



A Sysmex Group Company



Istruzioni per l'uso (IFU)

REF: LPH 089 / LPH 089-S

CBFB Breakpart Probe



SOLO PER USO PROFESSIONALE



www.cytocell.com

Ulteriori informazioni e altre lingue disponibili su www.ogt.com/cytocell

Uso previsto

CytoCell® CBFB Breakpart Probe è un test qualitativo, non automatizzato d'ibridazione fluorescente *in situ* (FISH) utilizzato per rilevare riarrangiamenti cromosomici nella regione 16q22 sul cromosoma 16 in sospensioni cellulari derivate ematologicamente, fissate in soluzione di Carnoy (3:1 metanolo/acido acetico) da pazienti con leucemia mieloide acuta (LMA) confermata o sospetta.

Indicazioni per l'uso

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 del riarrangiamento di *CBFB* sarebbe importante per la gestione clinica.

Limitazioni

Il presente dispositivo è ideato per individuare riarrangiamenti con breakpoint nella regione coperta dai cloni rosso e verde in questo set di sonde, che include il gene *CBFB*. I breakpoint esterni a questa regione o riarrangiamenti varianti interamente contenuti in questa regione potrebbero non venire rilevati da questo prodotto.

Questo dispositivo non è destinato a: utilizzo come diagnostica indipendente, diagnostica di accompagnamento, test prenatale, screening basato sulla popolazione, test ambulatoriale o autotest.

Questo dispositivo non è stato convalidato per tipi di campioni, tipi di patologie o scopi diversi da quelli indicati nello scopo 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 di FISH.

La refertazione e l'interpretazione dei risultati della FISH devono essere effettuati da idoneo personale qualificato, in modo coerente con gli standard professionali della pratica medica, e devono prendere in considerazione altri importanti risultati di test e informazioni cliniche e diagnostiche.

Questo dispositivo è destinato esclusivamente all'uso professionale in laboratorio. Il mancato rispetto del protocollo può incidere sulle prestazioni e portare a risultati falsi positivi/negativi.

Principi del test

L'ibridazione fluorescente *in situ* (fluorescence in situ hybridization, FISH) è una tecnica che consente di rilevare sequenze di DNA su cromosomi in metafase o in nuclei interfascici da campioni citogenetici fissati. La tecnica prevede l'utilizzo di sonde di DNA in grado di ibridare per interi cromosomi o singole sequenze specifiche rappresenta un potente strumento in aggiunta all'analisi citogenetica con bandeggio G. Questa tecnica può oggi essere applicata come strumento investigativo essenziale nell'analisi cromosomica prenatale, ematologica e nei tumori solidi. Il DNA bersaglio, dopo fissazione e denaturazione, è disponibile per l'annealing ad una sonda di DNA, similmente denaturata, marcata con sostanza fluorescente, e che presenta 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 per essere visualizzato. L'utilizzo della microscopia a fluorescenza permette quindi la visualizzazione della sonda ibridata sul materiale target.

Informazioni sulla sonda

Il gene *CBFB* (subunità beta del fattore legante il nucleo) è localizzato su 16q22, è più comunemente riarrangiato a causa dell'inversione $inv(16)(p13.1;q22.1)$ o della traslocazione $t(16;16)(p13.1;q22.1)$. Raramente, sono state segnalate traslocazioni di 16q22 con con altri diversi partner genici, mentre invece è stata segnalata la delezione della banda 16q22¹.

Le leucemie mieloidi acute con $inv(16)(p13.1;q22.1)$ o $t(16;16)(p13.1;q22.1)$ formano un'entità di malattia riconosciuta secondo la classificazione dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) per neoplasie mieloidi e leucemia acuta². Tali riarrangiamenti sono osservati di frequente in pazienti con un sottotipo mielomonocitico con eosinofili del midollo osseo accresciuti, precedentemente indicato come LMA FAB (classificazione franco-americano-britannica) tipo M4Eo, e sono riscontrati nel 5-8%² di tutte le LMA. Anche i casi di LMA correlati alla terapia possono presentare questo riarrangiamento^{2,3}.

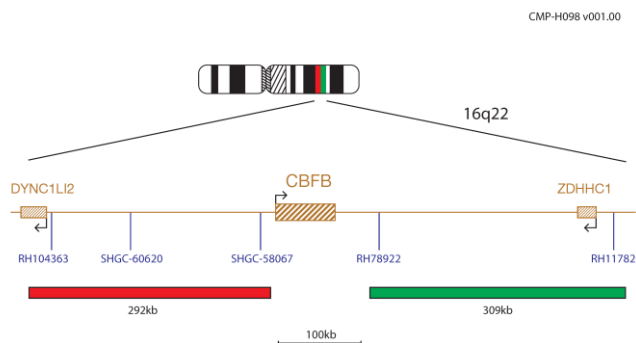
L'inversione $inv(16)(p13.1;q22.1)$ o la traslocazione $t(16;16)(p13.1;q22.1)$ producono riarrangiamenti del gene *CBFB-MYH11* e sono classificati come gruppo citogenetico a rischio favorevole in pazienti con LMA^{4,5,6}.

Sia per l'inversione $inv(16)(p13.1;q22.1)$ che per la traslocazione $t(16;16)(p13.1;q22.1)$, i breakpoint si verificano nell'introne 5 di *CBFB* e nell'introne 5 di *MYH11*. L'N-terminale di *CBFB* si fonde al C-terminale di *MYH11* con il suo dominio di multimerizzazione. La proteina chimerica risultante riduce la quantità di *CBFB* attivo. Si verifica anche un accumulo di multimeri di *CBFB-MYH11/CBFA* nel nucleo. *CBFB* regola l'espressione di certi fattori di ADP-ribosilazione (*ARF*) e altri geni soppressori tumorali (*TSG*) si pensa quindi che la proteina di fusione reprima l'espressione di *TSG*⁴. È stato dimostrato che questa proteina di fusione è necessaria ma non sufficiente per la leucemogenesi, e ulteriori studi sono in atto per determinare come la proteina sembri funzionare in collaborazione con *RUNX1* per mediare il segnale proliferativo e il blocco di differenziazione cellulare necessari per lo sviluppo della leucemia^{7,8}.

Specifiche della sonda

CBFB, 16q22, rosso

CBFB, 16q22, verde



La combinazione di CBFB Breakpart Probe è composta da due sonde distinte. La sonda rossa (292kb) è centromerica rispetto al gene *CBFB* e si estende oltre il marcatore RH104363 per coprire parte del gene *DYNC1L12* e include i marcatori SHGC-60620 e SHGC-58067. La sonda verde (309kb) è telomerica rispetto al gene *CBFB* e si estende attraverso il marcatore RH78922 oltre il gene *ZDHHC1* fino a una regione telomerica rispetto al marcatore RH11782.

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 (formamide; destrano solfato; sodio citrato salino (SSC)) e sono pronte all'uso.

Colorante di contrasto: 150 µl per provetta (15 test)

Il colorante di contrasto è DAPI Antifade ES (0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindolo) in mezzo di montaggio a base di glicerolo).

Avvertenze e misure precauzionali

1. Per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale di laboratorio.
2. 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.
3. DAPI è un potenziale cancerogeno. Maneggiare con cura; indossare guanti e un camice da laboratorio.
4. Non utilizzare se le fiale sono danneggiate o se il loro contenuto è compromesso in qualsiasi modo.
5. Attenersi alle normative di smaltimento locali per la propria zona insieme alle raccomandazioni presenti nella Scheda tecnica di sicurezza per stabilire lo smaltimento sicuro del prodotto. Ciò vale anche per i kit di test danneggiati.
6. Smaltire tutti i reagenti usati e gli altri materiali monouso contaminati seguendo le procedure per i rifiuti infettivi o potenzialmente infettivi. È responsabilità di ogni laboratorio gestire i rifiuti solidi e liquidi in base alla loro natura e al loro grado di pericolosità e trattarli e smaltirli (o farli trattare e smaltire) in conformità con le normative applicabili.
7. Gli operatori devono essere in grado di distinguere i colori rosso, blu e verde.
8. La mancata adesione 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 dovrebbero essere effettuati utilizzando popolazioni di cellule inalterate in campioni di prova.

Definizioni di temperatura

- -20 °C/Congelato/Nel congelatore: da -25 °C a -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C

DS304/CE-it v001.00/2021-10-01 (H098 v1)

Pagina 1 di 4

- 75 °C: +75 °C ±1 °C
- Temperatura ambiente (RT): da +15 °C a +25 °C

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 le provette della sonda e del colorante di contrasto al buio.



La sonda FISH, il colorante di contrasto DAPI Antifade ES e la soluzione di ibridazione rimangono stabili durante i cicli di congelamento-scongelo sperimentati durante il normale utilizzo (dove un ciclo costituisce la rimozione e la ricollocazione della provetta nel congelatore). L'esposizione alla luce deve essere ridotta al minimo ed evitata ove possibile. Conservare i

componenti nell'apposito contenitore a prova di luce. I componenti utilizzati e conservati in condizioni diverse da quelle indicate sull'etichetta possono non funzionare come previsto e influenzare negativamente i risultati del test. Devono essere messi in atto 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 termostatico 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 ad immersione per lenti per microscopio a fluorescenza
12. Centrifuga da banco
13. Vetrini da microscopia
14. Coprioggetto 24 x 24 mm
15. Timer
16. Incubatore a 37 °C
17. Soluzione collante gommosa
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 ad immersione ad olio plan apochromat 60/63x e 100x. I fluorofori utilizzati in questa sonda si 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 produttore 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 metanolo/acido acetico), le quali sono preparate secondo le linee guida del laboratorio o dell'istituto. Preparare i campioni essiccati all'aria sui 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 vetrini⁹.

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 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 fino a 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 fino a 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. Applicare il campione cellulare su un vetrino da microscopia. Lasciare asciugare il vetrino. (**Opzionale, se si utilizza una stufa per citogenetica:** La stufa 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**).

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

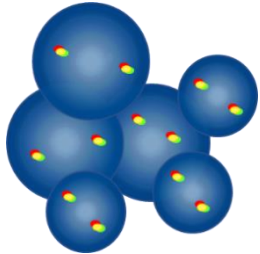
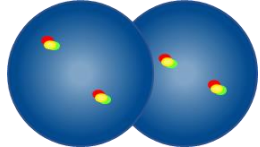
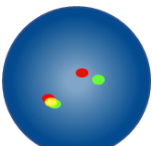
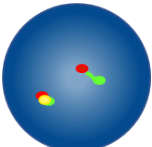
Valutazione della qualità dei vetrini

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

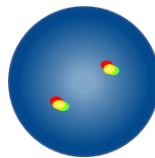
Linee guida di analisi

- 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
- 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 uno dei 3 segnali (rosso, verde, blu) non superiore a 2 lunghezze di segnale separate, contare come segnale 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 di fusione - lo spazio tra il segnale rosso e il segnale verde è minore di due lunghezze di sonda
	Contare come due segnali di fusione - un segnale di fusione è diffuso

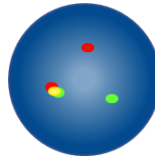
Risultati attesi

Modello di segnale normale atteso



In una cellula normale, sono attesi due segnali di fusione rosso/verde (2F).

Modello di segnale anormale atteso



In una cellula con un riarrangiamento del CBFB, il modello di segnale atteso sarà una fusione, un segnale rosso e un segnale verde (1F1R1V).

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

Interferenze/sostanze interferenti rilevanti note

Non sono note interferenze/sostanze interferenti rilevanti.

Reattività incrociata nota

Nessuna reattività incrociata nota.

Segnalazione di incidenti gravi

Per pazienti/utenti/terzi nell'Unione Europea e in Paesi con identico regime normativo (direttiva 98/79/CE/regolamento (UE) 2017/746 sui dispositivi medici diagnostici *in vitro*), se, durante l'uso di questo dispositivo o a seguito del suo utilizzo, si è verificato un incidente grave, segnalarlo al produttore e alla propria autorità nazionale competente.

Per incidenti gravi in altri Paesi, segnalarli al produttore e, dove applicabile, all'autorità nazionale competente.

Contatto di vigilanza del fabbricante: vigilance@ogt.com

Per le autorità nazionali competenti nell'UE, un elenco dei punti di contatto di vigilanza è rinvenibile su: https://ec.europa.eu/health/md_sector/contact_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 4 loci cromosomici in ciascuna delle 20 cellule in metafase di 5 campioni, ottenendo 400 punti 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%.

Tabella 1. Specificità analitica per CBFB Breakapart Probe

Target	Numero di cromosomi in metafase ibridati	Numero di loci correttamente ibridati	Specificità analitica	Intervallo di confidenza del 95%
16q22 Texas Red	200	200	100%	98,12-100%
16q22 FITC	200	200	100%	98,12-100%

Sensibilità analitica

La sensibilità analitica è la percentuale di cellule in interfase a cui è possibile fornire un punteggio con il modello di segnale normale atteso. Sono state analizzate almeno 200 cellule in interfase per ciascuna delle 25 sospensioni di cellule fissate da campioni di midollo osseo, con un minimo di 5000 nuclei valutati per ogni 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%.

Tabella 2. Sensibilità analitica per CBFB Breakapart Probe

Tipo di campione	Criteri di sensibilità	Risultati di sensibilità
Midollo osseo	>95%	97,92% (97,59-98,25%)

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. Sono state analizzate almeno 200 cellule in interfase per ciascuna delle 25 sospensioni di cellule fissate da campioni di midollo osseo, con un minimo di 5000 nuclei valutati per ogni 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.

Tabella 3. Caratterizzazione dei valori normali di cut off per CFBF Breakpart Probe

Tipo di campione	Risultati di cut off
Midollo osseo	3,08%

I laboratori devono verificare i valori di cut off utilizzando i propri dati^{10,11}.

Precisione

La precisione di questo prodotto è stata misurata in termini di precisione intra-giorno (tra campione e campione), precisione inter-giorno (tra giorno e giorno) e precisione per sito singolo inter-lotto (tra lotto e lotto).

Per valutare la precisione di questo prodotto sono stati utilizzati 2 campioni: 1 campione di midollo osseo negativo e 1 campione di midollo osseo a bassa positività.

Per stabilire la precisione inter-giorno e intra-giorno, i campioni sono stati valutati nel corso di 5 date non consecutive e per stabilire la precisione inter-lotto, sono stati valutati 3 lotti del prodotto su 4 repliche degli stessi campioni. I risultati sono stati presentati come la concordanza complessiva con la classe negativa prevista (per i campioni negativi).

Tabella 4. Riproducibilità e precisione per CFBF Breakpart Probe

Variabile	Tipo di campione	Accordo
Riproducibilità intra-giorno (tra campione e campione) e inter-giorno (tra giorno e giorno)	Midollo osseo negativo	100%
	Midollo osseo a bassa positività	100%
Riproducibilità intra-lotto	Midollo osseo negativo	100%
	Midollo osseo a bassa positività	100%

Prestazione clinica

Per garantire che il prodotto rilevi i riarrangiamenti previsti, è stata stabilita la prestazione clinica in due studi retrospettivi condotti presso siti di test esterni su campioni rappresentativi della popolazione prevista per il prodotto utilizzando materiale derivato da campioni ematologici fissati con metanolo/acido acetico 3:1. La dimensione combinata del campione per gli studi è stata di 113 campioni, con 20 esemplari positivi e 93 esemplari negativi. Tutti i campioni sono stati identificati e randomizzati per impedire il bias di analisi. I risultati sono stati confrontati allo stato noto del campione.

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 CFBF Breakpart Probe

Variabile	Risultato
Sensibilità clinica (tasso di veri positivi, TPR)	99,42%
Specificità clinica (tasso di veri negativi, TNR)	99,84%
Tasso di falsi positivi (specificità FPR=1)	0,16%

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

- Huret JL. Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. 1999; 3(3):147-149.
- Swerdlow, et al. (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, France, 4th edition, IARC, 2017
- Hernández JM, et al. Haematologica. 2000; 85(5):481-5.
- Moreno-Miralles I, et al. J Biol Chem. 2005;280(48):40097-103.
- Grimwade D, et al. Blood. 2010;116(3):354-365.
- Litzow MR. Haematologica. 2020;105(6):1475-77.
- Rao S. Blood. 2020;136(21):2361-2362.
- Zhen T, et al. Blood. 2020;136(21):2373-2385.
- Arsham MS, Barch MJ e 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, Van Dyke DL, Stupca PJ, et al. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16-23.

Glossario dei simboli

ISO 15223-1:2016 - "Dispositivi medici - Simboli da usare nelle etichette del dispositivo medico, nelle etichettature e nelle informazioni che devono essere fornite - Parte 1: Requisiti generali" (© Organizzazione internazionale per la standardizzazione)		
Simbolo	Titolo	Numero/i di riferimento
	it: Produttore	5.1.1
	it: Mandatario per la Comunità 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
	it: Attenzione	5.4.4
	it: Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	5.5.1
	it: Contenuto per <n> test	5.5.5
Simboli EDMA per reagenti e componenti IVD, revisione ottobre 2009		
Simbolo	Titolo	Numero/i di riferimento
	it: Contenuti (o contiene)	ND

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

Tel.: +44 (0)1223 294048

Fax: +44 (0)1223 294986

E-mail: probes@cytoCELL.com

Sito web: www.ogt.com



System Europe GmbH

Bornbarch 1
22848 Norderstedt
GERMANIA

Tel.: +49 40 527260

Sito web: www.system-europe.com

Cronologia versione IFU

V001.00 01-10-2021: Creazione di IFU per un nuovo prodotto