *et al.*, Leukemia 1997;11:352-358
2. Bobadilla *et al.*, Br J Haematol 2007;136:806-813
3. Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
4. Pedersen-Bjergaard *et al.*, Leukemia 2008;22:240-248
5. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
6. 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.
7. 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.

**Ghidul simbolurilor**

<b>REF</b>	<b>ro:</b> Număr de catalog
	<b>ro:</b> Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro
	<b>ro:</b> Seria de fabricație
	<b>ro:</b> Consultați instrucțiunile de utilizare
	<b>ro:</b> Producător
	<b>ro:</b> Data de expirare
	<b>ro:</b> Limită de temperatură
	<b>ro:</b> A se feri de lumina solară
	<b>ro:</b> Conține o cantitate suficientă pentru <n> teste
<b>CONT</b>	<b>ro:</b> Conținut

**Brevete și mărci comerciale**

CytoCell este o marcă înregistrată a CytoCell Ltd.



**CytoCell Ltd.**  
3-4 Technopark  
Newmarket Road  
Cambridge, CB5 8PB, Marea Britanie.  
**Tel:** +44(0)1223 294048  
**Fax:** +44(0)1223 294986  
**E:** probes@cytoCell.com  
**Internet:** www.ogt.com