A Sysmex Group Company

CytoCell

Instrucțiuni de utilizare (IFU)

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

Sonda ATM Deletion Probe

CE IVD
2797

NUMAI PENTRU UTILIZARE PROFESIONALĂ

ogt.com/IFU

Informații suplimentare și în alte limbi sunt disponibile pe ogt.com/IFU

Destinație de utilizare
CytoCell® ATM Deletion Probe este un test calitativ, ne-automatizat de hibridizare fluorescentă *in situ* (FISH), utilizat pentru detecția delețiilor cromozomiale în regiunea 11q22.3 a cromozomului 11 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 limfocitară cronică (LLC).

Indicații de utilizare
Acest dispozitiv 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 deleția *ATM* poate fi importantă pentru alegerea strategiei de gestionare clinică.

Limitări
Acest dispozitiv este conceput pentru a detecta deleții ale unor fragmente genomice mai mari decât regiunea de care se atașează clona roșie din acest set de sonde, care include regiunea *ATM*. Este posibil ca delețiile din afara acestei regiuni sau delețiile parțiale să nu fie detectate cu acest dispozitiv.
Acest dispozitiv nu este destinat pentru: utilizarea ca mijloc de diagnosticare de sine stătător, testare prenatală, screening la nivel de populație, testare la locul de acordare a asistenței medicale sau autotestare.
Acest dispozitiv nu a fost validat pentru utilizarea pe tipuri de probe, pe alte tipuri de boli sau în alte scopuri decât cele specificate în destinația de utilizare.
Este destinat ca test complementar altor teste diagnostice de laborator, iar acțiunea terapeutică nu trebuie inițiată exclusiv pe baza rezultatului FISH.
Raportarea și interpretarea rezultatelor FISH trebuie să fie făcute de către personal calificat corespunzător, concordante cu standardele de practică profesionale și trebuie să ia în considerare alte rezultate ale testelor relevante, informații clinice și diagnostice.
Acest dispozitiv este destinat numai pentru utilizare profesională de laborator.
Nerespectarea protocolului poate afecta performanța și poate duce la rezultate fals pozitive/negative.

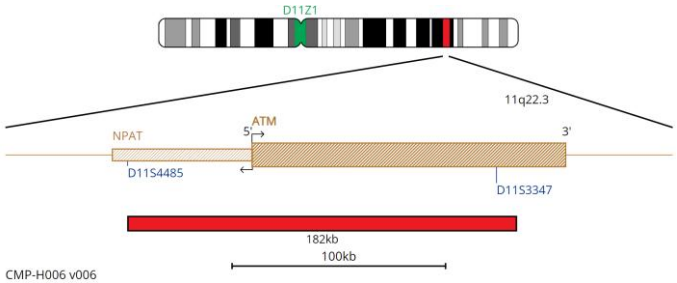
Principiul testului
Hibridizarea fluorescentă *in situ* (FISH) este o tehnică care permite detecția secvențelor de ADN pe cromozomii în metafază sau nucleii în interfază din probe citogenetice fixate. Această tehnică presupune utilizarea sondelor de ADN care se hibridizează la cromozomi întregi sau la 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
Deleția genei proteinkinazei ATM (*serin/treonin-kinaza ATM*), localizate în regiunea 11q22.3, se întâlnește frecvent la pacienții cu leucemie limfocitară cronică (LLC) cu celule B. ATM este o importantă genă-punct de control, implicată în gestionarea deteriorării celulare. Funcția ei este de a determina nivelul de deteriorare a ADN-ului în celulă și de a încerca repararea acestuia prin fosforilarea substraturilor principale care participă în căile de răspuns la deteriorarea ADN-ului[1].

LLC-B este cel mai frecvent tip de leucemie la adulți; evoluția sa poate varia de la foarte indolent până la rapid progresiv. Datorită activității mitotice în celulele leucemice *in vitro*, anomaliile clonale cromozomiale sunt detectate în 40-50%[2] dintre cazuri prin teste citogenetice convenționale cu mitogene ale celulelor B, în timp ce cu ajutorul analizei FISH aberațiile cromozomiale sunt identificate în aproximativ 80%[2] dintre cazurile de LLC-B. Screeningul pentru detectarea delețiilor *ATM* și/sau *TP53* este esențial pentru o alegere informată a terapiei pentru pacienții cu LLC-B, deoarece delețiile TP53 și ATM sunt asociate cu un prognostic mai slab al acestei boli[4]; așadar, utilizarea FISH s-a dovedit a fi un instrument eficace în diagnosticul și gestionarea pacienților cu LLC-B[2,3,4].

Analiza interacțiunii *ATM/TP53* în caz de LLC-B a arătat că TP53 și *ATM* joacă un rol important în proliferarea cancerului limfoid[1]. A fost demonstrat că *ATM* intensifică fosforilarea *TP53* în cazurile în care deteriorarea este atât de masivă încât este nevoie de distrugerea celulei prin apoptoză (mediată de *TP53*). Deleția *ATM* înlătură această activitate de punct de control și, respectiv, activarea *TP53*. În consecință, nu se face nicio încercare de reparare sau apoptoză a celulelor deteriorate, în ciuda prezenței *TP53*. În absența ATM, celulele deteriorate sunt lăsate să prolifereze în continuare[5].

Specificații privind sonda
ATM, 11q22.3, roșu
D11Z1, 11p11.11-q11, verde



Sonda ATM este marcată cu roșu și constă din 182 kb, care se atașează la capătul telomeric al genei *NPAT* și capătul centromeric al genei *ATM* până imediat după markerul D11S3347. Setul de sonde conține, de asemenea, o sondă de control pentru centromerul 11 (D11Z1), marcată cu verde.

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 (< 65% formamidă; < 20 mg dextran sulfat; < 10% de soluție salină - citrat de sodiu (SSC)) 20x și sunt gata de utilizare.

Contracolorant: 150 µl per flacon (15 teste)
Contracolorantul este DAPI Antifade ES (0,125µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol) în mediu de montare pe bază de glicerol).

Atenționări și precauții
1. Pentru diagnosticare *in vitro*. Numai pentru utilizare profesională în laborator.
2. 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.
3. Manevrați DAPI cu atenție; purtați mănuși și halat de laborator.
4. Nu utilizați dacă flaconul/flacoanele este/sunt deteriorat/e sau conținutul flaconului este compromis în orice fel.
5. Respectați reglementările locale de eliminare pentru locația dvs., împreună cu recomandările din fișa cu date de securitate, pentru a determina modul sigur de eliminare a acestui produs. Acest lucru este valabil și pentru conținutul deteriorat al kitului de testare.
6. Eliminați toți reactivii utilizați și orice alte materiale de unică folosință contaminate în conformitate cu procedurile pentru deșeuri infecțioase sau potențial infecțioase. Este responsabilitatea fiecărui laborator să manipuleze deșeurile solide și lichide în funcție de natura și gradul lor de periculozitate și să le trateze și să le elimine (sau să dispună tratarea și eliminarea lor) în conformitate cu toate reglementările aplicabile.
7. Operatorii trebuie să fie capabili să distingă culorile roșu, albastru și verde.
8. Nerespectarea protocolului specificat, inclusiv a indicațiilor privind reactivii, poate afecta performanța și poate duce la rezultate fals pozitive/negative.
9. Sonda nu trebuie diluată sau amestecată cu alte sonde.
10. Neutilizarea a 10 µl de sondă la etapa de pre-denaturare a protocolului poate afecta performanța și poate duce la rezultate fals pozitive/negative.
11. Toate produsele trebuie validate înainte de utilizare.
12. Controalele interne trebuie efectuate prin utilizarea unor populații de celule neafectate în probele de testare.

Definiții pentru temperatură

• -20 °C / Congelat / În congelator:	între -25 °C și -15 °C
• 37 °C:	+37 °C ± 1 °C
• 72 °C:	+72 °C ± 1 °C
• 75 °C:	+75 °C ± 1 °C
• Temperatura camerei (TC):	între +15 °C și +25 °C

Păstrare și manevrare



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



Sonda FISH, contracolorantul DAPI Antifade ES și soluția de hibridizare rămân stabile de-a lungul ciclurilor de congelare-decongelare prin care trec în timpul utilizării normale (unde un ciclu reprezintă scoaterea flaconului din congelator și repunerea acestuia în congelator) - 5 cicluri pentru flaconul de 50 µl (5 teste) de sondă FISH, 10 cicluri pentru flaconul de 100 µl (10 teste) de sondă FISH și 15 cicluri pentru flaconul de 150 µl (15 teste) de contracolorant. Expunerea la lumină trebuie să fie redusă la minimum și evitată ori de câte ori este posibil. Păstrați componentele în recipientul rezistent la lumină furnizat. Componentele utilizate și păstrate în alte condiții decât cele menționate pe etichetă pot să nu funcționeze conform așteptărilor și pot afecta negativ rezultatele analizei. Trebuie depuse toate eforturile pentru a limita expunerea la lumină și modificările 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 ºC)
2. Micropipete cu volum variabil, calibrate și vârfuri, în intervalul 1 µl - 200 µl
3. Baie de apă cu control precis al temperaturii la 37 ºC și 72 ºC
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. Lame de microscop
14. Lamele de 24x24 mm
15. Cronometru
16. Incubator la 37 ºC
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 sau100x pentru vizualizare optimă. Fluoroforii utilizați în acest set de sonde vor fi excitați și vor emite la următoarele lungimi de undă:

Fluorofor	Excitația$_{max}$ [nm]	Emisia$_{max}$ [nm]
Verde	495	521
Roșu	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.

Verificați microscopul de fluorescență înainte de utilizare, pentru a vă asigura că acesta funcționează corect. Utilizați ulei de imersie care este adecvat pentru microscopia de fluorescență și este 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[6].

Prepararea soluțiilor

Soluțiile de etanol

Diluați etanol 100% cu apă purificată prin utilizarea următoarelor proporții și amestecați temeinic:

- 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

Diluați 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

Diluați 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%

Diluați 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 luminile 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:** 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 ºC (+/- 1 ºC) 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 ºC (+/- 1 ºC) timp de 2 minute.

Hibridizarea

11. Plasați lama într-un recipient umed, impermeabil pentru lumină, la 37 ºC (+/- 1 ºC) 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 ºC (+/- 1 ºC) 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**).

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 temperaturilor 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 legarea 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 exagerată poate avea ca rezultat, de asemenea, legarea nespecifică.

6. Hibridizarea exagerată poate avea ca rezultat semnale suplimentare sau neașteptate.
7. Utilizatorii trebuie să optimizeze protocolul pentru propriile lor probe înainte de utilizarea testului în scopuri diagnostice.
8. Condițiile suboptime pot avea ca rezultat legarea nespecifică, care poate fi interpretată eronat ca semnal al sondei.

Interpretarea rezultatelor

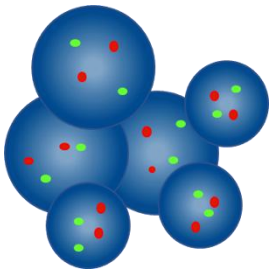
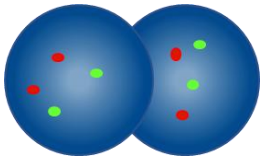
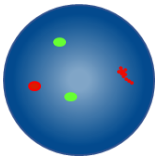
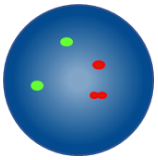
Evaluarea calității lamei

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

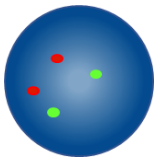
Linii directoare privind analiza

- 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 nuclei 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 nucleii intacți, nu și pe cei suprapuși sau aglomerați sau nucleii acoperiți de resturi citoplasmatice sau cu un grad ridicat de autofluorescență
- Evitați zonele în care există un exces de resturi citoplasmatice 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 suboptime, 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
- La analizarea sondelor de separare în două culori, dacă există o breșă nu mai mare decât lățimea a 2 semnale între semnalele roșu și verde, considerați ca semnal fără rearanjament/fuziune
- La analizarea sondelor de separare în trei culori, dacă există o breșă nu mai mare decât lățimea a 2 semnale între oricare dintre cele 3 semnale (roșu, verde, albastru) considerați ca semnal fără rearanjament/fuziune
- Dacă aveți orice dubii cu privire la caracterul analizabil al unei celule, nu o analizați.

Linii directoare 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 două semnale roșii și două semnale verzi — unul dintre cele două semnale roșii este difuz
	Considerați ca două semnale roșii și două semnale verzi — breșa din unul dintre cele două semnale roșii este mai mică decât lățimea a două semnale

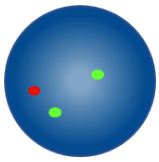
Rezultate așteptate

Tiparul de semnale normal așteptat



Într-o celulă normală se așteaptă detectarea a două semnale roșii și două semnale verzi (2R2V).

Tiparul de semnale anormale așteptat



Într-o celulă cu o deleție ATM, sunt așteptate un semnal roșu și două semnale verzi (1R2V).

În specimene cu aneuploidie/neechilibrate sunt posibile și alte modele de semnale.

Interferențe/Substanțe interferente cunoscute relevante

Nu se cunosc interferențe/substanțe interferente relevante.

Reactivitate încrucișată cunoscută

Sonda verde D11Z1 poate demonstra hibridizare încrucișată cu 1c, Xc și 17c.

Raportarea incidentelor grave

Pentru un pacient/utilizator/terț din Uniunea Europeană și din țările cu un regim de reglementare identic (Regulamentul (UE) 2017/746 privind dispozitivele medicale de diagnostic *in vitro*); dacă, în timpul utilizării acestui dispozitiv sau ca urmare a utilizării acestuia, a avut loc un incident grav, vă rugăm să îl raportați producătorului și autorității naționale competente din țara dvs.
Pentru incidente grave în alte țări, vă rugăm să le raportați producătorului și, dacă este cazul, autorității naționale competente din țara dvs.
Punct de contact de vigilență al producătorului: vigilance@oqt.com
Pentru autoritățile naționale competente din UE, o listă de puncte de contact de vigilență se găsește la:
https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Caracteristici de performanță specifice

Specificitatea analitică

Specificitatea analitică este definită ca procentul de semnale care se hibridizează la locusul corect și nu în altă locație. Au fost analizate patru locusuri cromozomiale în fiecare dintre douăzeci de celule în metafază din cinci probe, rezultând 400 puncte de date. Locația fiecărei sonde hibridizate a fost mapată și a fost înregistrat numărul de semnale FISH de cromozomi în metafază care s-au hibridizat în locusul corect.

Specificitatea analitică a fiecărei sonde din kit a fost calculată ca numărul de semnale FISH de cromozomi în metafază hibridizați la locusul corect împărțit la numărul total de semnale FISH de cromozomi în metafază hibridizați; acest rezultat a fost înmulțit cu 100, a fost exprimat ca procent și i-a fost atribuit un interval de încredere de 95%.

Tabelul 1. Specificitatea analitică a sondei ATM Deletion Probe

Ținta	Numărul de cromozomi în metafază hibridizați	Numărul de locusuri cu hibridizare corectă	Specificitatea analitică	Interval de încredere de 95%
11q22.3	200	200	100%	98,12% -100%
11p11.11-11q11	200	200	100%	98,12% -100%

Sensibilitatea analitică

Sensibilitatea analitică este procentul de celule de interfază cărora li se poate atribui un scor cu tiparul de semnale normal așteptat. A fost analizat un minim de 100 celule în interfază pentru fiecare 25 de suspensii de celule fixate provenite din măduva osoasă și 25 de suspensii de celule fixate din sângele periferic, rezultând un minim de 2500 de nuclei cărora li s-a atribuit un scor pentru fiecare tip de probă. Datele privind sensibilitatea au fost analizate pe baza procentului de celule care prezintă un model așteptat de semnale normal și au fost exprimate ca procent cu un interval de încredere de 95%.

Tabelul 2. Sensibilitatea analitică a sondei ATM Deletion Probe

Tip de probă	Criterii de sensibilitate	Rezultat de sensibilitate
Măduvă osoasă	>95%	97,48% (96,58%-98,38%)
Sânge periferic	>95%	96,88% (95,60%-98,16%)

Caracterizarea valorilor limită de normalitate
Valoarea normală de referință este definită ca procentul de celule care prezintă un model de semnale fals pozitive la care o persoană ar fi considerată normală și care nu este concordant cu un diagnostic clinic. A fost analizat un minim de 100 celule în interfază pentru fiecare 25 de suspensii de celule fixate provenite din măduva osoasă și 25 de suspensii de celule fixate din sângele periferic, rezultând un minim de 2500 de nuclei cărora li s-a atribuit un scor pentru fiecare tip de probă.

Valoarea normală de referință a fost determinată prin utilizarea funcției β-inversă (BETAINV) din MS Excel. Aceasta a fost calculată ca procentul de celule în interfază care prezintă un model de semnale fals pozitive prin utilizarea limitei superioare a unui interval de încredere de 95% unilateral al distribuției binomiale într-o probă de la un pacient normal.

Tabelul 3. Caracterizarea valorilor limită de normalitate ale sondei ATM Deletion Probe

Tip de probă	Rezultat de referință
Măduvă osoasă	9,77%
Sânge periferic	10,58%

Laboratoarele trebuie să verifice valorile de referință în baza propriilor date[7,8].

Precizia
Precizia acestui produs a fost măsurată în termeni de precizie în cadrul aceleiași zile (între probe), precizie între zile diferite (între zile) și precizie între loturi diferite în cadrul aceluiași centru (între loturi).

Pentru evaluarea preciziei acestui produs au fost utilizate două probe: o probă negativă din măduva osoasă și o probă generată, slab pozitivă, din măduva osoasă, creată pentru a provoca produsul în jurul valorii de referință stabilite.

Pentru a stabili precizia între zile diferite și în cadrul aceleiași zile, probele au fost evaluate la 10 date care nu au fost consecutive, iar pentru a stabili precizia între loturi, au fost evaluate trei loturi de produs pe trei replicate ale acelorași probe. Rezultatele au fost prezentate ca fiind concordanța globală cu clasa negativă prezisă (pentru probele negative).

Tabelul 4. Reproductibilitatea și precizia sondei ATM Deletion Probe

Variabilă	Tip de probă	Concordanța
Reproductibilitatea în cadrul aceleiași zile (între probe) și între zile diferite (între zile)	Măduvă osoasă Negativ	100%
	Măduvă osoasă Slab pozitiv	100%
Reproductibilitatea între loturi	Măduvă osoasă Negativ	100%
	Măduvă osoasă Slab pozitiv	100%

Performanța clinică
Pentru a asigura faptul că produsul detectează rearanjamentele de destinație, performanța clinică a fost stabilită în cadrul a trei studii efectuate pe probe reprezentative ale populației de destinație pentru produs: material fixat în metanol/acid acetic 3:1 din probe de origine hematologică. Mărimea eșantionului pentru studiu a fost de 27 de specimene, cu populația țintă de 13 specimene pozitive și 14 specimene negative, compusă din 11 probe provenite din măduvă osoasă negative, 3 probe provenite din sângele periferic negative, 10 probe provenite din măduvă osoasă pozitive și 3 probe provenite din sângele periferic pozitive. Sonda a identificat corect statutul probelor în toate cazurile.

Rezultatele acestor teste au fost analizate pentru a furniza valorile privind sensibilitatea clinică, specificitatea clinică și rata de rezultate fals pozitive (FPR, false positive rate) pentru semnalele pozitive, prin utilizarea unei abordări unidimensionale.

Tabelul 5. Performanța clinică a sondei ATM Deletion Probe

Variabilă	Rezultat
Sensibilitate clinică (rata de rezultate adevărat pozitive - TPR, true positive rate)	100,00%
Specificitate clinică (rata de rezultate adevărat negative - TNR, true negative rate)	100,00%
Rata de rezultate fals pozitive (FPR, false positive rate) = 1 - specificitatea	0,00%

Rezumatul de siguranță și performanță (SSP)
SSP trebuie să fie pus la dispoziția publicului prin Baza de date europeană a dispozitivelor medicale (Eudamed), unde este pus în legătură cu UDI-DI de bază.
URL Eudamed: https://ec.europa.eu/tools/eudamed
UDI-DI de bază: 50558449LPH011J4

Dacă Eudamed nu este complet funcțională, SSP trebuie să fie pus la dispoziția publicului, la cerere, prin solicitare la adresa SSP@ogt.com.

Informații suplimentare
Pentru informații suplimentare referitoare la produs, vă rugăm să contactați departamentul de asistență tehnică CytoCell.
Tel: +44 (0)1223 294048
E: techsupport@cytocell.com
Internet: www.ogt.com

Referințe
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.

Glosarul simbolurilor

EN ISO 15223-1:2021 - „Dispozitive medicale - Simboluri care trebuie utilizate împreună cu informațiile care trebuie furnizate de către producător - Partea 1: Cerințe generale” (© Organizația Internațională pentru Standardizare)		
Simbol	**Titlu**	**Număr/numere de referință**
	**ro:** Producător	5.1.1
	**ro:** Reprezentant autorizat pentru Comunitatea Europeană/Uniunea Europeană	5.1.2
	**ro:** Data de expirare	5.1.4
	**ro**: Seria de fabricație	5.1.5
	**ro:** Număr de catalog	5.1.6
	**ro:** A se feri de lumina solară	5.3.2
	**ro:** Limită de temperatură	5.3.7
	**ro:** Consultați instrucțiunile de utilizare	5.4.3
 ogt.com/IFU	**ro:** Consultați instrucțiunile de utilizare electronice	5.4.3
	**ro:** Precauție	5.4.4
	**ro:** Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro	5.5.1
	**ro:** Conține o cantitate suficientă pentru <n> teste	5.5.5
	**ro:** Identificator unic al dispozitivului	5.7.10
Simboluri EDMA pentru reactivi și componente IVD, revizie octombrie 2009		
Simbol	**Titlu**	**Număr/numere de referință**
	**ro:** Conținut (sau conținuturi)	Nu este cazul

Brevete și mărci comerciale
Cytocell este marcă comercială înregistrată a Cytocell Ltd.



Cytocell Limited
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
MAREA BRITANIE

Tel: +44 (0)1223 294048
E: probes@cytocell.com
W: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Deelböge 19 D
22297 Hamburg
GERMANIA

W: www.sysmex-europe.com

Istoricul versiunilor IFU
V001 2026-10-29: Noi IFU pentru Regulamentul (UE) 2017/746