



A Sysmex Group Company



### Instrucțiuni de utilizare

REF: LPH 039-S / LPH 039

## Sonda CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe



NUMAI PENTRU UTILIZARE PROFESIONALĂ



www.cytocell.com

Informații suplimentare și în alte limbi sunt disponibile pe [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

### Limitări

Acest produs este conceput pentru a detecta inserții sau deleții ale unor fragmente genomice mai mari decât regiunea de care se atașează clonele roșii și verzi din acest set de sonde, care include regiunile *CKS1B* și *CDKN2C (P18)*. Este posibil ca inserțiile sau delețiile unor fragmente din afara acestei regiuni sau inserțiile sau delețiile parțiale în această regiune să nu fie detectate cu acest produs.

Acest test nu este destinat pentru: utilizarea ca diagnosticare de sine stătătoare, testare prenatală, screening la nivel de populație, testare la locul de acordare a asistenței medicale sau autotestare. Acest produs este destinat numai pentru utilizare profesională de laborator; toate rezultatele trebuie interpretate de personal cu calificare adecvată, luând în considerare rezultatele relevante ale altor teste.

Acest produs nu a fost validat pentru utilizarea pe tipuri de probe sau tipuri de boli altele decât cele specificate în destinația de utilizare.

Raportarea și interpretarea rezultatelor FISH trebuie să fie concordante cu standardele de practică profesională și trebuie să ia în considerare alte informații clinice și diagnostice. Acest kit este destinat ca test complementar altor teste diagnostice de laborator, iar acțiunea terapeutică nu trebuie inițiată exclusiv pe baza rezultatului FISH.

Nerespectarea protocolului poate afecta performanța și poate duce la rezultate fals pozitive/negative.

Acest kit nu a fost validat pentru scopuri în afara destinației de utilizare specificate.

### Destinația de utilizare

Sonda CytoCell CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe este un test calitativ, ne-automatizat de hibridizare fluorescență *in situ* (FISH), utilizat pentru detecția inserțiilor și delețiilor cromozomiale în regiunile 1p32.3 și 1q21 ale cromozomului 1 în suspensii de celule de origine hematologică, fixate în soluție Carnoy (metanol/acid acetic 3:1), de la pacienți cu diagnostic suspectat sau confirmat de mielom multiplu (MM).

### Indicații

Acest produs este conceput pentru a fi utilizat complementar la alte teste clinice și histopatologice în cadrul algoritmilor stabiliți de diagnostic și tratament în situațiile în care cunoașterea statutului *CKS1B* sau *CDKN2C (P18)* poate fi importantă pentru alegerea strategiei de gestionare clinică.

### Principiul testului

Hibridizarea fluorescență *in situ* (FISH) este o tehnică care permite detecția secvențelor de ADN pe cromozomii în metafază sau nucleii în interfază din probe citogenetice fixate. Această tehnică presupune utilizarea sondelor de ADN care se hibridizează la cromozomi întregi sau la secvențe unice separate și servește ca un important test complementar analizei citogenetice cu bandare G. Această tehnică poate fi aplicată în prezent ca instrument de investigație esențial în cadrul analizei cromozomiale prenatale, hematologice și a tumorilor solide. ADN-ul țintă, după fixare și denaturare, este disponibil pentru aliniere la o sondă de ADN denaturată în mod similar și marcată fluorescent, care are o secvență complementară. După hibridizare, sonda de ADN nelegată și legată în mod nespecific este îndepărtată, iar ADN-ul este contracolorat pentru vizualizare. După aceea, microscopia de fluorescență permite vizualizarea sondei hibridizate pe materialul țintă.

### Informații privind sonda

Gena *CKS1B* (subunitatea 1B de reglare a protein-kinazei *CDC28*) se localizează la nivelul 1q21.3, iar gena *CDKN2C* (inhibitorul 2C al kinazei ciclîn-dependente) se localizează la nivelul 1p32.3.

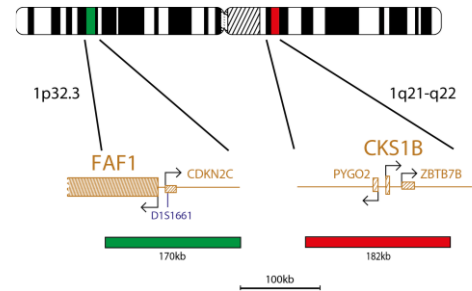
Inserțiile în regiunea 1q21 cu includerea genei *CKS1B* este una dintre cele mai frecvente aberații cromozomiale observate la pacienții cu mielom multiplu<sup>1</sup>. Supraexpresia genei *CKS1B* intensifică progresia ciclului celular, sporind caracterul proliferativ al afecțiunii<sup>2</sup>. Aceasta este asociată cu fenotipul avansat al mielomului multiplu și, în consecință, poate fi asociată cu un prognostic slab și progresia bolii<sup>1,2,3</sup>. Inserții la nivelul 1q21 au fost asociate cu o rată de supraviețuire mai scăzută, iar în cazurile de recidivare a bolii se observă o amplificare și mai mare. Adiții complete ale materialului genetic al brațului lung al cromozomului 1 se întâlnesc frecvent la pacienții cu mielom multiplu și se pot manifesta în formă de izocromozomi, duplicații sau translocații săritoare și sunt frecvent asociate cu progresia bolii<sup>4</sup>.

*CDKN2C* este o genă de supresie tumorală, responsabilă de inducerea morții celulare prin apoptoză și fragmentare a ADN-ului<sup>5</sup>. La pacienții cu mielom multiplu funcția acesteia este intensificată prin expresia citokinei IL-6, iar deleția homozigotă a genei respective este asociată cu o formă mai proliferativă a bolii<sup>5</sup>. Deși delețiile *CDKN2C* au fost raportate rar în cazurile de neoplazii la om, analizele citogenetice arată că anomaliile la nivelul 1p32-36 se observă la aproximativ 16% dintre cazurile de mielom multiplu uman și sunt asociate cu o rată globală de supraviețuire mai scăzută<sup>2,3,5,6</sup>.

Anomaliile citogenetice pot fi detectate cu ajutorul analizelor citogenetice convenționale în aproximativ o treime dintre cazurile de mielom multiplu, însă cu ajutorul FISH proporția anomaliilor cromozomiale detectate crește până la >90%<sup>7</sup>.

### Specificații privind sonda

*CKS1B*, 1q21-q22, roșu  
*CDKN2C (P18)*, 1p32.3, verde



Produsul *CKS1B/CDKN2C* constă dintr-o sondă de 182kb, marcată cu roșu, care se atașează de întreaga genă *CKS1B* și regiunile de flancare incluzând genele *PYGO2* și *ZBTB7B*, și o sondă verde, care se atașează de o regiune de 170kb, care include întreaga genă *CDKN2C*, markerul *D1S1661* și capătul centromeric al genei *FAF1*.

### Materiale furnizate

**Sonda:** 50 μl per flacon (5 teste) sau 100 μl per flacon (10 teste)

Sondele sunt furnizate pre-amestecate în soluție de hibridizare (formamidă; dextran sulfat; soluție salină — citrat de sodiu (SSC)) și sunt gata de utilizare.

**Contracolorant:** 150 μl per flacon (15 teste)

Contracolorantul este un agent anti-diminuare a colorării DAPI (ES: 0,125 μg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol)).

### Atenționări și precauții

1. Pentru diagnosticare *in vitro*. Numai pentru utilizare profesională.
2. Purtați mănuși la manevrarea sondelor de ADN și a contracolorantului DAPI.
3. Amestecurile de sonde conțin formamidă, care este teratogen; nu inhalați vaporii și nu permiteți contactul cu pielea. Manevrați cu atenție; purtați mănuși și halat de laborator.
4. DAPI este potențial carcinogen. Manevrați cu atenție; purtați mănuși și halat de laborator.
5. Eliminați toate materialele periculoase în conformitate cu ghidurile instituției dumneavoastră privind eliminarea deșeurilor periculoase.
6. Operatorii trebuie să fie capabili să distingă culorile roșu, albastru și verde.
7. Nerespectarea protocolului specificat, inclusiv a indicațiilor privind reactivii, poate afecta performanța și poate duce la rezultate fals pozitive/negative.
8. Sonda nu trebuie diluată sau amestecată cu alte sonde.
9. Neutilizarea a 10 μl de sondă la etapa de pre-denaturare a protocolului poate afecta performanța și poate duce la rezultate fals pozitive/negative.

## Păstrare și manevrare



Kitul trebuie păstrat la temperaturi cuprinse între -25 °C și -15 °C în congelator până la data de expirare, indicată pe eticheta kitului. Flacoanele cu sondă și contracolorant trebuie păstrate la întuneric.



Sonda rămâne stabilă pe întreaga durată a ciclurilor de congelare-decongelare, produse în timpul utilizării normale (un ciclu constituind scoaterea sondei din congelator și punerea ei la loc în congelator), și este fotostabilă timp de maximum 48 de ore după expunere la iluminare continuă. Trebuie depuse toate eforturile pentru a limita expunerea la lumină și modificările de temperatură.

## Echipe și materiale necesare, dar neincluse în setul de livrare

Trebuie utilizate echipamente calibrate:

1. Placă fierbinte (cu placă solidă și control precis al temperaturii până la 80 °C)
2. Micropipete cu volum variabil, calibrate și vârfuri, în intervalul 1 µl - 200 µl
3. Baie de apă cu control precis al temperaturii la 37 °C și 72 °C
4. Eprubete de microcentrifugă (0,5 ml)
5. Microscop de fluorescență (vă rugăm să consultați secțiunea Recomandare privind microscopul de fluorescență)
6. Microscop în contrast de fază
7. Vase Coplin din plastic, ceramică sau sticlă rezistentă la căldură, curate
8. Pensă
9. pH-metru calibrat (sau benzi indicatoare de pH capabile să măsoare valori ale pH-ului de 6,5 – 8,0)
10. Recipient umidificat
11. Ulei de imersie pentru lentile de microscop de grad de fluorescență
12. Centrifugă pentru banc de lucru
13. Lame de microscop
14. Lamele de 24x24 mm
15. Cronometru
16. Incubator la 37 °C
17. Adeziv din soluție de cauciuc
18. Mixer vortex
19. Cilindri gradați
20. Agitator magnetic
21. Termometru calibrat

## Echipe opționale, care nu sunt furnizate

1. Cameră de uscare de citogenetică

## Reactivi necesari, dar care nu sunt furnizați

1. Soluție salină - citrat de sodiu (SSC - saline-sodium citrate) 20x
2. Etanol 100%
3. Tween-20
4. Hidroxid de sodiu (NaOH) 1M
5. Acid clorhidric (HCl) 1M
6. Apă purificată

## Recomandare privind microscopul de fluorescență

Utilizați o lampă cu mercur de 100 wați sau echivalent și obiective plane apocromate cu imersie în ulei de 60/63x sau 100x pentru vizualizare optimă. Fluoroforii utilizați în acest set de sonde vor fi excitați și vor emite la următoarele lungimi de undă:

Fluorofor	Excitația <sub>max</sub> [nm]	Emisia <sub>max</sub> [nm]
Verde	495	521
Roșu	596	615

Asigurați-vă de atașarea la microscop a unor filtre de excitație și emisie adecvate care acoperă lungimile de undă enumerate mai sus. Utilizați un filtru cu bandă de trecere triplă DAPI/spectru verde/spectru roșu sau un filtru cu bandă de trecere dublă spectru verde/spectru roșu pentru vizualizarea simultană optimă a fluoroforilor de culoare verde și roșie.

Verificați microscopul de fluorescență înainte de utilizare, pentru a vă asigura că acesta funcționează corect. Utilizați ulei de imersie potrivit pentru microscopia de fluorescență și formulat pentru autofluorescență redusă. Evitați amestecul agentului anti-diminuare a colorării DAPI cu uleiul de imersie pentru microscop, deoarece acest lucru ar estompa semnalele. Urmăți recomandările producătorului cu privire la durata de viață a lămpii și vârsta filtrelor.

## Prepararea probelor

Kitul este conceput pentru utilizarea pe suspensii de celule de origine hematologică, fixate în soluție Carnoy (metanol/acid acetic 3:1), care sunt preparate în conformitate cu ghidurile laboratorului sau instituției. Preparați probele uscate la aer pe lame de microscop în conformitate cu procedurile standard de citogenetică. *Manualul de laborator de analize citogenetice (Cytogenetics Laboratory Manual)* al AGT (Association of Genetic Technologists) conține recomandări pentru colectarea specimenelor, cultura, recoltarea și crearea lamelor<sup>8</sup>.

## Prepararea soluțiilor

### Soluțiile de etanol

Diluati etanol 100% cu apă purificată în proporțiile indicate mai jos și amestecați bine.

- Etanol 70% - 7 părți etanol 100% la 3 părți apă purificată
  - Etanol 85% - 8,5 părți etanol 100% la 1,5 părți apă purificată
- Păstrați soluțiile timp de maximum 6 luni la temperatura camerei, într-un recipient ermetic.

### Soluție SSC 2x

Diluati 1 parte soluție SSC 20x cu 9 părți apă purificată și amestecați temeinic. Verificați pH-ul și ajustați la pH de 7,0 prin utilizarea de NaOH sau HCl, după cum este necesar. Păstrați soluția timp de maximum 4 săptămâni la temperatura camerei într-un recipient ermetic.

### Soluție SSC 0,4x

Diluati 1 parte soluție SSC 20x cu 49 părți apă purificată și amestecați temeinic. Verificați pH-ul și ajustați la pH de 7,0 prin utilizarea de NaOH sau HCl, după cum este necesar. Păstrați soluția timp de maximum 4 săptămâni la temperatura camerei într-un recipient ermetic.

### Soluție SSC 2x, Tween-20 0,05%

Diluati 1 parte soluție SSC 20x cu 9 părți apă purificată. Adăugați 5 µl de Tween-20 per 10 ml și amestecați temeinic. Verificați pH-ul și ajustați la pH de 7,0 prin utilizarea de NaOH sau HCl, după cum este necesar. Păstrați soluția timp de maximum 4 săptămâni la temperatura camerei într-un recipient ermetic.

## Protocolul FISH

(Notă: Asigurați-vă de faptul că expunerea sondei și a contracolorantului la luminile din laborator este limitată în toate momentele temporale.)

### Prepararea lamei

1. Depuneți punctiform proba de celule pe o lamă de microscop din sticlă. Lăsați să se usuce. (**Opțional, dacă utilizați o cameră de uscare destinată analizelor citogenetice:** lamele trebuie plasate într-o cameră de uscare pentru analize citogenetice. Camera trebuie să funcționeze la aproximativ 25 °C și umiditate de 50% pentru depunerea punctiformă optimă a probei de celule. Dacă nu este disponibilă o cameră de uscare de citogenetică, utilizați ca alternativă o hotă.)
2. Imersați lama în SSC 2x timp de 2 minute la temperatura camerei (RT - room temperature), fără agitare.
3. Deshidratați în serii de etanol (70%, 85% și 100%), fiecare timp de 2 minute la RT.
4. Lăsați să se usuce.

### Pre-denaturarea

5. Scoateți sonda din congelator și lăsați-o să se încălzească până la temperatura camerei. Centrifugați scurt eprubetele înainte de utilizare.
6. Asigurați-vă de faptul că soluția de sondă este amestecată uniform, cu o pipetă.
7. Îndepărtați 10 µl de sondă per test și transferați într-o eprubetă de microcentrifugă. Puneți rapid la loc în congelator sonda rămasă.
8. Plasați sonda și lama cu probă pentru preîncălzire pe o placă fierbinte de 37 °C (+/- 1 °C) timp de 5 minute.
9. Depuneți punctiform 10 µl de amestec de sondă pe proba de celule și aplicați cu atenție o lamelă. Sigilați cu adeziv din soluție de cauciuc și lăsați adezivul să se usuce complet.

### Denaturarea

10. Denaturați simultan proba și sonda prin încălzirea lamei pe o placă fierbinte la 75 °C (+/- 1 °C) timp de 2 minute.

### Hibridizarea

11. Plasați lama într-un recipient umed, impermeabil pentru lumină, la 37 °C (+/- 1 °C) și lăsați-o să stea peste noapte.

### Spălările post-hibridizare

12. Scoateți DAPI din congelator și lăsați să se încălzească la RT.
13. Îndepărtați cu atenție lamela și toate urmele de adeziv.
14. Imersați lama în SSC 0,4x (pH 7,0) la 72 °C (+/- 1 °C) timp de 2 minute fără agitare.
15. Lăsați lama să se scurgă și imersați-o în SSC x2, Tween-20 0,05% la RT (pH 7,0) timp de 30 secunde fără agitare.
16. Lăsați lama să se scurgă și aplicați 10 µl de agent anti-diminuare a colorării DAPI pe fiecare probă.
17. Acoperiți cu o lamelă, îndepărtați orice eventuale bule și lăsați culoarea să se dezvolte la întuneric timp de 10 minute.
18. Vizualizați cu un microscop de fluorescență (consultați secțiunea **Recomandare privind microscopul de fluorescență**).

### Stabilitatea pe lame finite

Lamele finite rămân analizabile timp de maximum 1 lună dacă sunt păstrate la întuneric, la/sub RT.

### Recomandări procedurale

1. Coacerea sau îmbătrânirea lamelor poate reduce semnalul de fluorescență
2. Condițiile de hibridizare pot fi influențate în mod negativ de utilizarea unor reactivi diferiți de cei furnizați sau recomandați de CytoCELL Ltd.
3. Utilizați un termometru calibrat pentru măsurarea temperaturilor soluțiilor, băilor de apă și incubatoarelor, deoarece aceste temperaturi sunt critice pentru performanța optimă a produsului.

- Concentrațiile, pH-ul și temperaturile de spălare sunt importante, deoarece o strictețe redusă poate avea ca rezultat atașarea nespecifică a sondei, iar o strictețe prea mare poate avea ca rezultat lipsa de semnal
- Denaturarea incompletă poate avea ca rezultat lipsa de semnal, iar denaturarea excesivă poate avea ca rezultat atașarea nespecifică
- În urma hibridizării excesive se pot forma semnale suplimentare sau neașteptate
- Înainte de utilizarea testului în scopuri diagnostice, utilizatorii trebuie să optimizeze protocolul pentru propriile lor probe
- Condițiile suboptimale pot avea ca rezultat atașarea nespecifică, care poate fi interpretată eronat ca semnal al sondei

#### Interpretarea rezultatelor

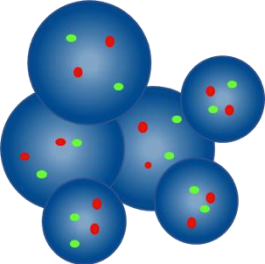
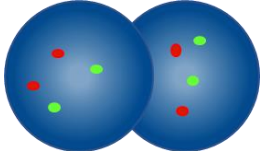
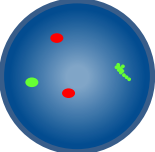
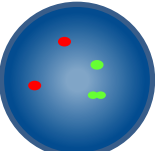
##### Evaluarea calității lamei

Lama nu trebuie analizată dacă:

- Semnalele sunt prea slabe pentru a fi analizate în filtre unice - pentru a continua analiza, semnalele trebuie să apară luminoase, distincte și ușor evaluabile
- Există un număr mare de celule agregate/suprapuse care obstrucționează analiza
- >50% dintre celule nu sunt hibridizate
- Există un exces de particule fluorescente între celule și/sau o ceață fluorescentă care interferează cu semnalele - în lamele optime, fundalul trebuie să apară întunecat sau negru și curat
- Marginile nucleilor celulelor nu pot fi distinse și nu sunt intacte

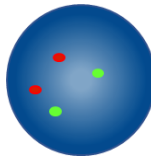
##### Linii directe privind analiza

- Fiecare probă trebuie analizată și interpretată de doi analiști. Orice discrepanță trebuie rezolvată prin evaluarea de către un al treilea analist
- Fiecare analist trebuie să fie calificat adecvat în conformitate cu standardele recunoscute la nivel național
- Fiecare analist trebuie să atribuie un scor în mod independent unui număr de 100 de nuclei pentru fiecare probă. Primul analist trebuie să înceapă analiza din partea stângă a lamei, iar cel de-al doilea analist, din partea dreaptă
- Fiecare analist trebuie să își documenteze rezultatele în fișe separate
- Analizați numai nucleii intacti, nu și pe cei suprapuși sau aglomerați sau nucleii acoperiți de resturi citoplasmice sau cu un grad ridicat de autofluorescență
- Evitați zonele în care există un exces de resturi citoplasmice sau hibridizare nespecifică
- Intensitatea semnalului poate varia, chiar și în cazul unui singur nucleu. În astfel de cazuri, utilizați filtre unice și/sau ajustați planul focal
- În condiții suboptimale, semnalele pot apărea difuze. Dacă două semnale de aceeași culoare se ating unul pe celălalt, sau dacă distanța dintre ele nu este mai mare decât două lățimi de semnal, sau atunci când există un fir slab care conectează cele două semnale, considerați ca un singur semnal
- Dacă aveți orice dubii cu privire la caracterul analizabil al unei celule, nu o analizați

Linii directe privind analiza	
	Nu se analizează — nucleele se află prea aproape unele de celelalte pentru a le putea determina hotărâre
	Nucleele suprapuse nu se analizează — nu sunt vizibile toate zonele celor două nuclee
	Considerați ca două semnale de control — unul dintre cele două semnale verzi este difuz
	Considerați ca două semnale de control — breșa în cadrul unui semnal verde este mai mică decât lățimea a două semnale

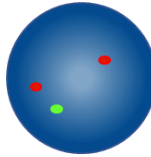
#### Rezultate așteptate

##### Tiparul de semnale normal așteptat

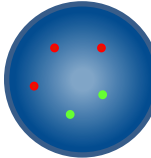


Într-o celulă normală se așteaptă detectarea a două semnale roșii și două semnale verzi (2R, 2V).

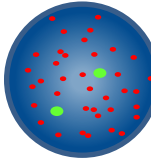
##### Modelul de semnale anormale așteptat



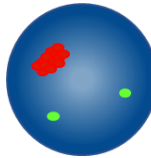
Într-o celulă cu o deleție a regiunii 1p32.3, modelul așteptat de semnale este: două semnale roșii și un semnal verde (2R, 1V).



Într-o celulă cu inserție la nivelul locusului 1q21 se așteaptă detectarea a două semnale verzi și a trei sau mai multe semnale roșii (xR, 2V).



Într-o celulă cu amplificarea locusului 1q21, în rezultatul căreia se formează cromozomi „double minute”, se va observa un număr mare de semnale roșii împărțiate în citoplasmă împreună cu cele două semnale verzi de control (xR, 2V).



Într-o celulă cu amplificarea locusului 1q21, în rezultatul căreia se formează o regiune colorată omogenă, se va observa un număr mare de semnale roșii de-a lungul segmentului cromozomial extins în lungime și lățime, alături de cele două semnale verzi de control (xR, 2V).

Sunt posibile alte tipare de semnale în specișenele cu aneuploidie/neechilibrate.

##### Reactivitate încrucișată cunoscută

Nu este cunoscută nicio reactivitate încrucișată.

##### Raportarea evenimentelor adverse

Dacă credeți că dispozitivul a funcționat necorespunzător sau a suferit o deteriorare a caracteristicilor de performanță, care este posibil să fi contribuit la producerea unui eveniment advers (de exemplu, diagnosticare întârziată sau eronată, tratament întârziat sau inadecvat), acest lucru trebuie raportat imediat producătorului (e-mail: [vigilance@ogt.com](mailto:vigilance@ogt.com)).

Dacă acest lucru este aplicabil, evenimentul trebuie raportat, de asemenea, autorității competente la nivel național. O listă de puncte de contact de vigență se găsește la: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

##### Caracteristici de performanță specifice

###### Specificitatea analitică

Specificitatea analitică este procentul de semnale care se hibridizează la locusul corect și nu în altă locație. Specificitatea analitică a fost stabilită prin analizarea unui total de 200 locusuri țintă. Specificitatea analitică a fost calculată ca numărul de semnale FISH care se hibridizează la locusul corect împărțit la numărul total de semnale FISH hibridizate.

Tabelul 1. Specificitatea analitică a sondei CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe

Sonda	Locusul țintă	Nr. de semnale hibridizate la locusul corect	Nr. total de semnale hibridizate	Specificitatea (%)
CKS1B roșu	1q21	200	200	100
Verde CDKN2C	1p32.3	200	200	100

#### Sensibilitatea analitică

Sensibilitatea analitică este procentul de celule de interfață cărora li se poate atribui un scor cu tiparul de semnale normal așteptat. Sensibilitatea analitică a fost stabilită prin analizarea celulelor în interfață din diferite probe normale. Sensibilitatea a fost calculată ca procentul de celule cărora li se poate atribui un scor cu tiparul de semnale așteptat (cu un interval de încredere de 95%).

Tabelul 2. Sensibilitatea analitică a sondei CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe

Nr. de celule cu tipare de semnale așteptate	Nr. de celule cu semnale cărora li se poate atribui un scor	Sensibilitatea (%)	Interval de încredere de 95%
477	500	95,4	3,1

#### Caracterizarea valorilor limită de normalitate

Valoarea limită de normalitate, în asociere cu sondele FISH, este procentul maxim de celule în interfață cărora li se poate atribui un scor cu un tipar de semnale anormal specific la care proba este considerată normală pentru tiparul de semnale respectiv.

Valoarea limită de normalitate a fost stabilită prin utilizarea de probe provenite de la pacienți normali și pozitivi. Pentru fiecare probă, au fost înregistrate tiparele de semnale ale 100 de celule. A fost calculat indicele Youden pentru a afla valoarea limită pentru care sensibilitatea + specificitatea-1 este maximizată.

Tabelul 3. Caracterizarea valorilor normale de referință ale sondei CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe

Tipar de semnale anormal	Indicele Youden	Limită de normalitate (%)
3R, 2V	0,98	4

Laboratoarele trebuie să verifice valorile de referință în baza propriilor date<sup>9,10</sup>.

#### Precizia și reproductibilitatea

Precizia este un indicator al variației naturale a unui test atunci când este repetat de mai multe ori în aceleași condiții. Aceasta a fost evaluată prin analizarea unor repetări ale aceleiași serii de fabricație al sondei testate pe aceeași probă, în aceleași condiții, în aceeași zi.

Reproductibilitatea este un indicator al variabilității unui test și a fost stabilită în termeni de variabilitate între probe, între zile și între serii. Reproducibilitatea între zile a fost evaluată prin analizarea aceleiași probe în trei zile diferite. Reproducibilitatea între serii a fost evaluată prin analizarea aceleiași probe prin utilizarea a trei serii de fabricație diferite ale sondei într-o singură zi. Reproducibilitatea între probe a fost evaluată prin analizarea a trei replicare ale unei probe într-o singură zi. Pentru fiecare probă, au fost înregistrate tiparele de semnale ale 100 de celule în interfață și a fost calculat procentul de celule cu tiparul de semnale așteptat.

Reproductibilitatea și precizia au fost calculate ca deviație standard (STDEV - Standard Deviation) între replicare pentru fiecare variabilă și STDEV globală medie.

Tabelul 4. Reproducibilitatea și precizia sondei CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe

Variabilă	Deviația standard (STDEV - Standard Deviation)
Precizia	0,77
Între probe	0,53
Între zile	0,38
Între serii	0,58
Deviația globală	0,59

#### Performanța clinică

Performanța clinică a fost stabilită pe o probă reprezentativă pentru populația destinată pentru produs. Pentru fiecare probă, au fost înregistrate tiparele de semnale ale  $\geq 100$  de celule în interfață. A fost efectuată o determinare de normalitate/anormalitate prin compararea procentului de celule cu tipar de semnale anormal specific cu valoarea limită de normalitate. Apoi, rezultatele au fost comparate cu situația cunoscută a probei.

Au fost analizate rezultatele datelor clinice cu scopul de a genera valori privind sensibilitatea, specificitatea și valori limită, prin utilizarea unei abordări unidimensionale.

Tabelul 5. Performanța clinică a sondei CKS1B/CDKN2C (P18) Amplification/Deletion Probe

Variabilă	Rezultat
Sensibilitate clinică (rata de rezultate adevărat pozitive - TPR, true positive rate)	98,1%
Specificitate clinică (rata de rezultate adevărat negative - TNR, true negative rate)	99,8%
Rata de rezultate fals pozitive (FPR, false positive rate) = 1 - specificitatea	0,2%

#### Informații suplimentare

Pentru informații suplimentare referitoare la produs, vă rugăm să contactați departamentul de asistență tehnică CytoCell.

Tel: +44 (0)1223 294048










E-mail: techsupport@cytoCELL.com

Internet: www.ogt.com

#### Referințe

- Hanamura I, Blood 2006;108(5):1724-32
- Fonseca *et al.*, Leukemia 2009;23(12):2210-2221
- Sawyer, Cancer Genetics 2011;204(1):3-12
- Fonseca *et al.*, Leukemia 2006;20(11):2034-40
- Leone *et al.*, Clin Cancer Res 2008;14(19):6033-41
- Kulkarni *et al.*, Leukemia 2002;16:127-34
- Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
- 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.

#### Ghidul simbolurilor

REF	ro: Număr de catalog
	ro: Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro
	ro: Seria de fabricație
	ro: Consultați instrucțiunile de utilizare
	ro: Producător
	ro: Data de expirare
	ro: Limită de temperatură
	ro: A se feri de lumina solară
	ro: Conține o cantitate suficientă pentru <n> teste
	ro: Conținut

#### Brevete și mărci comerciale

CytoCell este o marcă înregistrată a CytoCell Ltd.

#### CytoCell Ltd.

Oxford Gene Technology,  
418 Cambridge Science Park,  
Milton Road,  
Cambridge, CB4 0PZ, Marea Britanie  
Tel: +44(0)1223 294048  
Fax: +44(0)1223 294986  
E-mail: probes@cytoCELL.com  
Internet: www.ogt.com

