



A Sysmex Group Company



### Istruzioni per l'uso

RIF: LPH 101-S / LPH 101

## IGH/MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe



SOLO PER USO PROFESSIONALE



www.cytocell.com

Ulteriori informazioni e altre lingue disponibili su [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

### Limitazioni

Il presente dispositivo è ideato per individuare riarrangiamenti con breakpoint nella regione coperta dai doni rosso e verde in questo set di sonde, la quale include i geni *IGH* e *MAF*. I breakpoint esterni a questa regione o riarrangiamenti varianti interamente contenuti in questa regione potrebbero non venire rilevati da questo prodotto.

Il test non è destinato a: utilizzo come diagnostica indipendente, test prenatale, screening basato sulla popolazione, test vicino al paziente o autodiagnosi. Questo prodotto è destinato unicamente a uso professionale di laboratorio; tutti i risultati devono essere interpretati da personale adeguatamente qualificato, prendendo in considerazione altri risultati di test pertinenti.

Questo prodotto non è stato convalidato per l'utilizzo su tipi di campioni o tipi di patologie diversi da quelli specificati nell'uso previsto.

La refertazione e l'interpretazione dei risultati della FISH devono essere coerenti con gli standard professionali della pratica medica e devono prendere in considerazione altre informazioni cliniche e diagnostiche. Questo kit è concepito in aggiunta ad altri test diagnostici di laboratorio e l'azione terapeutica non deve essere messa in atto esclusivamente sulla base del risultato di FISH.

La mancata aderenza del protocollo può incidere sulle prestazioni e portare a risultati positivi/negativi.

Il kit non è stato convalidato per fini diversi dall'uso previsto dichiarato.

### Uso previsto

CytoCell IGH/MAF Translocation, Dual Fusion Probe è un test qualitativo, non automatizzato d'ibridazione *in situ* fluorescente (FISH) utilizzato per rilevare riarrangiamenti cromosomici tra la regione 14q32.3 sul cromosoma 14 e la regione 16q23 sul cromosoma 16 in sospensioni cellulari derivate ematologicamente fissate in soluzione di Carnoy (3:1 metanolo/acido acetico) da pazienti con mieloma multiplo (MM) confermato o sospetto.

### Indicazioni

Questo prodotto è ideato come aggiunta ad altri test clinici e istopatologici in percorsi diagnostici e di cura clinica riconosciuti, dove la conoscenza dello stato di traslocazione di *IGH-MAF* sarebbe importante per la gestione clinica.

### Principi del test

L'ibridazione *in situ* fluorescente (fluorescence in situ hybridization, FISH) è una tecnica che consente di rilevare sequenze di DNA su cromosomi in metafase o in nuclei interfascici di campioni citogenetici fissati. La tecnica prevede l'utilizzo di sonde di DNA in grado di ibridare per cromosomi interi o singole sequenze uniche, e rappresenta un potente strumento in aggiunta all'analisi citogenetica con bandeggio G. Tale tecnica può essere applicata oggi come strumento diagnostico essenziale nell'analisi cromosomica prenatale, ematologica e nei tumori solidi. Il DNA bersaglio, dopo fissazione e denaturazione, è disponibile per l'annealing per una sonda di DNA similmente denaturata, marcata con sostanza fluorescente, a sequenza complementare. Terminata l'ibridazione, la sonda di DNA non legata o legata in modo non specifico viene rimossa e il DNA viene colorato con un colorante di contrasto. L'utilizzo della microscopia a fluorescenza permette quindi la visualizzazione della sonda ibridata sul materiale target.

### Informazioni sulla sonda

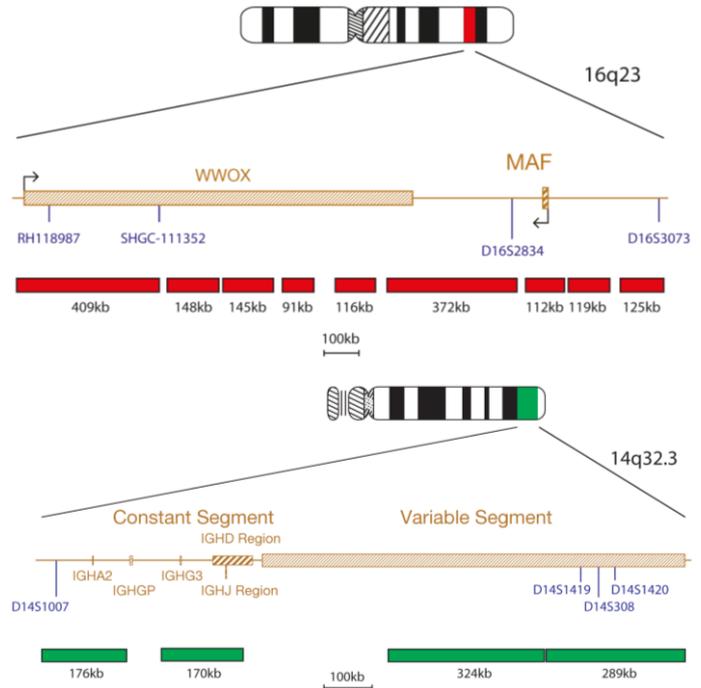
Il gene *MAF* (fattore di trascrizione *MAL bZIP*) è localizzato su 16q23.2 e *IGH* (locus della catena pesante dell'immunoglobulina) su 14q32.33. Circa il 50-60% dei casi di mieloma multiplo (MM) è associato a traslocazioni che coinvolgono *IGH* e uno di diversi partner tra cui *CCND1*, *NSD2 (WHSC1)* e *FGFR3*, *CCND3*, *MAF* oppure *MAFB*<sup>1</sup>. La traslocazione t(14;16) (q32;23) è una traslocazione ricorrente osservata nel 2-10% dei MM<sup>1</sup>.

La maggioranza dei breakpoint si verifica entro l'ultimo intron di *WVVOX* (dominio *WW* contenente ossidriduttasi), centromerica rispetto a *MAF*. Questi breakpoint hanno un impatto duale di posizionamento dell'enhancer *IGH* vicino a *MAF* e che distruggono il gene *WVVOX*<sup>2</sup>. La profilazione dell'espressione genica delle linee cellulari del mieloma ha rilevato che la *MAF* ha causato la transattivazione della ciclina D2 (un promotore della progressione del ciclo cellulare), favorendo quindi la proliferazione di cellule del mieloma<sup>3</sup>.

Secondo la letteratura, i pazienti con MM che presentano t(14;16) mostrano di avere un esito clinico più aggressivo<sup>4,5</sup>.

### Specifiche della sonda

MAF, 16q23, rosso  
IGH, 14q32.3, verde



IGH/MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe consiste di una miscela di sonde *IGH*, marcata in verde, che coprono parti dei segmenti costante, J, D e variabile del gene *IGH* e della miscela di sonde *MAF*, marcata in rosso, che comprende il gene *MAF* e le regioni fiancheggianti nonché il gene *WVVOX*.

### Materiali forniti

**Sonda:** 50 µl per provetta (5 test), 100 µl per provetta (10 test)

Le sonde sono fornite già mescolate nella soluzione d'ibridazione (formamide; destrano solfato; citrato salino di sodio (SSC)) e sono pronte all'uso.

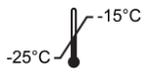
**Colorante da contrasto:** 150 µl per provetta (15 test)

La colorazione con contrasto è DAPI Antifade (ES: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindolo)).

### Avvertenze e misure precauzionali

1. Per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale.
2. Quando si manipolano le sonde ed il colorante di contrasto DAPI è necessario indossare i guanti.
3. Le miscele di sonda contengono formamide, una sostanza teratogena; non respirare fumi ed evitare il contatto con la pelle. Maneggiare con cura; indossare guanti e un camice da laboratorio.
4. DAPI è un potenziale cancerogeno. Maneggiare con cura; indossare guanti e un camice da laboratorio.
5. Eseguire lo smaltimento dei materiali pericolosi nel rispetto delle normative interne dell'istituto relative allo smaltimento dei residui tossici.
6. Gli operatori devono essere in grado di distinguere i colori rosso, blu e verde.
7. La mancata aderenza al protocollo descritto e ai reagenti può incidere sulle prestazioni e portare a risultati falsi positivi/negativi.
8. La sonda non deve essere diluita o mescolata con altre sonde.
9. Il mancato utilizzo di 10 µl di sonda durante lo stadio di pre-denaturazione del protocollo può incidere sulle prestazioni e portare a risultati falsi positivi/negativi.

## Conservazione e utilizzo



Conservare il kit in congelatore a una temperatura compresa tra -25 °C e -15 °C fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta del kit. Conservare i flaconcini della sonda e del colorante di contrasto al buio.



La sonda rimane stabile nel corso dei cicli di congelamento-scioglimento sperimentati durante l'uso normale (dove un ciclo rappresenta la rimozione della sonda dal congelatore e la sua ricollocazione all'interno di quest'ultimo) ed è fotostabile fino a un massimo di 48 ore dopo essere stata esposta a condizioni di illuminazione continue. È necessario intraprendere tutti gli sforzi per limitare l'esposizione a variazioni di luce e temperatura.

## Apparecchiature e materiali necessari ma non forniti

È necessario utilizzare apparecchiature calibrate:

1. Piastra riscaldante (con una piastra solida e controllo accurato della temperatura fino a 80 °C)
2. Micropipette a volume calibrato variabile compreso tra 1 µl - 200 µl
3. Bagno termostato con controllo accurato della temperatura a 37 °C e 72 °C
4. Provette da microcentrifuga (0,5 ml)
5. Microscopio a fluorescenza (riferirsi alla sezione Configurazione ottimale del microscopio a fluorescenza)
6. Microscopio a contrasto di fase
7. Contenitori di Coplin in plastica, ceramica o vetro resistente al calore
8. Pinzette
9. Misuratore calibrato del pH (o strisce indicatrici del pH capace di misurare pH da 6,5 a 8,0)
10. Contenitore umidificato
11. Olio per lenti ad immersione del microscopio a fluorescenza
12. Centrifuga da banco
13. Vetrini da microscopia
14. Coprioggetto 24x24 mm
15. Timer
16. Incubatore a 37 °C
17. Colla per vetrini
18. Miscelatore a vortice
19. Cilindri graduati
20. Agitatore magnetico
21. Termometro calibrato

## Apparecchiature opzionali non fornite

1. Stufa per asciugatura citogenetica

## Reagenti necessari ma non forniti

1. Soluzione 20x di citrato salino di sodio (SSC)
2. 100% etanolo
3. Tween-20
4. 1M sodio idrossido (NaOH)
5. 1M acido idroclorico (HCl)
6. Acqua purificata

## Configurazione ottimale del microscopio a fluorescenza

Per una visualizzazione ottimale della sonda si raccomanda di utilizzare una lampada a mercurio da 100 watt ed obiettivi plan apochromat 60/63x e 100x. I fluorofori utilizzati in questa sonda ecciteranno ed emetteranno alle seguenti lunghezze d'onda:

Fluoroforo	Eccitazione <sub>max</sub> [nm]	Emissione <sub>max</sub> [nm]
Green	495	521
Red	596	615

Assicurare un'eccitazione appropriata e assicurarsi che i filtri di emissione che coprono le lunghezze d'onda elencate sopra siano adatti al microscopio. Utilizzare un filtro triplo bandpass DAPI/spettro green/spettro red o un filtro dual spettro green/spettro red per una visualizzazione simultanea dei fluorofori verdi e rossi.

Controllare il microscopio a fluorescenza prima dell'uso per garantire che stia funzionando correttamente. Utilizzare un olio a immersione adatto alla microscopia a fluorescenza e formulato per bassa autofluorescenza. Evitare di mescolare DAPI Antifade con l'olio a immersione per microscopio poiché questo oscurerà i segnali. Seguire le raccomandazioni del fabbricante in relazione alla vita della lampada e all'età dei filtri.

## Preparazione del campione

Il kit è progettato per l'utilizzo su sospensioni cellulari ematologicamente derivate, fissate in soluzione di Carnoy (3:1 metano/acido acetico), le quali sono preparate secondo le linee guida del laboratorio o dell'istituto. Stendere i campioni essiccati su vetrini da microscopia secondo le procedure citogenetiche standard. L'AGT *Cytogenetics Laboratory Manual*, contiene raccomandazioni per il prelievo, coltura, raccolta di esemplari e per la realizzazione di vetrini<sup>7</sup>.

## Preparazione della soluzione

### Soluzioni di etanolo

Diluire 100% etanolo con acqua purificata utilizzando i seguenti rapporti e miscelare accuratamente:

- 70% etanolo - 7 parti 100% etanolo per 3 parti di acqua purificata
- 85% etanolo - 8,5 parti 100% etanolo per 1,5 parti di acqua purificata

Conservare le soluzioni fino a 6 mesi a temperatura ambiente in un contenitore a chiusura ermetica.

## Soluzione 2xSSC

Diluire 1 parte di soluzione 20xSSC con 9 parti di acqua purificata e miscelare in modo accurato. Controllare il pH e correggere a pH 7,0 mediante NaOH oppure HCl come richiesto. Conservare la soluzione fino a 4 mesi a temperatura ambiente in un contenitore a chiusura ermetica.

## Soluzione 0,4xSSC

Diluire 1 parte di soluzione 20xSSC con 49 parti di acqua purificata e miscelare in modo accurato. Controllare il pH e correggere a pH 7,0 mediante NaOH oppure HCl come richiesto. Conservare la soluzione fino a 4 mesi a temperatura ambiente in un contenitore a chiusura ermetica.

## Soluzione 2xSSC, 0,05% Tween-20

Diluire 1 parte di soluzione 20xSSC con 9 parti di acqua purificata. Aggiungere 5 µl di Tween-20 per 10 ml e miscelare accuratamente. Controllare il pH e correggere a pH 7,0 mediante NaOH oppure HCl come richiesto. Conservare la soluzione fino a 4 mesi a temperatura ambiente in un contenitore a chiusura ermetica.

## Protocollo FISH

(Nota: Durante l'intera procedura limitare l'esposizione della sonda e del colorante di contrasto alle luci di laboratorio).

## Preparazione del vetrino

1. Caricare il campione cellulare su un vetrino da microscopia. Lasciare asciugare il vetrino. **(Opzionale, se si utilizza una stufa per citogenetica:** i vetrini devono essere caricati utilizzando una stufa per citogenetica. La camera deve essere azionata a un'umidità di circa 25 °C e al 50% di umidità per una caricatura del campione cellulare ottimale. Se non è disponibile una stufa per citogenetica, utilizzare una cappa fumaria come alternativa).
2. Immergere il vetrino in 2xSSC per 2 minuti a temperatura ambiente (TA) senza agitazione.
3. Disidratare in una serie di etanolo (70%, 85% e 100%), ciascuna per 2 minuti a TA.
4. Lasciare asciugare il vetrino.

## Pre-denaturazione

5. Rimuovere la sonda dal congelatore e lasciarla riscaldare a TA. Centrifugare brevemente le provette prima dell'uso.
6. Assicurarsi che la soluzione della sonda sia miscelata in modo uniforme mediante una pipetta.
7. Pipettare 10 µl di sonda per test e inserirla in una provetta da microcentrifuga. Riporre velocemente la sonda rimanente nel congelatore.
8. Posizionare la sonda e il vetrino del campione a preriscaldare su una piastra riscaldante a 37 °C (+/- 1 °C) per 5 minuti.
9. Caricare 10 µl di miscela della sonda sul campione cellulare e coprire delicatamente con un coprioggetto. Sigillare con soluzione collante gommosa e far asciugare completamente.

## Denaturazione

10. Denaturare il campione e la sonda contemporaneamente riscaldando il vetrino su una piastra riscaldante a 75 °C (+/- 1 °C) per 2 minuti.

## Ibridazione

11. Posizionare il vetrino su un contenitore umido a prova di luce a 37 °C (+/- 1 °C) durante la notte.

## Lavaggi post-ibridazione

12. Rimuovere il DAPI dal congelatore e lasciarlo riscaldare a TA.
13. Rimuovere attentamente il coprioggetto e tutte le tracce di colla.
14. Lavare il vetrino in 0,4xSSC (pH 7,0) a 72 °C (+/- 1 °C) per 2 minuti, senza agitazione.
15. Scolare il vetrino e lavare in 2xSSC, Tween-20 0,05% (pH 7,0) a TA per 30 secondi senza agitazione.
16. Scolare i vetrini e applicare 10 µl di DAPI antifade su ciascun campione.
17. Coprire con un vetrino coprioggetto, rimuovere eventuali bolle e attendere 10 minuti lasciando il vetrino al buio.
18. Analizzare con un microscopio a fluorescenza (vedere **Configurazione ottimale del microscopio a fluorescenza**).

## Stabilità dei vetrini finiti

I vetrini finiti restano analizzabili per circa 1 mese se conservati al buio a temperatura pari o inferiore a quella ambiente.

## Raccomandazioni per l'uso

1. L'eccessivo riscaldamento o l'invecchiamento dei vetrini potrebbe ridurre la fluorescenza del segnale.
2. Le condizioni di ibridazione potrebbero essere influenzate negativamente dall'impiego di reagenti differenti rispetto a quelli forniti o raccomandati da Cytocell Ltd.
3. L'utilizzo di un termometro calibrato è fortemente raccomandato per la misurazione delle temperature delle soluzioni, dei bagni termostati e degli incubatori in quanto queste temperature sono di fondamentale importanza per la performance ottimale del prodotto.
4. Le concentrazioni del lavaggio (stringenza), il pH e la temperatura sono di fondamentale importanza in quanto condizioni di stringenza blande possono favorire un legame non specifico della sonda e condizioni di stringenza troppo elevate possono condurre alla perdita del segnale.
5. La denaturazione incompleta può tradursi in una perdita del segnale, mentre una denaturazione eccessiva può anche tradursi in un legame non specifico.
6. Come esito di una sovra-ibridazione, possono verificarsi segnali aggiuntivi o imprevisti.

7. Prima di utilizzare il test per obiettivi diagnostici, è necessario ottimizzare il protocollo per i propri campioni.
8. Condizioni sub-ottimali possono avere come esito un legame non specifico che può essere interpretato erroneamente come segnale di sonda.

#### Interpretazione dei risultati

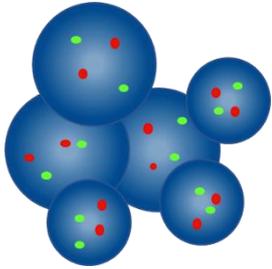
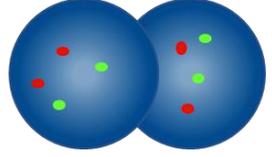
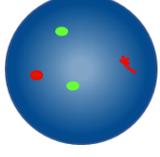
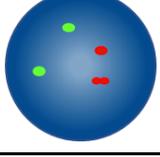
##### Valutazione della qualità dei vetrini

Il vetrino non deve essere analizzato se:

- I segnali sono troppo deboli da analizzare in filtri singoli; al fine di procedere con l'analisi, i segnali devono apparire brillanti, distinti e facilmente valutabili
- Vi sono numerose cellule raggruppate/sovrapposte che impediscono l'analisi
- Il >50% delle cellule non è ibridato
- Vi è un eccesso di particelle fluorescenti tra le cellule e/o una foschia fluorescente che interferisce con i segnali; in vetrini ottimali lo sfondo dovrebbe apparire scuro o nero e pulito
- I confini del nucleo cellulare non possono essere distinti e non sono intatti

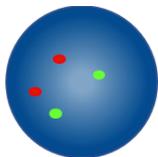
##### Linee guida di analisi

- Ogni campione deve essere analizzato e interpretato da due analisti. Eventuali discrepanze devono essere risolte mediante valutazione da parte di un terzo analista
- Ciascun analista deve essere adeguatamente qualificato secondo gli standard nazionali riconosciuti
- Ciascun analista deve dare indipendentemente un punteggio a 100 nuclei per ciascun campione. Il primo analista deve iniziare l'analisi dal lato sinistro del vetrino e il secondo analista dal lato destro
- Ciascun analista deve documentare i propri risultati in fogli separati
- Analizzare solo nuclei intatti, non sovrapposti o affollati o nuclei coperti da detriti citoplasmatici o da un elevato grado di autofluorescenza
- Evitare aree dove vi è un eccesso di detriti citoplasmatici o ibridazione non specifica
- L'intensità del segnale può variare, anche con un singolo nucleo. In tali casi, utilizzare filtri singoli e/o correggere il piano focale
- In condizioni sub-ottimali, i segnali possono apparire confusi. Se due segnali dello stesso colore si toccano o la distanza tra di loro non è maggiore di due larghezze di segnale, o quando vi è un filamento debole che connette i due segnali, contare come un segnale
- In caso di dubbio se la cellula sia analizzabile o meno, non effettuare l'analisi

Linee guida di analisi	
	Non contare - nuclei troppo vicini l'un l'altro per determinare confini
	Non contare nuclei che si sovrappongono - tutte le aree di entrambi i nuclei non sono visibili
	Contare come due segnali rossi e due segnali verdi - uno dei due segnali rossi è diffuso
	Contare come due segnali rossi e due segnali verdi - lo spazio in un segnale rosso è minore di due lunghezze di segnale

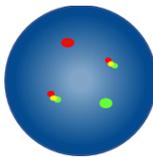
#### Risultati attesi

##### Modello di segnale normale atteso



In una cellula normale, sono attesi due segnali rossi e due segnali verdi (2R, 2V).

##### Modello di segnale anormale atteso



In una cellula con una traslocazione t(14;16)(q32.3;q23), il modello di segnale atteso sarà uno rosso, uno verde e due fusioni (1R, 1V, 2F).

Altri modelli di segnale sono possibili in esemplari aneuploidi/non bilanciati. Notare che in presenza di altri riarrangiamenti di IGH a parte la traslocazione IGH/MAF, il segnale verde di IGH può apparire diviso.

##### Reattività incrociata nota

La sonda IGH verde può mostrare un'ibridazione incrociata rispetto a 15q11.2 e 16p11.2.

##### Segnalazione di eventi avversi

Se si crede che questo dispositivo abbia avuto malfunzionamenti o subito un deterioramento nelle sue caratteristiche di prestazione che possono aver contribuito a un evento avverso (ad es., ritardato o errata diagnosi, ritardato o trattamento inappropriato), ciò deve essere immediatamente segnalato al fabbricante (e-mail: [vigilance@ogt.com](mailto:vigilance@ogt.com)).

Se pertinente, l'evento deve essere segnalato anche alla propria autorità nazionale competente. Un elenco dei punti di contatto di vigilanza è rinvenibile su: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

##### Caratteristiche specifiche di prestazione

###### Specificità analitica

La specificità analitica è definita come percentuale di segnali che si ibridano al locus corretto e nessun'altra localizzazione. Sono stati analizzati quattro loci cromosomici in ciascuna delle venti cellule metafasiche provenienti da cinque campioni, ottenendo 400 punti di dati. È stata mappata la localizzazione di ciascuna sonda ibridata ed è stato registrato il numero di segnali FISH di cromosomi in metafase che si sono ibridati al locus corretto.

La specificità analitica di ciascuna sonda nel kit è stata calcolata come il numero di segnali FISH di cromosomi in metafase che si sono ibridati al locus corretto diviso per il numero totale di segnali FISH ibridati di cromosomi in metafase, tale risultato è stato moltiplicato per 100, espresso come percentuale e dato con un intervallo di confidenza del 95%.

Tavola 1. Specificità analitica per IGH/MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe

Target	Numero di cromosomi in metafase ibridati	Numero di loci correttamente ibridati	Specificità analitica	Intervallo di confidenza del 95%
14q32.3	200	200	100%	98,12% - 100%
16q23	200	200	100%	98,12% - 100%

###### Sensibilità analitica

La sensibilità analitica è la percentuale di cellule interfase a cui è possibile fornire un punteggio con il modello di segnale normale atteso. È stato analizzato un minimo di 200 cellule in interfase per ciascuno dei 25 campioni normali di midollo osseo cariotipicamente fissati negativi per un riarrangiamento di IGH e 25 campioni cellulari di CD138+ negativi per IGH, operazione che ha avuto come esito un minimo di 5000 nuclei valutati per ciascun tipo di campione. I dati relativi alla sensibilità sono stati analizzati in base alla percentuale di cellule che mostra un modello di segnale atteso normale ed espressi come percentuale con un intervallo di confidenza del 95%.

Tavola 2. Sensibilità analitica per IGH/MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe

Tipo di campione	Criteri di sensibilità	Risultati di sensibilità
Midollo osseo	>95%	97,8% ± 0,67%
CD138+	>95%	96,64% ± 0,78%

###### Caratterizzazione dei valori normali di cut off

Il cut off normale è definito come la percentuale di cellule che esibisce un modello di segnale falso positivo per cui un individuo sarebbe considerato normale e non coerente con una diagnosi clinica. È stato analizzato un minimo di 200 cellule in interfase per ciascuno dei 25 campioni normali di midollo osseo cariotipicamente fissati negativi per un riarrangiamento di IGH e 25 campioni cellulari di CD138+ negativi per IGH, operazione che ha avuto come esito un minimo di 5000 nuclei valutati per ciascun tipo di campione.

Il valore di cut off è stato determinato utilizzando la funzione  $\beta$ -inversa (BETAINV) in MS Excel. È stato calcolato come la percentuale di cellule in interfase che mostra un modello di segnale falso positivo utilizzando il limite superiore di un intervallo unilaterale di confidenza del 95% della distribuzione binomiale in un campione normale di pazienti.

**Tavola 3. Caratterizzazione dei valori normali di cut off per IGH/MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe**

Tipo di campione	Risultati di cut off
Midollo osseo	1,5%
CD138+	1,5%

I laboratori devono verificare i valori di cut off utilizzando i propri dati<sup>7,8</sup>.

**Precisione**

La precisione di questo prodotto è stata misurata in termini di precisione intra-giorno (sample-to-sample), precisione inter-giorno (day-to-day) e precisione per sito singolo inter-lotto (lot-to-lot).

Per valutare la precisione di tale prodotto sono stati utilizzati tre campioni; un campione di midollo osseo artificiale normale (estratto da 25 campioni individuali), un campione di CD138+ artificiale normale (estratto da 28 campioni individuali) e un campione di CD138+ basso positivo (2-4x il cut off del prodotto, creato correggendo il normale campione di CD138+ con un positivo noto), il quale è stato utilizzato per mettere il prodotto alla prova in relazione al cut off stabilito).

Per stabilire la precisione inter-giorno e intra-giorno, i campioni sono stati valutati nel corso di cinque date non consecutive e per stabilire la precisione lot-to-lot, sono stati valutati tre lotti del prodotto su quattro repliche degli stessi campioni. I risultati sono stati presentati come l'accordo globale con la classe negativa prevista (per i campioni negativi).

**Tavola 4. Riproducibilità e precisione per IGH/MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe**

Variabile	Tipo di campione	Accordo
Precisione intra-giorno e inter-giorno	Midollo osseo normale (negativo)	100%
	CD138+ normale (negativo)	100%
	CD138+ basso positivo	100%
Precisione lot-to-lot	Midollo osseo normale (negativo)	100%
	CD138+ normale (negativo)	100%
	CD138+ basso positivo	100%

**Prestazione clinica**

Per assicurarsi che il prodotto rilevi i riarrangiamenti desiderati, è stata stabilita la prestazione clinica nel corso di due studi su campioni rappresentativi della popolazione desiderata per il prodotto: uno utilizzando esemplari di CD138+ e uno utilizzando esemplari di midollo osseo. Le dimensioni dei campioni era di venti esemplari per ciascun studio, con la popolazione target di cinque esemplari positivi di fusione IGH-MAF e quindici esemplari negativi di fusione IGH-MAF. Tutti i campioni sono stati identificati e randomizzati per impedire il bias di analisi. I risultati sono stati confrontati allo stato noto del campione. La sonda ha identificato correttamente lo stato dei campioni in tutti i casi.

I risultati di tali test sono stati analizzati al fine di fornire la sensibilità clinica, la specificità clinica e il valore del tasso di falsi positivi (FPR) per segnali positivi, utilizzando un approccio unidimensionale.

**Tavola 5. Prestazione clinica per IGH/MAF v2 Translocation, Dual Fusion Probe**

Variabile	Risultato
Sensibilità clinica (tasso di veri positivi, TPR)	97,3%
Specificità clinica (tasso di veri negativi, TNR)	99,8%
Tasso di falsi positivi (FPR) = 1 - Specificità	0,2%

**Informazioni aggiuntive**

Per informazioni aggiuntive sul prodotto contattare il Dipartimento di Assistenza Tecnica CytoCell.

**Tel:** +44 (0)1223 294048

**E-mail:** techsupport@cytoCell.com

**Sito web:** www.ogt.com

**Bibliografia**

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

**Guida ai simboli**

REF	it: Riferimento di catalogo
	it: Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>
	it: Codice di lotto
	it: Consultare le istruzioni per l'uso
	it: Fabbricante
	it: Utilizzare entro
	it: Limiti di temperatura
	it: Tenere lontano dalla luce solare.
	it: Contenuto per <n> test
	it: Contenuto

**Brevetto e marchi registrati**

CytoCell è un marchio registrato di CytoCell Ltd.

**CytoCell Ltd.**

Oxford Gene Technology,  
418 Cambridge Science Park,  
Milton Road,  
Cambridge, CB4 0PZ, Regno Unito  
Tel: +44 (0)1223 294048  
Fax: +44(0)1223 294986  
E-mail: probes@cytoCell.com  
Sito web: www.ogt.com

