



A Sysmex Group Company



## Instruções de Utilização

REF: LPH 009-S / LPH 009

### P16 (CDKN2A) Deletion Probe



APENAS PARA USO PROFISSIONAL



www.cytocell.com

Mais informações e outros idiomas disponíveis em [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

#### Limitações

Este dispositivo destina-se a detetar perdas genómicas superiores à região abrangida pelo clone vermelho neste conjunto de sondas, o que inclui a região *CDKN2A*. As perdas genómicas fora desta região ou as perdas parciais desta região poderão não ser detetadas com este produto.

O teste não se destina a ser utilizado: como diagnóstico autónomo, teste pré-natal, rastreio populacional, teste descentralizado ou autodiagnóstico. Este produto destina-se apenas a uma utilização profissional num ambiente laboratorial. Todos os resultados devem ser interpretados por técnicos adequadamente qualificados, tomando em consideração os resultados de outros testes relevantes.

Este produto não foi validado para ser utilizado com tipos de amostra ou tipos de doença que não sejam os especificados na secção da utilização prevista.

A comunicação e interpretação dos resultados da FISH devem ser consistentes com as normas da prática profissional e devem tomar em consideração outras informações clínicas e de diagnóstico. Este kit destina-se a ser utilizado como adjuvante de outros testes de diagnóstico laboratoriais e não deve ser iniciada qualquer medida terapêutica apenas com base nos resultados da FISH.

O não cumprimento do protocolo pode afetar o desempenho do produto e dar origem a falsos resultados positivos/negativos.

Este kit não foi validado para outros efeitos que não os indicados na secção da utilização prevista.

#### Utilização prevista

A CytoCell P16 (CDKN2A) Deletion Probe é um teste qualitativo não automatizado de hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) utilizado para detetar deleções cromossómicas na região p21.3 no cromossoma 9 em suspensões de células derivadas do sangue fixadas no fixador de Carnoy (3:1 de metanol/ácido acético) de doentes com confirmação ou suspeita de leucemia linfoblástica aguda (LLA) ou linfoma não Hodgkin (LNH).

#### Indicações

Este produto destina-se a ser utilizado como adjuvante de outros testes clínicos ou histopatológicos em vias reconhecidas de diagnóstico e cuidados clínicos, em que o conhecimento do estado da deleção de *CDKN2A* seria importante para o tratamento clínico.

#### Princípios do teste

A hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) é uma técnica que permite detetar sequências de ADN em cromossomas metafásicos ou em núcleos interfásicos de amostras citogenéticas fixadas. A técnica recorre a sondas de ADN que se hibridizam com cromossomas inteiros ou sequências únicas individuais e serve de forte adjuvante à análise citogenética por bandeamento G. Esta técnica pode agora ser aplicada como ferramenta de investigação essencial na análise cromossómica pré-natal, hematológica e de tumores sólidos. O ADN alvo, após fixação e desnaturação, está disponível para renaturação com uma sonda de ADN marcada por fluorescência e desnaturada de forma semelhante, que tem uma sequência complementar. Após a hibridização, a sonda de ADN não ligada e não especificamente ligada é removida e o ADN é contracorado para efeitos de visualização. A microscopia de fluorescência permite então a visualização da sonda hibridizada no material alvo.

#### Informações sobre a sonda

O gene *CDKN2A* (*inibidor de quinase dependente de ciclina 2A*) no 9p21 é um gene supressor de tumores que demonstrou ser deletado num amplo espectro de doenças malignas humanas.

A perda do gene *CDKN2A* resulta na proliferação celular e desregulação das vias pró-apoptóticas. Existem duas proteínas produzidas pelo gene *CDKN2A*: a p16<sup>INK4a</sup> e a p14<sup>ARF</sup>. Estes produtos proteicos estão associados a duas vias supressoras de tumores: a via RB e a via p53, respetivamente<sup>1</sup>.

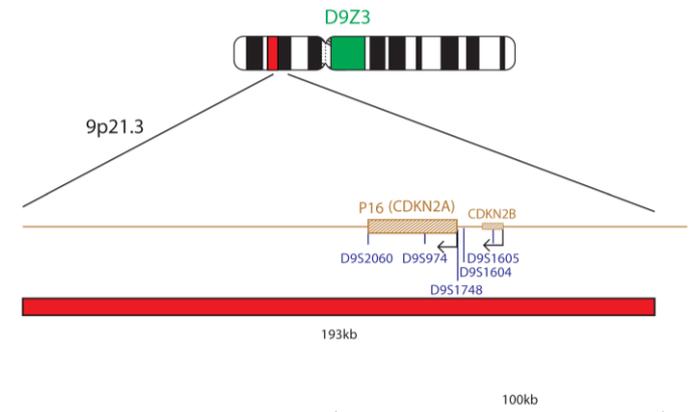
Deleções do 9p que incluem o gene *CDKN2A* são frequentemente comunicadas em doentes com leucemia linfoblástica aguda (LLA): em aproximadamente 30% dos casos de LLA de células B em adultos, 30% dos casos de LLA infantil e até 50% dos casos de LLA de células T. Na LLA de células B em adultos, deleções do *CDKN2A* são frequentemente adquiridas com a progressão da doença<sup>2,3,4,5</sup>.

Deleções que incluem o locus *CDKN2A* foram comunicadas num terço dos doentes com linfoma difuso de grandes células B (LDGCB)<sup>6</sup> e, no glioma, a perda do *CDKN2A* esteve associada a uma sobrevivência geral mais curta nos astrocitomas de grau I-III da OMS<sup>7</sup>.

Perdas da região *CDKN2A* foram também comunicadas no mesotelioma maligno, melanoma e cancro da bexiga<sup>8,9,10</sup>.

#### Especificação da sonda

P16, 9p21.3, Vermelho  
D9Z3, 9q12, Verde



A sonda de P16, marcada a vermelho, abrange uma região de 193 kb do locus 9p21.3, estendendo-se desde 105 kb telomericamente em relação ao gene P16 a 46 kb centromericamente em relação ao *CDKN2B*. A mistura de sondas também contém uma sonda de controlo para o cromossoma 9 (D9Z3, o bloco heterocromático em 9q12) marcada a verde.

#### Materiais fornecidos

**Sonda:** 50 µl por tubo (5 testes) ou 100 µl por tubo (10 testes)

As sondas são fornecidas pré-misturadas em solução de hibridização (formamida; sulfato de dextrano; citrato de sódio salino [SSC]) e estão prontas para serem utilizadas.

**Contracorante:** 150 µl por tubo (15 testes)

O contracorante é o DAPI Antifade (ES: 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol)).

#### Advertências e precauções

1. Para utilização em diagnóstico *in vitro*. Apenas para uso profissional.
2. Utilize luvas quando manusear sondas de ADN e o contracorante DAPI.
3. As soluções de sonda contêm formamida, que é um teratogénio. Não respire fumos nem permita o contacto das mesmas com a pele. Manuseie com cuidado. Utilize luvas e uma bata de laboratório.
4. O DAPI é um potencial agente cancerígeno. Manuseie com cuidado. Utilize luvas e uma bata de laboratório.
5. Elimine todos os materiais perigosos de acordo com as diretrizes da sua instituição para a eliminação de resíduos perigosos.
6. Os operadores têm de ser capazes de distinguir as cores vermelha, azul e verde.
7. O não cumprimento do protocolo e reagentes delineados pode afetar o desempenho do produto e dar origem a falsos resultados positivos/negativos.
8. A sonda não deve ser diluída nem misturada com outras sondas.
9. A não utilização de 10 µl de sonda durante a fase pré-desnaturação do protocolo pode afetar o desempenho do produto e dar origem a falsos resultados positivos/negativos.

## Conservação e manuseamento



O kit deve ser conservado num congelador a uma temperatura de -25 °C a -15 °C até ao prazo de validade indicado no rótulo do kit. Os tubos de sonda e de contracorante têm de ser conservados no escuro.



A sonda permanece estável durante os ciclos de congelamento e descongelamento que ocorrem durante a utilização normal (em que um ciclo constitui a remoção da sonda do congelador e a sua reposição no mesmo) e fica fotoestável durante um máximo de 48 horas depois de exposta a condições de luminosidade contínua. Devem ser envidados todos os esforços para limitar a exposição a variações de luz e de temperatura.

## Equipamento e materiais necessários, mas não fornecidos

É necessário utilizar equipamento calibrado:

1. Placa quente (com uma placa sólida e controlo exato da temperatura até 80 °C)
2. Micropipetas e pontas de volume variável calibradas, entre 1 µl - 200 µl
3. Aparelho de banho-maria com controlo exato da temperatura de 37 °C a 72 °C
4. Tubos de microcentrifugação (0,5 ml)
5. Microscópio de fluorescência (ver secção "Recomendação de microscópio de fluorescência")
6. Microscópio de contraste de fase
7. Jarras de Coplin limpas em plástico, cerâmica ou vidro termorresistente
8. Pinça
9. Medidor de pH calibrado (ou tiras indicadoras do pH capazes de medir um pH de 6,5 – 8,0)
10. Recipiente humidificado
11. Óleo de imersão de lentes para microscópio de fluorescência
12. Centrífuga de bancada
13. Lâminas de microscópio
14. Lamelas de 24 x 24 mm
15. Temporizador
16. Incubadora de 37 °C
17. Cola de solução de borracha
18. Agitador vórtex
19. Cilindros graduados
20. Agitador magnético
21. Termómetro calibrado

## Equipamento opcional não fornecido

1. Câmara de secagem citogenética

## Reagentes necessários, mas não fornecidos

1. Solução de citrato de sódio salino (SSC) 20x
2. Etanol a 100%
3. Tween-20
4. Hidróxido de sódio 1M (NaOH)
5. Ácido clorídrico 1M (HCl)
6. Água purificada

## Recomendação de microscópio de fluorescência

Utilize uma lâmpada de mercúrio de 100 Watts ou equivalente e lentes planas apocromáticas para imersão em óleo 60/63x ou 100x para obter a melhor visualização possível. As substâncias fluorescentes utilizadas neste conjunto de sondas são excitadas e emitem luz nos seguintes comprimentos de onda:

Substância fluorescente	Excitação <sub>máx</sub> [nm]	Emissão <sub>máx</sub> [nm]
Verde	495	521
Vermelho	596	615

Certifique-se de que os filtros de excitação e emissão apropriados, que abrangem os comprimentos de onda listados acima, estão instalados no microscópio. Utilize um triplo filtro passa-banda de DAPI/espectro verde/espectro vermelho ou um duplo filtro passa-banda do espectro verde/espectro vermelho para obter a melhor visualização simultânea possível das substâncias fluorescentes verde e vermelha.

Verifique o microscópio de fluorescência antes de o utilizar para garantir que está a funcionar corretamente. Utilize um óleo de imersão que seja adequado à microscopia de fluorescência e formulado para baixa autofluorescência. Evite misturar o DAPI Antifade com o óleo de imersão para microscópio, dado que essa mistura vai obscurecer os sinais. Siga as recomendações do fabricante relativamente à vida útil da lâmpada e à duração dos filtros.

## Preparação das amostras

O kit destina-se a ser utilizado em suspensões de células derivadas do sangue fixadas no fixador de Carnoy (3:1 de metanol/ácido acético), que são preparadas de acordo com as diretrizes do laboratório ou da instituição em causa. Prepare amostras secas ao ar em lâminas de microscópio, de acordo com os procedimentos citogenéticos padrão. O manual laboratorial de citogenética da AGT (AGT *Cytogenetics Laboratory Manual*) contém recomendações para a colheita de espécimes, realização de culturas, colheitas e preparação de lâminas<sup>11</sup>.

## Preparação da solução

### Soluções de etanol

Dilua etanol a 100% com água purificada utilizando os seguintes rácios e depois misture bem:

- Etanol a 70% - 7 partes de etanol a 100% para 3 partes de água purificada
  - Etanol a 85% - 8,5 partes de etanol a 100% para 1,5 partes de água purificada
- Conserve as soluções durante um máximo de 6 meses à temperatura ambiente num recipiente hermético.

### Solução de SSC 2x

Dilua 1 parte de solução de SSC 20x com 9 partes de água purificada e misture bem. Verifique o pH e ajuste-o para um pH 7,0 utilizando NaOH ou HCl, conforme necessário. Conserve a solução durante um máximo de 4 semanas à temperatura ambiente num recipiente hermético.

### Solução de SSC 0,4x

Dilua 1 parte de solução de SSC 20x com 49 partes de água purificada e misture bem. Verifique o pH e ajuste-o para um pH 7,0 utilizando NaOH ou HCl, conforme necessário. Conserve a solução durante um máximo de 4 semanas à temperatura ambiente num recipiente hermético.

### Solução de SSC 2x e 0,05% de Tween-20

Dilua 1 parte de solução de SSC 20x com 9 partes de água purificada. Adicione 5 µl de Tween-20 por cada 10 ml e misture bem. Verifique o pH e ajuste-o para um pH 7,0 utilizando NaOH ou HCl, conforme necessário. Conserve a solução durante um máximo de 4 semanas à temperatura ambiente num recipiente hermético.

## Protocolo da FISH

(Nota: Certifique-se de que a exposição da sonda e do contracorante às luzes do laboratório está sempre limitada.)

### Preparação das lâminas

1. Coloque uma gota de amostra celular numa lâmina de microscópio de vidro. Deixe secar. (**Opcional, se utilizar uma câmara de secagem citogenética:** As gotas de amostra devem ser colocadas nas lâminas utilizando uma câmara de secagem citogenética. A câmara deve ser utilizada com uma temperatura aproximada de 25 °C e humidade de 50% para que a colocação de gotas de amostra seja a melhor possível. Se não houver uma câmara de secagem citogenética, utilize um exaustor de laboratório como alternativa.)
2. Mergulhe a lâmina em SSC 2x durante 2 minutos à temperatura ambiente (TA) sem agitar.
3. Desidrate numa série de etanol (70%, 85% e 100%), cada uma durante 2 minutos à TA.
4. Deixe secar.

### Pré-desnaturação

5. Retire a sonda do congelador e deixe-a aquecer até à temperatura ambiente. Centrifugue os tubos brevemente antes de os utilizar.
6. Certifique-se de que a solução da sonda é uniformemente misturada com uma pipeta.
7. Retire 10 µl de sonda por cada teste e transfira-os para um tubo de microcentrifugação. Reponha o restante volume da sonda no congelador.
8. Coloque a sonda e a lâmina da amostra numa placa quente a 37 °C (+/-1 °C) durante 5 minutos para pré-aquecimento.
9. Coloque 10 µl da solução de sonda na amostra de células e aplique uma lamela com cuidado. Vede com cola de solução de borracha e deixe a cola secar completamente.

### Desnaturação

10. Desnatura a amostra e a sonda em simultâneo aquecendo a lâmina numa placa quente a 75 °C (+/-1 °C) durante 2 minutos.

### Hibridização

11. Coloque a lâmina num recipiente húmido resistente à luz a 37 °C (+/-1 °C) e deixe-a no mesmo de um dia para o outro.

### Lavagens pós-hibridização

12. Retire o DAPI do congelador e deixe-o aquecer até à TA.
13. Retire a lamela e todos os vestígios de cola com cuidado.
14. Mergulhe a lâmina em SSC 0,4x (pH 7,0) a 72 °C (+/-1 °C) durante 2 minutos sem agitar.
15. Drene a lâmina e mergulhe-a em SSC 2x e 0,05% de Tween-20 à TA (pH 7,0) durante 30 segundos sem agitar.
16. Drene a lâmina e aplique 10 µl de DAPI Antifade em cada amostra.
17. Cubra a amostra com uma lamela, elimine eventuais bolhas e deixe a cor desenvolver-se no escuro durante 10 minutos.
18. Visualize com um microscópio de fluorescência (ver secção **Recomendação de microscópio de fluorescência**).

### Estabilidade das lâminas acabadas

As lâminas acabadas permanecem analisáveis durante 1 mês no máximo se conservadas no escuro a uma temperatura igual ou inferior à TA.

### Recomendações para o procedimento

1. O envelhecimento e aquecimento das lâminas no forno pode reduzir a fluorescência do sinal.
2. As condições de hibridização podem ser negativamente afetadas pela utilização de reagentes que não sejam os fornecidos ou recomendados pela CytoceLL Ltd.
3. Utilize um termómetro calibrado para medir as temperaturas das soluções, aparelhos de banho-maria e incubadoras, visto que essas temperaturas são críticas para o ótimo desempenho do produto.

- As concentrações de lavagem, o pH e as temperaturas são importantes, visto que umas condições pouco rigorosas podem resultar numa ligação não específica da sonda e umas condições demasiado rigorosas podem resultar na ausência de sinal.
- Uma desnaturação incompleta pode resultar em ausência de sinal e uma desnaturação excessiva também pode resultar numa ligação não específica.
- Uma hibridização excessiva pode resultar em sinais adicionais ou inesperados.
- Os utilizadores devem otimizar o protocolo para as suas próprias amostras antes de utilizarem o teste para efeitos de diagnóstico.
- Condições que não sejam ótimas podem resultar numa ligação não específica, que pode ser incorretamente interpretada como um sinal da sonda.

#### Interpretação dos resultados

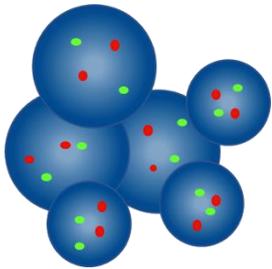
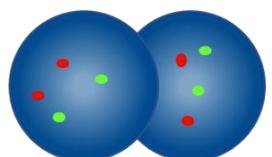
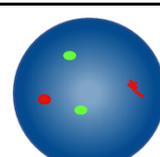
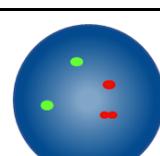
##### Avaliação da qualidade das lâminas

A lâmina não deve ser analisada nos seguintes casos:

- Os sinais são demasiado fracos para analisar com filtros simples – para proceder à análise, os sinais devem ser luminosos, distintos e facilmente avaliáveis.
- Há um número elevado de células agrupadas/sobrepostas a obstruir a análise.
- >50% das células não estão hibridizadas.
- Há um excesso de partículas fluorescentes entre as células e/ou uma névoa fluorescente que interfere com os sinais – nas lâminas ótimas, o fundo deve estar escuro ou preto e limpo.
- Não é possível distinguir os limites dos núcleos das células, que não estão intactos.

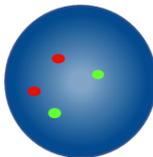
##### Diretrizes para a análise

- Dois analistas devem analisar e interpretar cada amostra. Qualquer discrepância deve ser resolvida pela avaliação de um terceiro analista.
- Cada analista deve estar adequadamente qualificado de acordo com as normas nacionais reconhecidas.
- Cada analista deve pontuar 100 núcleos para cada amostra, de forma independente. O primeiro analista deve começar a análise pelo lado esquerdo da lâmina e o segundo analista pelo lado direito.
- Cada analista deve documentar os seus resultados em folhas separadas.
- Análise apenas os núcleos intactos e não os núcleos sobrepostos ou agrupados ou núcleos cobertos por resíduos citoplasmáticos ou elevado grau de autofluorescência.
- Evite as áreas com excesso de resíduos citoplasmáticos ou hibridização não específica.
- A intensidade do sinal pode variar, mesmo com um único núcleo. Nesses casos, utilize filtros simples e/ou ajuste o plano focal.
- Em condições que não sejam ótimas, os sinais poderão parecer difusos. Se dois sinais da mesma cor se tocarem um no outro ou se a distância entre eles não for superior a duas larguras de sinal, ou quando houver uma vaga cadeia a ligar os dois sinais, conte-os como um sinal.
- Se tiver dúvidas sobre se uma célula é analisável ou não, não a analise.

Diretrizes para a análise	
	Não contar – os núcleos estão demasiado juntos para determinar limites
	Não contar núcleos sobrepostos – todas as áreas de ambos os núcleos não estão visíveis
	Contar como dois sinais vermelhos e dois sinais verdes – um dos dois sinais vermelhos é difuso
	Contar como dois sinais vermelhos e dois sinais verdes – o intervalo num sinal vermelho é inferior a duas larguras de sinal

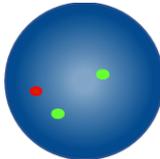
#### Resultados esperados

##### Padrão de sinais normal esperado

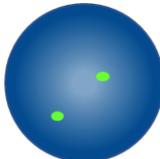


Numa célula normal, espera-se dois sinais vermelhos e dois sinais verdes (2R, 2G).

##### Padrões de sinais anormais esperados



Numa célula com uma deleção hemizigótica, o padrão de sinais esperado é um sinal vermelho e dois sinais verdes (1R, 2G).



Numa célula com uma deleção homizigótica, o padrão de sinais esperado é nenhum sinal vermelho e dois sinais verdes (0R, 2G).

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

##### Reatividade cruzada conhecida

Nenhuma reatividade cruzada conhecida.

##### Notificação de eventos adversos

Se acreditar que este dispositivo se avariou ou sofreu uma deterioração nas respetivas características de desempenho que possa ter contribuído para um evento adverso (por exemplo, diagnóstico tardio ou incorreto, tratamento tardio ou inadequado), deve comunicá-lo imediatamente ao fabricante (**e-mail**: [vigilance@ogt.com](mailto:vigilance@ogt.com)).

Se aplicável, o evento também deve ser comunicado à sua autoridade competente nacional. Pode obter uma lista de pontos de contacto de vigilância em: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

##### Características específicas de desempenho

###### Especificidade analítica

A especificidade analítica é a percentagem de sinais que se hibridizam com o locus correto e nenhuma outra localização. A especificidade analítica foi estabelecida pela análise de um total de 200 loci alvo. A especificidade analítica foi calculada como o número de sinais de FISH que se hibridizaram com o locus correto, dividido pelo número total de sinais de FISH hibridizados.

Tabela 1. Especificidade analítica para a P16 Deletion Probe

Sonda	Locus alvo	N.º de sinais hibridizados com o locus correto	N.º total de sinais hibridizados	Especificidade (%)
Vermelho P16	9q21	200	200	100
Verde D9Z3	9q12	200	200	100

###### Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica é a percentagem de células interfásicas pontuáveis com o padrão de sinais normal esperado. A sensibilidade analítica foi estabelecida pela análise de células interfásicas em diferentes amostras normais. A sensibilidade foi calculada como a percentagem de células pontuáveis com o padrão de sinais esperado (com um intervalo de confiança de 95%).

Tabela 2. Sensibilidade analítica para a P16 Deletion Probe

N.º de células que têm o padrão de sinais esperado	N.º de células que têm sinais pontuáveis	Sensibilidade (%)	Intervalo de confiança de 95%
481	500	96,2	1,1

### Caracterização dos valores cut-off normais

O valor cut-off normal, em associação com sondas de FISH, corresponde à máxima percentagem de células interfásicas pontuáveis com um determinado padrão de sinais anormal, com o qual uma amostra é considerada normal para esse padrão de sinais.

O valor cut-off normal foi estabelecido utilizando amostras de doentes normais e doentes positivos. Para cada amostra, foram registados padrões de sinais de 100 células. O índice de Youden foi calculado para determinar o valor-limite ao qual a Sensibilidade + Especificidade-1 é maximizada.

Tabela 3. Caracterização dos valores cut-off normais para a P16 Deletion Probe

Padrão de sinais anormal	Índice de Youden	Cut-off normal (%)
1R, 2G ou 0R, 2G	0,99	2

Os laboratórios têm de verificar os valores cut-off utilizando os seus próprios dados<sup>12, 13</sup>.

### Precisão e reprodutibilidade

A precisão é uma medida da variação natural de um teste quando repetido várias vezes nas mesmas condições. A precisão foi avaliada pela análise de repetições de teste com o mesmo número de lote de sonda e a mesma amostra, nas mesmas condições e no mesmo dia.

A reprodutibilidade é uma medida da variabilidade de um teste e foi estabelecida em termos da variabilidade de amostra para amostra, de dia para dia e de lote para lote. A reprodutibilidade de dia para dia foi avaliada pela análise das mesmas amostras em três dias diferentes. A reprodutibilidade de lote para lote foi avaliada pela análise das mesmas amostras utilizando três números de lote de sonda diferentes num dia. A reprodutibilidade de amostra para amostra foi avaliada pela análise de três réplicas de uma amostra num dia. Para cada amostra, foram registados padrões de sinais de 100 células interfásicas e foi calculada a percentagem de células que têm o padrão de sinais esperado.

A reprodutibilidade e a precisão foram calculadas como o desvio padrão (DP) entre réplicas para cada variável e DP médio global.

Tabela 4. Reprodutibilidade e precisão para a P16 Deletion Probe

Variável	Desvio padrão (DP)
Precisão	0,91
Amostra para amostra	0,89
Dia para dia	1,73
Lote para lote	1,35
Desvio global	1,81

### Desempenho clínico

O desempenho clínico foi estabelecido com uma amostra representativa da população pretendida para o produto. Para cada amostra, foram registados padrões de sinais de  $\geq 100$  células interfásicas. Foi realizada uma determinação normal/anormal comparando a percentagem de células que têm um determinado padrão de sinais anormal com o valor cut-off normal. Os resultados foram então comparados com o estado conhecido da amostra.

Os resultados dos dados clínicos foram analisados com vista a produzir os valores da sensibilidade, da especificidade e os valores cut-off utilizando uma abordagem unidimensional.

Tabela 5. Desempenho clínico para a P16 Deletion Probe

Variável	Resultado
Sensibilidade clínica (taxa de verdadeiros positivos, TPR)	99,9%
Especificidade clínica (taxa de verdadeiros negativos, TNR)	100%
Taxa de falsos positivos (FPR) = 1 – Especificidade	0%

### Informações adicionais

Para obter mais informações sobre o produto, contacte o departamento de assistência técnica da CytoCell.

T: +44 (0)1223 294048  
E: techsupport@cytozell.com  
W: www.ogt.com

### Bibliografia

1. Møller MB, *et al.*, Leukemia. 1999 Mar;13(3):453-9
2. Moorman A V, *et al.*, Blood. 2007;109(8):3189-97
3. Sulong S, *et al.*, Blood. 2014;113(1):100-7
4. Schwab C J, *et al.*, Haematologica. 2013 Jul;98(7):1081-8
5. Xu N, *et al.*, J Cancer. 2015;6(11):1114-20
6. Jardin F, *et al.*, Blood. 2010;116(7):1092-104
7. Reis GF, *et al.*, J Neuropathol Exp Neurol. 2015 May;74(5):442-52
8. Conway C, *et al.*, Genes Chromosomes Cancer. 2010 May;49(5):425-38
9. Relan V, *et al.*, PLoS One. 2013;8(3):e58132
10. Stadler WM, *et al.*, Clin Cancer Res. 2001;7(6):1676-82
11. Arsham, MS., Barch, M.J. and Lawce H.J. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.

12. 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.
13. 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.

### Guia dos símbolos

REF	pt: Número de catálogo
	pt: Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	pt: Código de lote
	pt: Consulte as Instruções de Utilização
	pt: Fabricante
	pt: Prazo de validade
	pt: Limite de temperatura
	pt: Manter afastado da luz solar
	pt: Suficiente para <n> testes
	pt: Conteúdo

### Patentes e marcas comerciais

CytoCell é uma marca comercial registada da CytoCell Ltd.



**CytoCell Ltd.**  
Oxford Gene Technology,  
418 Cambridge Science Park,  
Milton Road,  
Cambridge, CB4 0PZ, Reino Unido  
T: +44(0)1223 294048  
F: +44(0)1223 294986  
E: probes@cytozell.com  
W: www.ogt.com