



A Sysmex Group Company



Istruzioni per l'uso (IFU)

REF: CE-LPH 025-S / CE-LPH 025

Del(7q) Deletion Probe



SOLO PER USO PROFESSIONALE



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

Uso previsto

CytoCell® Del(7q) Deletion Probe è un test qualitativo, non automatizzato d'ibridazione *in situ* fluorescente (FISH) utilizzato per rilevare delezioni cromosomiche nelle regioni 7q22 e 7q31.2 sul cromosoma 7 in sospensioni cellulari di derivazione ematologica fissate in soluzione di Carnoy (metanolo/acido acetico 3:1) da pazienti con diagnosi confermata o sospetta di leucemia mieloide acuta (LMA) o sindrome mielodisplastica (SMD).

Indicazioni per l'uso

Questo prodotto è ideato come aggiunta ad altri test clinici e istopatologici in percorsi di assistenza diagnostica e clinica riconosciuti, dove la conoscenza dello stato di delezione di 7q22 o 7q31.2 sarebbe importante per la gestione clinica.

Limitazioni

Il presente dispositivo è ideato per individuare perdite genomiche più grandi della regione coperta dai cloni rosso e verde in questo set di sonde, la quale include le regioni 7q22 e 7q31.2. Perdite genomiche esterne a tale regione o perdite parziali di questa regione potrebbero non venire rilevate 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 interfascici di campioni citogenetici fissati. La tecnica prevede l'utilizzo di sonde di DNA in grado di ibridare 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 dei tumori solidi. Il DNA bersaglio, dopo fissazione e denaturazione, è disponibile per l'annealing con una sonda di DNA similmente denaturata, marcata con sostanza fluorescente, dotata di una 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 bersaglio.

Informazioni sulla sonda

Monosomia del cromosoma 7 e delezioni del braccio lungo del cromosoma 7 sono aberrazioni cromosomiche ricorrenti riconosciute, osservate di frequente in disturbi mieloidi, tra cui la sindrome mielodisplastica (SMD) e la leucemia mieloide acuta

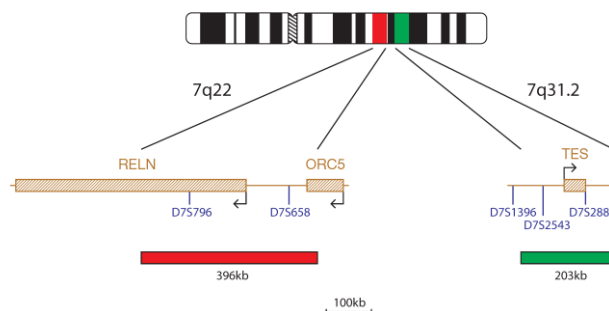
(LMA)¹. Inoltre, queste anomalie si osservano nella SMD e nella LMA che si sviluppano in pazienti con disturbi costituzionali (ad es., anemia di Fanconi, sindrome di Kostmann, neurofibromatosi di tipo 1 e monosomia familiare 7)². La presenza di monosomia 7 o di del(7q) come alterazione cariotipica è associata a un esito più sfavorevole in tumori mieloidi maligni.^{1,3} Le delezioni del cromosoma 7 sono di solito grandi con eterogeneità nei breakpoint nelle patologie mieloidi e ciò rende difficile mappare le regioni comunemente delete (CDR).

Specifiche della sonda

7q22, rosso

7q31.2, verde

CMP-H018 v006.00



La sonda 7q22, marcata in rosso, copre una regione di 396 kb che include l'estremità telomerica del gene *RELN* e si estende oltre il marcatore D7S658. La sonda 7q31.2, marcata in verde, copre una regione di 203 kb che include il gene *TES*.

Materiali forniti

Sonda: 50 µL per fiala (5 test) o 100 µL per fiala (10 test)

Le sonde sono fornite già mescolate nella soluzione d'ibridazione (formamide <65%; destrano solfato <20 mg; citrato salino di sodio (SSC) 20x <10%) e sono pronte all'uso.

Colorante di contrasto: 150 µL per fiala (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 precauzioni

1. Per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale di laboratorio.
2. I mix di sonde 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.
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 di dati 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 miscelata 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 (TA): da +15 °C a +25 °C

Conservazione e manipolazione

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 le fiale 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-scongelo 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 di 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 ogni possibile sforzo 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 e puntali a volume calibrato variabile compreso tra 1 µL e 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 (vedere la sezione Configurazione ottimale del microscopio a fluorescenza)
- 6. Microscopio a contrasto di fase
- 7. Contenitori di Coplin in plastica trasparente, ceramica o vetro resistente al calore
- 8. Pinzette
- 9. Misuratore di pH calibrato (o strisce indicatrici di pH capaci di misurare valori di pH da 6,5 a 8,0)
- 10. Contenitore umidificato
- 11. Olio per immersione per l'obiettivo 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. Camera di essiccazione per citogenetica

Reagenti necessari ma non forniti

- 1. Soluzione 20x di citrato salino di sodio (SSC)
- 2. Etanolo al 100%
- 3. Tween-20
- 4. Idrossido di sodio (NaOH) 1M
- 5. Acido cloridrico (HCl) 1M
- 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 Achromat a immersione in olio 60/63x e 100x. I fluorofori utilizzati in questo set di sonde si ecciteranno ed emetteranno luce 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 triplo filtro passabanda DAPI/spettro verde/spettro rosso o un doppio filtro passabanda spettro verde/spettro rosso per una visualizzazione simultanea ottimale dei fluorofori verdi e rossi.

Controllare il microscopio a fluorescenza prima dell'uso per garantire che funzioni correttamente. Utilizzare olio per immersione adatto alla microscopia a fluorescenza e formulato in modo da avere una bassa autofluorescenza. Evitare di miscelare DAPI Antifade con l'olio per immersione per microscopia onde evitare l'oscuramento dei segnali. Seguire le raccomandazioni del fabbricante in relazione alla vita della lampada e all'età dei filtri.

Preparazione del campione

Il kit è concepito per l'utilizzo su sospensioni di cellule di derivazione ematologica, fissate in soluzione di Carnoy (metanolo/acido acetico 3:1) e preparate secondo le linee guida del laboratorio o dell'istituto. Stendere i campioni essiccati all'aria su vetrini da microscopia secondo le procedure citogenetiche standard. L'AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* contiene raccomandazioni per il prelievo, la coltura, la raccolta di campioni e per l'allestimento di vetrini⁴.

Preparazione della soluzione

Soluzioni di etanolo

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

- Etanolo al 70%: 7 parti di etanolo al 100% per 3 parti di acqua purificata
 - Etanolo all'85%: 8,5 parti di etanolo al 100% 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 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.

Soluzione 0,4xSSC

Diluire 1 parte di soluzione 20xSSC con 49 parti di acqua purificata 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.

Soluzione 2xSSC, Tween-20 0,05%

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 di 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 camera di essiccazione per citogenetica:** La camera deve essere utilizzata a una temperatura di circa 25 °C e un'umidità del 50% per un caricamento ottimale del campione cellulare. Se non è disponibile una camera di essiccazione per citogenetica, utilizzare una cappa aspirante come alternativa).
- 2. Immergere il vetrino in 2xSSC per 2 minuti a temperatura ambiente (TA) senza agitare.
- 3. Disidratare in una serie crescente di etanolo (70%, 85% e 100%), 2 minuti a TA per ciascuna gradazione.
- 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 venga miscelata in modo uniforme mediante una pipetta.
- 7. Prelevare 10 µL di sonda per ogni test e trasferirli in una provetta da microcentrifuga. Riporre velocemente la sonda rimanente nel congelatore.
- 8. Porre 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 colla per vetrini 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) per una 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. Immergere il vetrino in 0,4xSSC (pH 7,0) a 72 °C (+/- 1 °C) per 2 minuti, senza agitare.
- 15. Far sgocciolare il vetrino e immergerlo in 2xSSC, Tween-20 0,05% (pH 7,0) a TA per 30 secondi senza agitare.
- 16. Far sgocciolare il vetrino e applicare 10 µL di DAPI Antifade su ciascun campione.
- 17. Coprire con un coprioggetto, rimuovere eventuali bolle e attendere che si sviluppi il colore lasciando il vetrino al buio per 10 minuti.
- 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 diversi 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 termostatici 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 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 fini diagnostici, è necessario ottimizzare il protocollo per i propri campioni.
- 8. Condizioni sub-ottimali possono comportare un legame non specifico che può essere interpretato erroneamente come segnale della sonda.

Interpretazione dei risultati

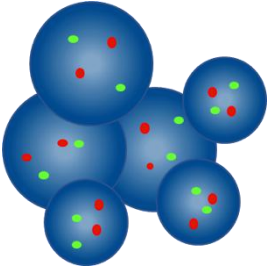
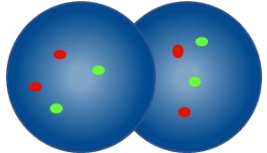
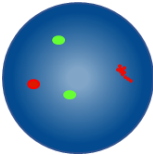
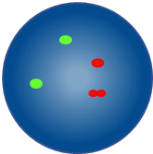
Valutazione della qualità dei vetrini

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 essere intensi, distinti e facilmente valutabili
- Sono presenti numerose cellule aggregate/sovrapposte che impediscono l'analisi
- L'ibridazione non è avvenuta in >50% delle cellule
- È presente un eccesso di particelle fluorescenti tra le cellule e/o una foschia fluorescente che interferisce con i segnali; in vetrini ottimali lo sfondo deve apparire scuro o nero e pulito
- I confini dei nuclei cellulari non possono essere distinti e non sono integri

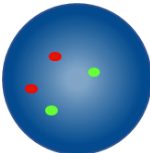
Linee guida per l'analisi

- 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 valutare indipendentemente 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 integri, non sovrapposti o stipati, né coperti da detriti citoplasmatici o da un elevato grado di autofluorescenza
- Evitare le aree in cui è presente un eccesso di detriti citoplasmatici o di ibridazione non specifica
- L'intensità del segnale può variare, anche per un singolo nucleo. In tali casi, utilizzare filtri singoli e/o correggere il piano focale
- In condizioni sub-ottimali, i segnali possono apparire diffusi. Se due segnali dello stesso colore si toccano o se la distanza tra gli stessi non è maggiore di due larghezze del 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
- In caso di dubbio se la cellula sia analizzabile o meno, non analizzarla

Linee guida per l'analisi	
	Non contare: nuclei troppo vicini per determinarne i confini
	Non contare nuclei che si sovrappongono: non sono visibili tutte le aree dei due nuclei
	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 sonda

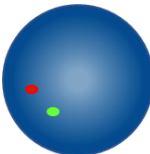
Risultati attesi

Profilo del segnale normale atteso



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

Profilo del segnale anormale atteso



Nelle cellule con monosomia 7 o con delezione in emizigoti di entrambe le CDR su 7q, si osserverà un pattern con un segnale rosso e un segnale verde (1R1V).

Altri profili del segnale sono possibili in campioni aneuploidi/non bilanciati.

Interferenze rilevanti / sostanze interferenti note

Non sono note interferenze rilevanti / sostanze interferenti.

Reattività crociata nota

Nessuna reattività crociata nota.

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 in metafase provenienti da cinque campioni, ottenendo 200 punti di dati per componente. 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 al 95%.

Tabella 1. Specificità analitica per Del(7q) Deletion Probe

Bersaglio	Numero di cromosomi in metafase ibridati	Numero di loci correttamente ibridati	Specificità analitica	Intervallo di confidenza al 95%
7q22	200	200	100%	98,12%–100%
7q31.2	200	200	100%	98,12%–100%

Sensibilità analitica

La sensibilità analitica è la percentuale di cellule in interfase valutabili che presentano il profilo del segnale normale atteso. È stato analizzato un minimo di 200 cellule in interfase per ciascuno dei 25 campioni di midollo osseo cariotipicamente normale fissati in soluzione di Carnoy (metanolo/acido acetico 3:1) ottenendo come minimo la valutazione di 5.000 nuclei per ciascun tipo di campione. I dati relativi alla sensibilità sono stati analizzati in base alla percentuale di cellule che mostra un profilo del segnale atteso normale ed espressi come percentuale con un intervallo di confidenza al 95%.

Tabella 2. Sensibilità analitica per Del(7q) Deletion Probe

Tipo di campione	Criteri di sensibilità	Risultati di sensibilità
Midollo osseo	>95%	98,9% (98,62%, 99,18%)

Caratterizzazione dei valori normali di cut-off

Il cut-off normale è definito come la percentuale di cellule che esibiscono un profilo del segnale falso positivo a 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 1.300 campioni di midollo osseo ottenendo come minimo la valutazione di 260.000 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 profilo del segnale falso positivo utilizzando il limite superiore di un intervallo unilaterale di confidenza al 95% della distribuzione binomiale in un campione normale di pazienti.

Tabella 3. Caratterizzazione dei valori normali di cut-off per Del(7q) Deletion Probe

Tipo di campione	Risultati di cut-off
Midollo osseo	7,4%

I laboratori devono verificare i valori di cut-off utilizzando i propri dati^{5,6}.

Riproducibilità

Sono stati eseguiti studi di riproducibilità per stabilire:

- la riproducibilità intra-giorno presso 3 siti (da campione a campione)
- la riproducibilità inter-giorno presso 3 siti (da giorno a giorno)
- la riproducibilità inter-sito presso 3 siti (da sito a sito)
- la riproducibilità inter-lotto per sito singolo (da lotto a lotto)

La riproducibilità è stata stabilita da tre singoli laboratori che hanno analizzato sei campioni in cieco (due campioni negativi per la delezione, due campioni a bassa positività pari a 1-3 volte il valore di cut-off e due campioni a elevata positività contenenti più del 45% di cellule positive per la delezione). L'analisi è stata condotta utilizzando due replicati di ciascun campione nel corso di cinque giorni non consecutivi.

Tutti e tre i siti hanno condotto un'analisi intra-giorno, inter-giorno e inter-sito utilizzando lo stesso lotto di sonde e uno dei centri ha condotto inoltre un'analisi di riproducibilità inter-lotto utilizzando tre lotti differenti di sonde.

I risultati sono stati presentati come l'accordo complessivo rispetto alla classe negativa prevista (per i campioni negativi) e alla classe positiva prevista (per i campioni positivi).

Tabella 4. Riproducibilità per Del(7q) Deletion Probe

Studio di riproducibilità	Tipo di campione	Accordo
Riproducibilità intra-giorno (da campione a campione), inter-giorno (da giorno a giorno) e inter-sito (da sito a sito)	Midollo osseo negativo	100%
	Midollo osseo positivo basso	100%
	Midollo osseo positivo alto	100%
Riproducibilità inter-lotto (da lotto a lotto)	Midollo osseo negativo	100%
	Midollo osseo positivo basso	100%
	Midollo osseo positivo alto	100%

Prestazione clinica

Per assicurarsi che il prodotto rilevi i riarrangiamenti desiderati, è stata stabilita la prestazione clinica nel corso di 3 studi retrospettivi su campioni rappresentativi della popolazione prevista per il prodotto: materiale fissato in metanolo/acido acetico 3:1 da campioni anonimizzati di derivazione ematologica. Gli studi avevano una dimensione combinata dei campioni pari a 796 esemplari, con la popolazione target di 65 esemplari positivi e 731 esemplari negativi. I risultati sono stati confrontati allo stato noto del campione. È stato riscontrato che la concordanza/discordanza dei risultati soddisfaceva i criteri di accettabilità per questo studio.

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.

Tabella 5. Prestazione clinica per Del(7q) Deletion Probe

Variabile	Risultato
Sensibilità clinica (tasso di veri positivi, TPR)	97,95%
Specificità clinica (tasso di veri negativi, TNR)	99,23%
Tasso di falsi positivi (FPR) = 1 – Specificità	0,77%

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: 50558449LPH025JF

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

Bibliografia

- Jerez *et al.*, Blood 2012;119(25):6109-6118
- Fisher *et al.*, Blood 1997;89(6):2036-2041
- Trobaugh-Lotrario *et al.*, Bone Marrow Transplantation 2005;35(2):143-149
- Arsham, MS., Barch, MJ. 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.

Glossario dei simboli

EN ISO 15223-1:2021 - “Dispositivi medici - Simboli da usare con le informazioni fornite dal fabbricante - Parte 1: Requisiti generali” (© International Organization for Standardization)		
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 lotto	5.1.5
	it: Numero di catalogo	5.1.6
	it: Tenere lontano dalla luce del sole	5.3.2
	it: Limite di temperatura	5.3.7
	it: Consultare le istruzioni per l'uso	5.4.3
	it: Consultare le istruzioni per l'uso in formato elettronico ogt.com/IFU	5.4.3
	it: Attenzione	5.4.4
	it: Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	5.5.1
	it: Contenuto sufficiente 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/A

Brevetti e marchi commerciali

CytoCell è un marchio registrato di CytoCell Limited.

**CytoCell Limited**

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

Tel.: +44 (0)1223 294048

F: +44 (0)1223 294986

E-mail: probes@cytoCell.com

Sito web: www.ogt.com

**Sysmex Europe SE**

Bornbarch 1
22848 Norderstedt
GERMANIA

Tel.: +49 40 527260

Sito web: www.sysmex-europe.com

Cronologia delle versioni delle Istruzioni per l'uso (IFU)

V001 2023-07-25: Nuove IFU per il Regolamento (UE) 2017/746

V002 2025-08-29: Rimozione del marchio UKCA.