A Sysmex Group Company

CytoCell

Instruções de Utilização (IFU)

REF: CE-LPH 011-S / CE-LPH 011

ATM Deletion Probe

CE IVD
2797

APENAS PARA USO PROFISSIONAL

ogt.com/IFU

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

Utilização Prevista
A ATM Deletion Probe da CytoCell® é um teste qualitativo não automatizado de hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) utilizado para detetar deleções cromossómicas na região 11q22.3 no cromossoma 11 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 linfocítica crónica (LLC).

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 deleção de *ATM* seria importante para a gestão clínica.

Limitações
Este dispositivo destina-se a detetar perdas genómicas superiores à região abrangida pelo clone vermelho neste conjunto de sondas, o que inclui a região *ATM*. As perdas genómicas fora desta região ou as perdas parciais desta região poderão não ser detetadas 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 à utilização profissional em laboratório.
O não cumprimento do protocolo pode afetar o desempenho do produto e dar origem a falsos resultados positivos/negativos.

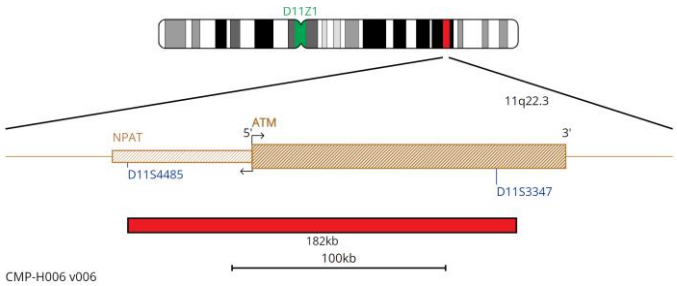
Princípios do Teste
A hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) é uma técnica que permite detetar sequências de ADN em cromossomas metafásicos ou em núcleos interfásicos de amostras citogenéticas fixadas. A técnica recorre a sondas de ADN que se hibridizam com cromossomas inteiros ou sequências 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 emparelhamento 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 da proteína quinase *ATM* (*quinase serina/treonina ATM*) na 11q22.3 é frequentemente deletado nos casos de leucemia linfocítica crónica (LLC) de células B. O *ATM* é um gene de controlo importante envolvido na gestão dos danos celulares. A sua função é avaliar o nível de danos no ADN da célula e tentar repará-los através de substratos fosforilantes chave envolvidos na via de resposta a danos no ADN[1].

A LLC-B é a leucemia mais frequente nos adultos; a sua evolução pode variar desde muito indolente a rapidamente progressiva. Devido à baixa atividade mitótica das células leucémicas *in vitro*, são detetadas anomalias cromossómicas clonais em 40–50%[2] dos casos por citogenética convencional utilizando mitógenos de células B, ao passo que a análise por FISH identifica aberrações cromossómicas em aproximadamente 80%[2] dos casos de LLC-B. O rastreio de deleções do *ATM* e/ou *TP53* é vital para permitir escolhas terapêuticas informadas para doentes com LLC-B, dado que as deleções do *TP53* e do *ATM* conferem um prognóstico mais desfavorável nesta doença[4]; consequentemente, a utilização da FISH demonstrou ser uma ferramenta poderosa tanto no diagnóstico como no tratamento de doentes com LLC-B[2,3,4].

A análise da interação *ATM/TP53* na LLC-B revelou que o *TP53* e o *ATM* desempenham uma função importante na proliferação do cancro linfoide[1]. Verificou-se que o *ATM* melhora a fosforilação do *TP53*, caso os danos sejam tão significativos ao ponto de ser necessário destruir a célula por apoptose (que é mediada pelo *TP53*). A deleção do *ATM* elimina esta atividade de controlo e, consequentemente, a ativação do *TP53*. Assim, não existe qualquer tentativa de reparar as células danificadas, nem de apoptose das mesmas, apesar da presença do *TP53*. Na ausência do *ATM*, as células danificadas podem continuar a proliferar-se[5].

Especificação da Sonda
ATM, 11q22.3, Vermelho
D11Z1, 11p11.11-q11, Verde



A sonda de ATM é de 182 kb, marcada a vermelho, e abrange a extremidade telomérica do gene *NPAT* e a extremidade centromérica do gene *ATM* até justamente além do marcador D11S3347. A mistura de sondas também contém uma sonda de controlo para o centrómero 11 (D11Z1) marcada a verde.

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 hibridização (<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 soluções de sonda contêm formamida, que é um teratógeno. Não inale vapores provenientes das mesmas nem permita o contacto com a pele. Manuseie com cuidado. Utilize 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.
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 Hybridisation Solution 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 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–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$_{máx}$ [nm]	Emissão$_{máx}$ [nm]
Verde	495	521
Vermelho	596	615

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 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 em solução 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[6].

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 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 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 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. 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 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 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 e resistente à luz a 37 °C (+/-1 °C) durante a noite.

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 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 a cor desenvolver-se 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 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, banhos-maria e incubadoras, visto que estas temperaturas são críticas para o desempenho ideal 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 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

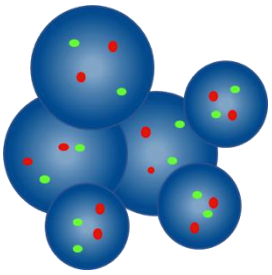
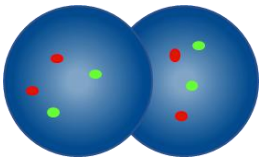
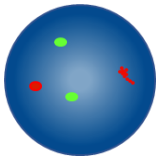
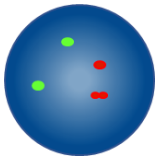
Avaliação da Qualidade das Lâminas

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.

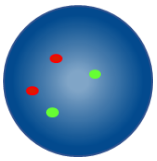
Diretrizes para a Análise

- 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.
- Quando analisar sondas de quebra de duas cores, se houver um intervalo entre os sinais vermelho e verde não superior à largura de 2 sinais, conte-os como sinais não rearranjados/fundidos
- Quando analisar sondas de quebra de três cores, se houver um intervalo entre qualquer um dos sinais 3 sinais (vermelho, verde, azul) não superior à largura de 2 sinais, conte-os como sinais não rearranjados/fundidos
- 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 sinal

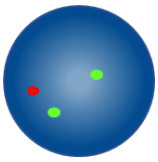
Resultados Esperados

Padrão de sinais normal esperado



Numa célula normal, espera-se dois sinais vermelhos e dois sinais verdes (2Verm2Verd).

Padrão de sinais anormal esperado



Numa célula com uma deleção de ATM, espera-se um sinal vermelho e dois sinais verdes (1Verm2Verd).

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

Interferências/Substâncias Interferentes Relevantes Conhecidas

Sem interferências/substâncias interferentes relevantes conhecidas.

Reatividade Cruzada Conhecida

A sonda de D11Z1 verde pode apresentar sinais de hibridização cruzada com 1c, Xc e 17c.

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 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 ATM Deletion Probe

Alvo	Número de cromossomas metafásicos hibridizados	Número de loci corretamente hibridizados	Especificidade Analítica	Intervalo de Confiança de 95%
11q22.3	200	200	100%	98,12–100%
11p11.11-11q11	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 100 células interfásicas para cada uma das 25 suspensões de células fixas de medula óssea e 25 suspensões de células fixas de sangue periférico, resultando num mínimo de 2500 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 ATM Deletion Probe

Tipo de Amostra	Critérios de Sensibilidade	Resultado da Sensibilidade
Medula óssea	>95%	97,48% (96,58–98,38%)
Sangue periférico	>95%	96,88% (95,60–98,16%)

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 100 células interfásicas para cada uma das 25 suspensões de células fixas de medula óssea e 25 suspensões de células fixas de sangue periférico, resultando num mínimo de 2500 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 ATM Deletion Probe

Tipo de Amostra	Resultado de Cut-off
Medula óssea	9,77%
Sangue periférico	10,58%

Os laboratórios têm de verificar os valores de cut-off utilizando os seus próprios dados[7,8].

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).

Foram utilizadas duas amostras para avaliar a precisão deste produto: uma amostra negativa de medula óssea e uma amostra positiva baixa de medula óssea fabricada, criada para desafiar o produto à volta do valor de cut-off estabelecido.

Para estabelecer as precisões interdiária e intradiária, as amostras foram avaliadas em 10 datas não consecutivas e, para estabelecer a precisão de lote para lote, foram avaliados três lotes do produto com três 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 ATM Deletion Probe

Variável	Tipo de amostra	Concordância
Reprodutibilidade intradiária (amostra para amostra) e interdiária (dia para dia)	Negativa de medula óssea	100%
	Positiva baixa de medula óssea	100%
Reprodutibilidade de lote para lote	Negativa de medula óssea	100%
	Positiva baixa de medula óssea	100%

Desempenho Clínico

Para assegurar que o produto deteta os rearranjos pretendidos, o desempenho clínico foi estabelecido através de três estudos, com amostras representativas da população pretendida para o produto: material fixado com 3:1 de metanol/ácido acético de espécimes derivados do sangue. O tamanho da amostra para o estudo foi de 27 espécimes, com a população-alvo de 13 espécimes positivos e 14 espécimes negativos, composta por 11 amostras negativas de medula óssea, 3 amostras negativas de sangue periférico, 10 amostras positivas de medula óssea e 3 amostras positivas de sangue periférico. 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 ATM Deletion Probe

Variável	Resultado
Sensibilidade clínica (taxa de verdadeiros positivos, TPR)	100,00%
Especificidade clínica (taxa de verdadeiros negativos, TNR)	100,00%
Taxa de falsos positivos (FPR) = 1 – Especificidade	0,00%

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: 50558449LPH011J4

Se a Eudamed não estiver totalmente funcional, o SSP será disponibilizado para o público mediante solicitação para o e-mail SSP@ogt.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@cytocell.com
W: www.ogt.com

Bibliografia

1. Stankovic, *et al*. Blood. 2004;103(1):291-300.
2. Dohner, *et al*. N Eng J Med. 2000;343:1910-1916.
3. Zent, *et al*. Blood. 2010;115(21):4154-4155.
4. Rossi, *et al*. Blood. 2013;121(8):1403-1412.
5. Khanna, *et al*. Nature Genetics. 1998;20(4):398-400.
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.

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
 ogt.com/IFU	**pt:** Consultar as instruções de utilização eletrónicas	5.4.3
	**pt:** Cuidado	5.4.4
	**pt:** Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*	5.5.1
	**pt:** Suficiente para <n> testes	5.5.5
	**pt:** Identificação única do dispositivo	5.7.10

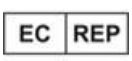
Símbolos EDMA para reagentes e componentes IVD, revisão de outubro de 2009		
Símbolo	**Título**	**Número(s) de Referência**
	**pt:** Conteúdo (ou contém)	N/D

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
E: probes@cytocell.com
W: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Deelböge 19 D
22297 Hamburg
ALEMANHA

W: www.sysmex-europe.com

Histórico de Versões das IFU
V001 2026-10-29: Novas IFU para Regulamento (UE) 2017/746