A Sysmex Group Company

CytoCell

Istruzioni per l'uso (IFU)

RIF: CE-LPH 011-S / CE-LPH 011

ATM Deletion Probe

CE IVD
2797

SOLO PER USO PROFESSIONALE

ogt.com/IFU

Ulteriori informazioni e altre lingue disponibili su ogt.com/IFU

Uso previsto
CytoCell® ATM Deletion Probe è un test qualitativo, non automatizzato, d'ibridazione *in situ* fluorescente (FISH) utilizzato per rilevare delezioni cromosomiche nella regione 11q22.3 sul cromosoma 11 in sospensioni cellulari derivate ematologicamente fissate in soluzione di Carnoy (metanolo/acido acetico 3:1) da pazienti con leucemia linfocitica cronica (LLC) confermata o sospetta.

Indicazione per l'uso
Questo dispositivo è ideato come aggiunta ad altri test clinici e istopatologici in percorsi diagnostici e di cura clinica riconosciuti, dove la conoscenza dello stato di delezione di *ATM* sarebbe importante per la gestione clinica.

Limitazioni
Il presente dispositivo è ideato per individuare perdite genomiche più grandi della regione coperta dal clone rosso in questo set di sonde, la quale include la regione *ATM*. Perdite genomiche esterne a tale regione o perdite parziali di questa regione potrebbero non venire rilevati da questo dispositivo.
Il presente dispositivo non è destinato a: utilizzo come diagnostica indipendente, test diagnostico di accompagnamento, test prenatale, screening basato sulla popolazione, analisi decentrate o autodiagnosi.
Il presente dispositivo non è stato convalidato per tipi di campione, tipi di patologie od obiettivi diversi da quelli specificati nell'uso previsto.
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 della FISH.
La refertazione e l'interpretazione dei risultati della FISH devono essere eseguite da personale adeguatamente qualificato, devono essere coerenti con gli standard professionali della pratica medica e devono prendere in considerazione altri risultati di test rilevanti e informazioni cliniche e diagnostiche.
Il presente dispositivo è solo per uso professionale di laboratorio.
La mancata aderenza al protocollo può incidere sulle prestazioni e portare a risultati falsi positivi/negativi.

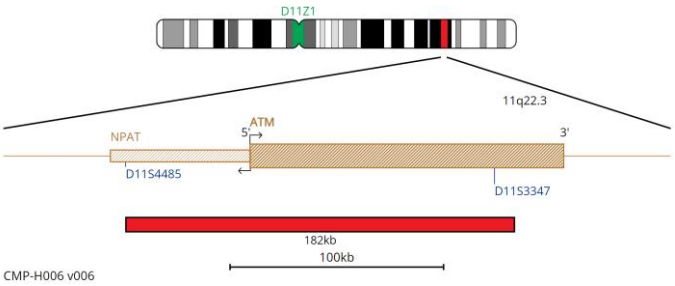
Principi del test
L'ibridazione *in situ* fluorescente (fluorescence in situ hybridization, FISH) è una tecnica che consente di rilevare sequenze di DNA su cromosomi in metafase o in nuclei interfasici di campioni citogenetici fissati. La tecnica prevede l'utilizzo di sonde di DNA in grado di ibridare 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 da contrasto. L'utilizzo della microscopia a fluorescenza permette quindi la visualizzazione della sonda ibridata sul materiale target.

Informazioni sulla sonda
Il gene della proteina chinasi *ATM* (*serin-/treonin-chinasi ATM*) in posizione di 11q22.3, viene di frequente deleto in casi di leucemia linfocitica cronica (LLC) a cellule B. *ATM* è un importante gene del checkpoint coinvolto nella gestione del danno cellulare. La sua funzione è di stabilire il livello di danno al DNA nella cellula e di tentare una riparazione mediante la fosforilazione di substrati chiave coinvolti nel meccanismo di risposta al danno al DNA[1].

B-LLC è la leucemia più comune in adulti; il suo decorso può variare da molto indolente a rapidamente progressivo. A causa della bassa attività mitotica delle cellule leucemiche *in vitro*, anormalità clonali cromosomiche sono rilevate nel 40–50%[2] di casi mediante citogenetica convenzionale grazie all'utilizzo di mitogeni di cellule B, mentre l'analisi FISH identifica aberrazioni cromosomiche in circa l'80% delle LLC-B[2]. Uno screening per delezioni di *ATM* e/o *TP53* è fondamentale per consentire scelte terapeutiche informate per i pazienti con B-LLC, poiché le delezioni di *TP53* e *ATM* comportano una prognosi sfavorevole in tale malattia[4]; pertanto, l'utilizzo della FISH si è dimostrato uno strumento potente sia nella diagnosi che nella gestione di pazienti con LLC-B[2,3,4].

L'analisi dell'interazione *ATM/TP53* in LLC-B ha mostrato che *TP53* e *ATM* svolgono un ruolo importante nella proliferazione del tumore linfoide[1]. È stato dimostrato che *ATM* favorisce la fosforilazione di *TP53* nel caso di danno talmente considerevole da richiedere la distruzione della cellula per apoptosi (la quale è mediata da *TP53*). La delezione di *ATM* elimina questa attività di checkpoint e quindi l'attivazione di *TP53*. Pertanto, malgrado la presenza di *TP53*, non si verifica alcun tentativo di riparazione delle cellule danneggiate né la loro apoptosi. In assenza di *ATM*, alle cellule danneggiate viene consentito di continuare a proliferare[5].

Specifiche della sonda
ATM, 11q22.3, rosso
D11Z1, 11p11.11-q11, verde



La sonda ATM è di 182 kb, marcata in rosso, e copre l'estremità telomerica del gene *NPAT* e l'estremità centromerica del gene *ATM* fino ad appena oltre il marcatore D11S3347. Il mix di sonde contiene anche una sonda di controllo per il centromero 11 (D11Z1) marcata in verde.

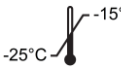
Materiali forniti
Sonda: 50 µL per provetta (5 test) o 100 µL per provetta (10 test)
Le sonde sono fornite già mescolate nella soluzione d'ibridazione (formammide < 65%; destrano solfato < 20 mg; citrato salino di sodio (SSC) 20x < 10%) e sono pronte all'uso.

Colorante da contrasto: 150 µL per provetta (15 test)
Il colorante da contrasto è DAPI Antifade ES (DAPI (4,6-diammidino-2-fenilindolo) 0,125 µg/ml in mounting medium a base di glicerolo).

Avvertenze e misure precauzionali
1. Per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale di laboratorio.
2. I mix di sonde contengono formammide, una sostanza teratogena; non respirare fumi ed evitare il contatto con la pelle. Maneggiare con cura; indossare guanti e un camice da laboratorio.
3. Maneggiare DAPI con cura; indossare guanti e un camice da laboratorio.
4. Non utilizzare se la fiala o le fiale sono danneggiate o se il contenuto è in qualche modo compromesso.
5. Attenersi ai regolamenti sullo smaltimento locali e alle raccomandazioni presenti nella Scheda tecnica di sicurezza per garantire uno smaltimento sicuro del prodotto. Ciò si applica anche al contenuto del kit di test danneggiato.
6. Smaltire tutti i reagenti usati e i materiali monouso contaminati attenendosi alle procedure per i rifiuti infetti o potenzialmente infetti. È responsabilità di ciascun laboratorio maneggiare i rifiuti solidi e liquidi secondo la rispettiva natura e il livello di pericolosità, gestendoli e smaltendoli (o disponendone la gestione e lo smaltimento) nel rispetto dei regolamenti applicabili.
7. Gli operatori devono essere in grado di distinguere i colori rosso, blu e verde.
8. La mancata aderenza al protocollo descritto e ai reagenti può incidere sulle prestazioni e portare a risultati falsi positivi/negativi.
9. La sonda non deve essere diluita o mescolata con altre sonde.
10. 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.
11. Tutti i prodotti devono essere convalidati prima dell'uso.
12. I controlli interni devono essere eseguiti utilizzando popolazioni di cellule inalterate nei campioni di prova.

Definizioni delle temperature
- -20 °C / Congelato / In congelatore: da -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 (room temperature, RT): da +15 °C a +25 °C

Conservazione e utilizzo



Conservare il kit in congelatore ad 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 FISH, il colorante da contrasto DAPI Antifade ES e la soluzione d'ibridazione rimangono stabili durante i cicli di congelamento-scongelamento sperimentati durante l'uso normale (dove un ciclo rappresenta la rimozione della fiala dal congelatore e la sua ricollocazione all'interno di quest'ultimo): 5 cicli per la fiala da 50 µL (5 test) di FISH probe, 10 cicli per la fiala da 100 µL (10 test) di sonda FISH e 15 cicli per la fiala da 150 µL (15 test) di colorante da contrasto. L'esposizione alla luce deve essere ridotta al minimo ed evitata ove possibile. Conservare i componenti nel contenitore a tenuta di luce fornito. I componenti utilizzati e conservati in condizioni diverse da quelle indicate sull'etichetta potrebbero avere prestazioni diverse da quelle attese e influenzare negativamente i risultati del test. 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 termostatato 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 a 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 e obiettivi Plan Apochromat 60/63x e 100x. I fluorofori utilizzati in questa sonda ecciteranno ed emetteranno alle seguenti lunghezze d'onda:

Fluoroforo	Eccitazione$_{max}$ [nm]	Emissione$_{max}$ [nm]
Verde	495	521
Rosso	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 verde/spettro rosso o un filtro dual spettro verde/spettro rosso 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 derivate ematologicamente, fissate nella soluzione di Carnoy (metanolo/acido acetico 3:1), 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, la coltura, la raccolta di esemplari e per la realizzazione di vetrini[6].

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 per un massimo di 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 per un massimo di 4 settimane 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 per un massimo di 4 settimane 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 per un massimo di 4 settimane a temperatura ambiente in un contenitore a chiusura ermetica.

Protocollo FISH

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

Preparazione del vetrino

1. Caricare il campione cellulare su un vetrino da microscopia. Lasciare asciugare il vetrino. (**Facoltativo, se si utilizza una stufa per asciugatura 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 2xSCC 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. Prelevare 10 µL di sonda per ogni test e inserirli 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 del mix di sonde 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 temperatura ambiente.
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 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**).

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 termostatati 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 mancanza del segnale.
5. La denaturazione incompleta può tradursi in una mancanza 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

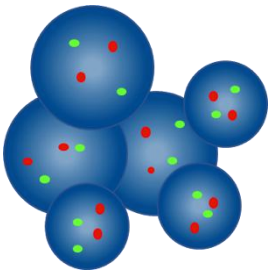
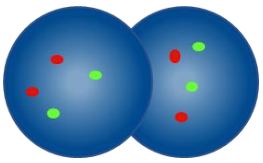
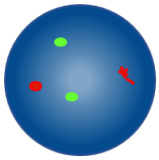
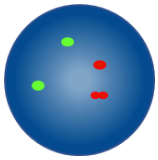
Il vetrino non deve essere analizzato se:

- 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
- > 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

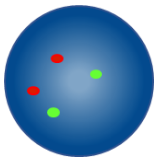
- Ogni campione deve essere analizzato e interpretato da due analisti. Eventuali discrepanze devono essere risolte mediante valutazione da parte di un terzo analista
- Ciascun analista deve essere adeguatamente qualificato secondo gli standard nazionali riconosciuti
- Ciascun analista deve dare indipendentemente 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
- Quando si analizzano sonde breakapart a due colori, se vi è uno spazio tra i segnali rosso e verde non più grande di 2 lunghezze di segnale, contare come segnale non riarrangiato/fuso
- Quando si analizzano sonde breakapart a tre colori, se vi è uno spazio tra qualsiasi dei 3 segnali (rosso, verde, blu) a distanza non maggiore di 2 lunghezze di segnale, contare come segnale non riarrangiato/fuso
- 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

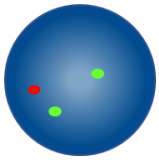
Risultati attesi

Modello di segnale normale atteso



In una cellula normale, sono attesi due segnali rossi e due verdi (2R2V).

Modello di segnale anormale atteso



In una cellula con una delezione di ATM, si prevedono un segnale rosso e due segnali verdi (1R2V).

Altri modelli di segnale sono possibili in esemplari aneuploidi/non bilanciati.

Interferenze rilevanti note / sostanze interferenti

Non sono note interferenze rilevanti note / sostanze interferenti.

Reattività crociata nota

La sonda D11Z1 verde può mostrare segnali di ibridazione crociata a 1c, Xc e 17c.

Segnalazione di incidenti gravi

Per un paziente/utilizzatore/terza parte nell'Unione europea e nei Paesi con un regime normativo identico (Regolamento (UE) 2017/746 sui dispositivi medico-diagnostici *in vitro*); se durante l'utilizzo del presente dispositivo o in seguito al suo utilizzo si verificasse un incidente grave, si prega di segnalarlo al fabbricante o alla propria Autorità nazionale competente.
Per gli incidenti gravi verificatisi in altri Paesi, si prega di segnalarli al fabbricante e, se possibile, alla propria Autorità nazionale competente.
Contatto di vigilanza del fabbricante: vigilance@ogt.com
Per le Autorità nazionali competenti europee, è possibile trovare un elenco di punti di vigilanza all'indirizzo:
https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

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 ATM Deletion Probe

Bersaglio	Numero di cromosomi in metafase ibridati	Numero di loci correttamente ibridati	Specificità analitica	Intervallo di confidenza del 95%
11q22.3	200	200	100%	98,12–100%
11p11.11-11q11	200	200	100%	98,12–100%

Sensibilità analitica
La sensibilità analitica è la percentuale di cellule interfase cui è possibile fornire un punteggio con il modello di segnale normale atteso. È stato analizzato un minimo di 100 cellule in interfase per ciascuna delle 25 sospensioni cellulari fissate da midollo osseo e 25 sospensioni cellulari fissate da sangue periferico ottenendo come minimo la valutazione di 2500 nuclei 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 ATM Deletion Probe

Tipo di campione	Criteri di sensibilità	Risultati di sensibilità
Midollo osseo	>95%	97,48% (96,58–98,38%)
Sangue periferico	>95%	96,88% (95,60–98,16%)

Caratterizzazione dei valori normali di cut off
Il cut off normale è definito come la percentuale di cellule che esibiscono un modello di segnale falso positivo a cui un individuo sarebbe considerato normale e non coerente con una diagnosi clinica. È stato analizzato un minimo di 100 cellule in interfase per ciascuna delle 25 sospensioni cellulari fissate da midollo osseo e 25 sospensioni cellulari fissate da sangue periferico ottenendo come minimo la valutazione di 2500 nuclei per ciascun tipo di campione.

Il valore di cut off è stato determinato utilizzando la funzione β-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 ATM Deletion Probe

Tipo di campione	Risultati di cut-off
Midollo osseo	9,77%
Sangue periferico	10,58%

I laboratori devono verificare i valori di cut-off utilizzando i propri dati[7,8].

Precisione
La precisone 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 esaminare la precisione di questo prodotto sono stati utilizzati due campioni: un campione di midollo osseo negativo e un campione di midollo osseo positivo basso prodotto artificialmente per mettere alla prova il prodotto in relazione al cut-off stabilito.

Per stabilire la precisione inter-giorno e intra-giorno, i campioni sono stati valutati in 10 giorni non consecutivi e per stabilire la precisione da lotto a lotto sono stati valutati tre lotti del prodotto su tre 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 ATM Deletion Probe

Variabile	Tipo di campione	Accordo
Riproducibilità intra-giorno (sample to sample) e inter-giorno (day to day)	Midollo osseo negativo	100%
	Midollo osseo positivo basso	100%
Riproducibilità da lotto a lotto	Midollo osseo negativo	100%
	Midollo osseo positivo basso	100%

Prestazione clinica
Per assicurarsi che il prodotto rilevi i riarrangiamenti desiderati, è stata stabilita la prestazione clinica nel corso di tre studi su campioni rappresentativi della popolazione prevista per il prodotto: materiale fissato in metanolo/acido acetico 3:1 da esemplari derivati ematologicamente. La dimensione dei campioni per lo studio era di 27 esemplari, con la popolazione bersaglio di 13 esemplari positivi e 14 esemplari negativi, composta da 11 campioni negativi di midollo osseo, 3 campioni negativi di sangue periferico, 10 campioni positivi di midollo osseo e 3 campioni positivi di sangue periferico. 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 ATM Deletion Probe

Variabile	Risultato
Sensibilità clinica (tasso di veri positivi, TPR)	100,00%
Specificità clinica (tasso di veri negativi, TNR)	100,00%
Tasso di falsi positivi (FPR) = 1 - Specificità	0,00%

Riepilogo sulla sicurezza e le prestazioni (SSP)
L'SSP deve essere reso disponibile al pubblico tramite il database europeo sui dispositivi medici (Eudamed), dove esso è collegato al Basic UDI-DI.
URL di Eudamed: https://ec.europa.eu/tools/eudamed
Basic UDI-DI: 50558449LPH011J4

Qualora Eudamed non fosse del tutto operativo, l'SSP deve essere reso disponibile al pubblico su richiesta tramite email all'indirizzo SSP@ogt.com.

Informazioni aggiuntive
Per informazioni aggiuntive sul prodotto contattare il Dipartimento di Assistenza Tecnica CytoCell.
T: +44 (0)1223 294048
E-mail: techsupport@cytocell.com
Sito web: 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.

Glossario dei simboli

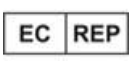
EN ISO 15223-1:2021 - "Dispositivi medici - Simboli da usare con le informazioni fornite dal fabbricante - Parte 1: Requisiti generali" (© Organizzazione internazionale per la standardizzazione)		
Simbolo	**Titolo**	**Numero/i di riferimento**
	**it:** Fabbricante	5.1.1
	**it:** Rappresentante autorizzato nella Comunità europea/Unione europea	5.1.2
	**it:** Data di scadenza	5.1.4
	**it:** Codice del lotto	5.1.5
	**it:** Numero di catalogo	5.1.6
	**it:** Tenere lontano dalla luce	5.3.2
	**it:** Limite di temperatura	5.3.7
	**it:** Consultare le istruzioni per l'uso	5.4.3
 ogt.com/IFU	**it:** Consultare le istruzioni per l'uso in formato elettronico	5.4.3
	**it:** Attenzione	5.4.4
	**it:** Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*	5.5.1
	**it:** Contenuto per <n> test	5.5.5
	**it:** Identificativo unico del dispositivo	5.7.10
Simboli EDMA per reagenti e componenti dell'IVD, revisione ottobre 2009		
Simbolo	**Titolo**	**Numero/i di riferimento**
	**it:** Contenuti (o contiene)	N/D

Brevetti e marchi registrati
CytoCell è un marchio registrato di Cytocell Limited.



Cytocell Limited
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
REGNO UNITO

T: +44 (0)1223 294048
E-mail: probes@cytocell.com
Sito web: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Deelböge 19 D
22297 Hamburg
GERMANIA

Sito web: www.sysmex-europe.com

Cronologia delle versioni delle Istruzioni per l'uso (IFU)
V001 2026-10-29: Nuove Istruzioni per l'uso (IFU) per il Regolamento (UE) 2017/746