



A Sysmex Group Company



### Instrucciones de uso

REF: LPH 023-S / LPH023

## PML/RAR $\alpha$ (RARA) Translocation, Dual Fusion Probe



SOLO PARA USO PROFESIONAL



www.cytocell.com

Más información y otros idiomas disponibles en [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

### Limitaciones

Este producto está diseñado para detectar reordenamientos mediante valores críticos en la región cubierta por los clones rojo y verde de este conjunto de sonda, en la que se incluyen las regiones *PML* y *RAR $\alpha$* . Es posible que con este producto no se detecten valores críticos fuera de esta región ni variantes de los reordenamientos contenidas en su totalidad dentro de la misma.

El ensayo no está previsto para su uso como técnica diagnóstica, prueba prenatal, método de cribado poblacional, análisis de diagnóstico inmediato o prueba de autodiagnóstico independiente. Este producto está previsto exclusivamente a un uso clínico profesional y todos los resultados deben ser interpretados por personal debidamente cualificado teniendo en cuenta los resultados de otros ensayos pertinentes.

Este producto no ha sido validado para su uso en tipos de muestras o de enfermedades distintas de las especificadas en su uso previsto.

La notificación y la interpretación de los resultados de ensayos de hibridación *in situ* fluorescente (FISH, por sus siglas en inglés) deben llevarse a cabo de conformidad con las normas de práctica profesional y tener en cuenta otros datos clínicos y de diagnóstico. Este kit está previsto como complemento de otras pruebas analíticas diagnósticas, por lo que no se debe iniciar ninguna acción terapéutica basada exclusivamente en el resultado de un ensayo de FISH.

Si no se sigue el protocolo, el resultado se podría ver afectado y se podrían generar falsos positivos o falsos negativos.

Este kit no ha sido validado para ningún fin que no esté cubierto en el uso previsto declarado.

### Uso previsto

CytoCell PML/RAR $\alpha$  (RARA) Translocation, Dual Fusion Probe es un ensayo cualitativo no automatizado de hibridación *in situ* fluorescente (FISH, por sus siglas en inglés) que permite detectar reordenamientos cromosómicos entre la región 15q24 del cromosoma 15 y las regiones 17q21.1 y 17q21.2 del cromosoma 17 en suspensiones de células de origen hematológico fijadas en solución fijadora de Carnoy (3:1 metanol/ácido acético) de pacientes con sospecha o diagnóstico confirmado de leucemia mielógena aguda (LMA).

### Indicaciones

Este producto está previsto como complemento de otras pruebas clínicas e histopatológicas en protocolos diagnósticos clínicos reconocidos en los que el conocimiento del estado de la translocación *PML-RAR $\alpha$*  resultaría relevante para el tratamiento clínico.

### Principios del ensayo

La hibridación *in situ* fluorescente (FISH) es una técnica que permite detectar secuencias de ADN sobre cromosomas metafásicos o en núcleos interfásicos de muestras citogenéticas fijadas. En la técnica, que constituye un excelente complemento de los análisis citogenéticos por bandejo cromosómico de Giemsa, se emplean sondas de ADN que hibridan con cromosomas completos o secuencias únicas simples. Esta técnica ahora puede aplicarse como una herramienta de investigación esencial en el análisis cromosómico prenatal de tumores sólidos y hematológicos. Una vez fijado y desnaturalizado, el ADN de interés está preparado para hibridar con una sonda de ADN marcada con fluorescencia e igualmente desnaturalizada que contiene una secuencia complementaria. Tras la hibridación, se retira la sonda de ADN libre o sin unión específica y el ADN se contrañe para su visualización. A continuación, se puede

observar mediante microscopía de fluorescencia la sonda hibridada sobre el material de interés.

### Información sobre las sondas

El gen *PML* (*leucemia promielocítica*) se encuentra en 15q24.1 y el gen *RAR $\alpha$*  (*receptor de ácido retinoico alfa*) está ubicado en 17q21.2. La translocación t(15;17)(q24;q21) da lugar al gen de fusión *PML-RAR $\alpha$* , que es el rasgo diagnóstico característico de la leucemia promielocítica aguda (LPA).

El gen de fusión *PML-RAR $\alpha$* , generado con la translocación t(15;17)(q24;q21), se encuentra en más del 90 % de los casos de LPA, un tipo de leucemia que representa el 5-8 % de los casos de LMA<sup>1,2</sup>. En un subconjunto de casos, se pueden observar variantes de las translocaciones con el gen *RAR $\alpha$* . Entre los genes compañeros de fusión, se encuentran el gen *NPM1* en 5q35, el gen *NUMA1* en 11q13, el gen *ZBTB16* (PLZF) en 11q23, el gen *STAT5B* en 17q21, el gen *PRKAR1A* en 17q24, el gen *FIP1L1* en 4q12 y el gen *BCOR* en Xp11<sup>3,4,5</sup>.

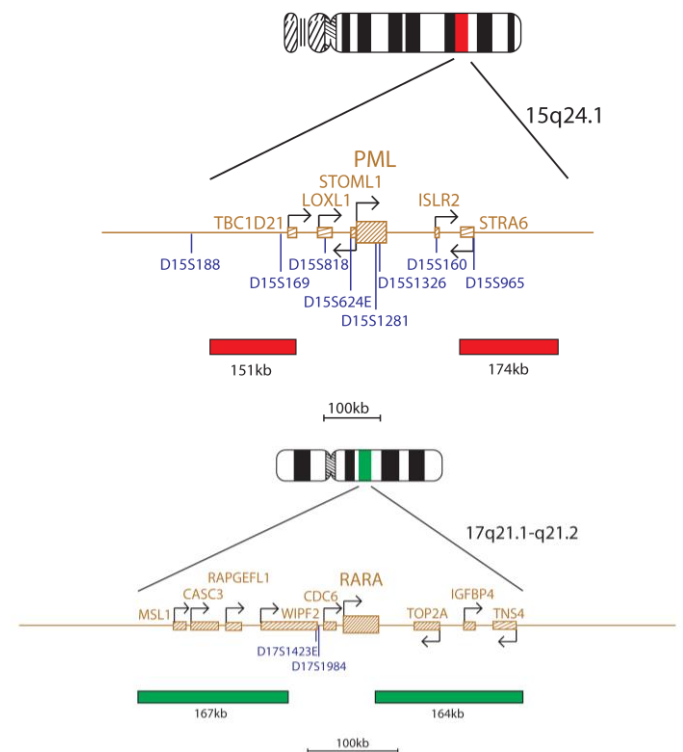
Tanto el gen *PML* como el gen *RAR $\alpha$*  se han relacionado con la hematopoyesis normal. El gen *PML* posee actividad proapoptótica y de supresión del crecimiento, mientras que el gen *RAR $\alpha$*  es un factor de transcripción que promueve el efecto del ácido retinoico ante elementos de respuesta concretos<sup>6</sup>. La proteína de fusión *PML-RAR $\alpha$*  se comporta como un receptor de ácido retinoico modificado con capacidad de transmitir señales oncogénicas<sup>7</sup>.

El tratamiento inmediato de los pacientes con LPA es crucial, dados los trastornos de la coagulación letales y las hemorragias potencialmente mortales presentes en el momento del diagnóstico. Antes de la introducción de la tretinoína y del trióxido de arsénico en los protocolos terapéuticos para la LPA, la enfermedad contaba con un pronóstico desfavorable; sin embargo, desde que se comenzaron a usar esos tratamientos, la tasa de supervivencia global ha mejorado drásticamente y casi el 90 %<sup>5</sup> de los pacientes logran curarse. Los pacientes con variantes de las translocaciones con el gen *RAR $\alpha$*  presentan distintos grados de sensibilidad ante el tratamiento y algunos muestran resistencia a los protocolos terapéuticos<sup>3,5</sup>. Por tanto, resulta importante diferenciar entre los pacientes de LPA con fusión *PML-RAR $\alpha$*  y los pacientes con variantes de las translocaciones con el gen *RAR $\alpha$* .

### Características de las sondas

*PML*, 15q24.1, en rojo

*RAR $\alpha$* , 17q21.1-q21.2, en verde



El conjunto de sondas *PML*, marcadas en rojo, se compone de una sonda de 151 kb centromérica al gen *PML* y de una sonda de 174 kb telomérica al gen *PML*. El conjunto de sondas *RAR $\alpha$* , marcadas en verde, se compone de una sonda de 167 kb, centromérica al gen *RAR $\alpha$*  (*RARA*), que incluye el gen *CASC3* y de una sonda de 164 kb que incluye el extremo telomérico del gen *RAR $\alpha$* , así como los genes *TOP2A* y *IGFBP4*.

### Materiales suministrados

**Sonda:** 50  $\mu$ l por vial (5 ensayos) o 100  $\mu$ l por vial (10 ensayos)

Las sondas se suministran premezcladas en disolución de hibridación (formamida; sulfato de dextrano; citrato de sodio salino [SSC]) y vienen listas para su uso.

**Tinción de contraste:** 150  $\mu$ l por vial (15 ensayos)

Se utiliza DAPI AntiFade como tinción de contraste (ES: 0,125  $\mu$ g/ml de DAPI [4,6-diamidino-2-fenilindol]).

### Advertencias y precauciones

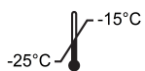
1. Para uso diagnóstico *in vitro*. Solo para uso profesional.

DS096/CE-es v011.00/2020-12-01 (H043 v2 / H044 v2)

Página 1 de 4

- Use guantes al manipular las sondas de ADN y la tinción de contraste con DAPI.
- Las mezclas de las sondas contienen formamida, que es un teratógeno; no respire los vapores ni permita que entre en contacto con la piel. Manipúlelo con cuidado; utilice guantes y bata de laboratorio.
- El DAPI puede ser carcinógeno. Manipúlelo con cuidado; utilice guantes y bata de laboratorio.
- Deseche todos los materiales peligrosos de acuerdo con las directrices de eliminación de residuos peligrosos de su centro.
- Todos los operarios deberán poder distinguir los colores rojo, azul y verde.
- Si no se siguen el protocolo y los reactivos indicados, el resultado se podría ver afectado y se podrían producir falsos positivos o falsos negativos.
- La sonda no se deberá diluir ni mezclar con otras sondas.
- Si no se usan 10 µl de sonda durante la fase del protocolo previa a la desnaturalización, el resultado se podría ver afectado y se podrían generar falsos positivos o falsos negativos.

### Conservación y manipulación



El kit debe conservarse en el congelador a una temperatura de entre -25 °C y -15 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del kit. Los viales de las sondas y de la tinción de contraste se deben conservar en la oscuridad.



La sonda conserva su estabilidad durante los ciclos de congelación y descongelación que se experimentan durante el uso normal (la extracción de la sonda del congelador constituiría el primer ciclo y su reposición en el congelador, el segundo) y es fotoestable hasta 48 horas después de haberse expuesto a condiciones de luz continua. Debe hacerse todo lo posible por limitar la exposición a la luz y los cambios de temperatura.

### Equipos y materiales necesarios pero no suministrados

Se deberán utilizar los siguientes equipos calibrados:

- Placa calentadora (con una placa sólida y control de temperatura de precisión de hasta 80 °C)
- Micropipetas calibradas de distintos volúmenes y puntas de 1 µl a 200 µl
- Baño María con control de temperatura de precisión a 37 °C y 72 °C
- Tubos de microcentrífuga (0,5 ml)
- Microscopio de fluorescencia (véase el apartado Recomendaciones sobre el microscopio de fluorescencia)
- Microscopio de contraste de fases
- Frascos Coplin transparentes de plástico, cerámica o vidrio termostabilizado
- Pinzas
- Medidor de pH calibrado (o tiras indicadoras de pH capaces de medir un pH de 6,5-8,0)
- Recipiente humidificado
- Aceite de inmersión para lentes de microscopio de fluorescencia
- Centrífuga de sobremesa
- Portaobjetos para microscopio
- Cubreobjetos de 24 x 24 mm
- Cronómetro
- Incubadora de 37 °C
- Adhesivo de solución de caucho
- Mezclador vórtex
- Cilindros graduados
- Agitador magnético
- Termómetro calibrado

### Equipo opcional no suministrado

- Cámara de secado citogenético

### Reactivos necesarios pero no suministrados

- Disolución de 20xSSC (citrato de sodio salino)
- Etanol al 100 %
- Tween-20
- 1 M de hidróxido de sodio (NaOH)
- 1M de ácido clorhídrico (HCl)
- Agua purificada

### Recomendaciones sobre el microscopio de fluorescencia

Para una visualización óptima, se recomienda utilizar una lámpara de mercurio de 100 vatios o equivalente y objetivos planos apocromáticos de 60/63 o 100 aumentos con aceite de inmersión. Los fluoróforos utilizados en esta sonda se excitarán y emitirán energía a las siguientes longitudes de onda:

Fluoróforo	Excitación <sub>máx</sub> [nm]	Emisión <sub>máx</sub> [nm]
Verde	495	521
Rojo	596	615

Asegúrese de colocar en el microscopio los filtros de excitación y emisión adecuados para cubrir las longitudes de onda mencionadas más arriba. Para una óptima visualización simultánea de los fluoróforos verde y rojo, se recomienda utilizar un filtro de paso de banda triple DAPI/espectro verde/espectro rojo o un filtro de paso de banda doble espectro verde/espectro rojo.

Se deberá comprobar el microscopio de fluorescencia antes de su uso para confirmar que funciona correctamente. El aceite de inmersión deberá ser adecuado para la microscopía de fluorescencia y presentar baja autofluorescencia. Debe evitarse la mezcla de DAPI AntiFade con aceite de inmersión para microscopio, puesto que esto oscurecerá las señales. Se deben seguir las

recomendaciones de los fabricantes relativas a la vida útil de la lámpara y la antigüedad de los filtros.

### Preparación de las muestras

El kit está diseñado para utilizarse en suspensiones de células de origen hematológico fijadas en solución fijadora de Carnoy (3:1 metanol/ácido acético), que se deberá preparar de acuerdo con las directrices del laboratorio o el centro. Se han de preparar muestras secadas al aire en portaobjetos para microscopio de acuerdo con los procedimientos citogenéticos habituales. La guía *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual* contiene recomendaciones sobre la recogida, el cultivo y la extracción de muestras y la preparación de los portaobjetos<sup>8</sup>.

### Preparación de las soluciones

#### Soluciones de etanol

Diluya etanol al 100 % con agua purificada utilizando las siguientes proporciones y mezcle minuciosamente.

- Etanol al 70 %: 7 partes de etanol al 100 % por 3 partes de agua purificada
  - Etanol al 85 %: 8,5 partes de etanol al 100 % por 1,5 partes de agua purificada
- Conserve las disoluciones hasta seis meses a temperatura ambiente en un recipiente hermético.

#### Solución 2xSSC

Diluya 1 parte de solución de 20xSSC en 9 partes de agua purificada y mézclelo bien. Compruebe el pH y regule a 7,0 utilizando NaOH o HCl según sea necesario. Conserve la solución hasta cuatro semanas a temperatura ambiente en un recipiente hermético.

#### Solución de 0,4xSSC

Diluya 1 parte de solución de 20xSSC en 49 partes de agua purificada y mézclelo bien. Compruebe el pH y regule a 7,0 utilizando NaOH o HCl según sea necesario. Conserve la solución hasta cuatro semanas a temperatura ambiente en un recipiente hermético.

#### Solución de 2xSSC y Tween-20 al 0,05 %

Diluya 1 parte de solución de 20xSSC en 9 partes de agua purificada. Añada 5 µl de Tween-20 por cada 10 ml y mézclelo bien. Compruebe el pH y regule a 7,0 utilizando NaOH o HCl según sea necesario. Conserve la solución hasta cuatro semanas a temperatura ambiente en un recipiente hermético.

### Protocolo FISH

(Nota: Asegúrese de limitar la exposición de la sonda y la tinción de contraste a la luz del laboratorio en todo momento).

#### Preparación de los portaobjetos

- Deposite la muestra celular en un portaobjetos para microscopio de vidrio. Deje que se seque. **(Alternativamente si se usa una cámara de secado citogenético:** se deberán depositar las muestras en los portaobjetos usando una cámara de secado citogenético. Para un depósito óptimo de las muestras celulares, la cámara deberá funcionar a aproximadamente 25 °C con una humedad del 50 %. Si no dispone de una cámara de secado citogenético, use una campana de laboratorio en su lugar).
- Sumerja el portaobjetos en 2xSSC durante 2 minutos a temperatura ambiente sin agitación.
- Deshidrátelo en mezclas progresivas de etanol (70 %, 85 % y 100 %), durante 2 minutos en cada una a temperatura ambiente.
- Deje que se seque.

#### Antes de la desnaturalización

- Saque la sonda del congelador y deje que alcance la temperatura ambiente. Centrifugue brevemente los tubos antes de su uso.
- Mezcle uniformemente la disolución de la sonda con una pipeta.
- Extraiga 10 µl de sonda por cada ensayo y transfíralos a un tubo de microcentrífuga. Devuelva sin demora el resto de la sonda al congelador.
- Coloque la sonda y el portaobjetos con la muestra sobre una placa calefactora a 37 °C (+/- 1 °C) para precalentarlos durante 5 minutos.
- Deposite 10 µl de mezcla de sonda sobre la muestra celular y coloque con cuidado un cubreobjetos. Selle con adhesivo de disolución de caucho y deje que se seque completamente.

#### Desnaturalización

- Desnaturalice simultáneamente la muestra y la sonda calentando el portaobjetos en una placa calefactora a 75 °C (+/- 1 °C) durante 2 minutos.

#### Hibridación

- Coloque el portaobjetos en un recipiente húmedo y opaco a 37 °C (+/- 1 °C) toda la noche.

#### Lavados después de la hibridación

- Saque el DAPI del congelador y deje que alcance la temperatura ambiente.
- Retire con cuidado el cubreobjetos y cualquier resto de adhesivo.
- Sumerja el portaobjetos en disolución de 0,4xSSC (pH de 7,0) a 72 °C (+/- 1 °C) durante 2 minutos sin agitación.
- Escorra el portaobjetos y sumérjalo en disolución de 2xSSC y Tween-20 al 0,05 % a temperatura ambiente (pH de 7,0) durante 30 segundos sin agitación.
- Escorra el portaobjetos y aplique 10 µl de DAPI AntiFade sobre cada muestra.
- Cubra con un cubreobjetos, elimine las posibles burbujas y deje que el color se revele en la oscuridad durante 10 minutos.
- Observe con un microscopio de fluorescencia (véase el apartado **Recomendaciones sobre el microscopio de fluorescencia**).

#### Estabilidad de los portaobjetos terminados

Los portaobjetos terminados se pueden analizar durante 1 mes si se conservan en un lugar oscuro a temperatura ambiente o inferior.

### Recomendaciones sobre el procedimiento

1. El sobrecalentamiento o el envejecimiento de los portaobjetos pueden reducir la fluorescencia de la señal.
2. El uso de reactivos distintos a los suministrados o recomendados por Cytocel Ltd. puede afectar negativamente a las condiciones de hibridación.
3. Se recomienda usar un termómetro calibrado para medir las temperaturas de las disoluciones, los baños María y las incubadoras, ya que estas temperaturas son cruciales para el funcionamiento óptimo del producto.
4. Las concentraciones, el pH y las temperaturas de los lavados son importantes, puesto que su aplicación laxa puede provocar una unión no específica de la sonda, mientras que una aplicación excesivamente restrictiva puede derivar en la falta de señal.
5. Una desnaturalización incompleta puede ocasionar falta de señal y una desnaturalización excesiva también puede redundar en una unión no específica.
6. La hibridación excesiva puede dar lugar a señales adicionales o inesperadas.
7. Los usuarios deberán optimizar el protocolo de sus muestras antes de utilizar el ensayo con fines diagnósticos.
8. Unas condiciones deficientes podrían producir una unión no específica, la cual podría malinterpretarse como una señal de la sonda.

### Interpretación de los resultados

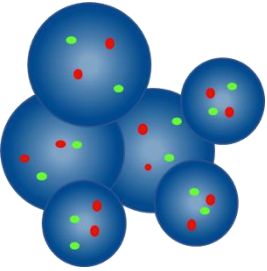
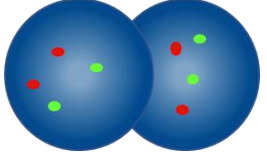
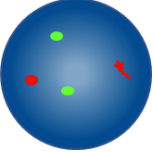
#### Evaluación de la calidad del portaobjetos

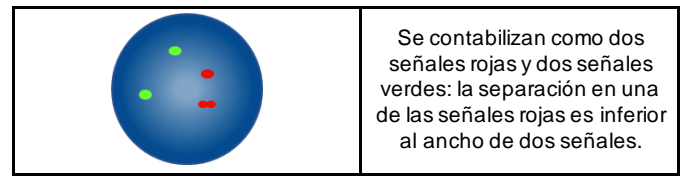
El portaobjetos no se deberá analizar si se dan las siguientes condiciones:

- Las señales son demasiado débiles para analizarse con un solo filtro: para proceder a realizar el análisis, las señales deberán mostrarse intensas, distinguirse y evaluarse con facilidad.
- Hay una gran cantidad de células aglomeradas o superpuestas que dificultan el análisis.
- Más del 50 % de las células no se ha hibridado.
- Hay un exceso de partículas fluorescentes entre las células o un halo fluorescente que interfiere con la señal: en los portaobjetos óptimos, el fondo debe aparecer despejado y de un color oscuro o negro.
- Los bordes del núcleo celular no se pueden distinguir y no se muestran intactos.

#### Pautas para el análisis

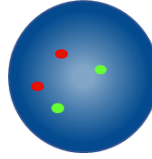
- Cada muestra debe ser analizada e interpretada por dos analistas. Cualquier discrepancia debe resolverse mediante la valoración de un tercer analista.
- Cada analista deberá estar debidamente cualificado según los criterios nacionales reconocidos.
- Cada analista deberá puntuar de manera independiente 100 núcleos de cada muestra. El primer analista deberá comenzar el análisis por el lado izquierdo del portaobjetos y el segundo analista, por el lado derecho.
- Cada analista deberá documentar sus resultados en fichas separadas.
- Únicamente se deberán analizar los núcleos intactos: ni los núcleos superpuestos o aglutinados ni los núcleos cubiertos por restos citoplasmáticos o con un alto grado de autofluorescencia.
- Se han de evitar las zonas en las que se observe un exceso de restos citoplasmáticos o una hibridación no específica.
- La intensidad de la señal puede variar, incluso en un mismo núcleo. En esos casos, se deberá utilizar un solo filtro o ajustar el plano focal.
- En condiciones que no son óptimas, las señales pueden aparecer difusas. Los casos en que dos señales del mismo color se toquen, la distancia entre ellas sea inferior al ancho de dos señales o se perciba un tenue filamento que las conecte, contabilizarán como una sola señal.
- Se habrán de descartar todas aquellas células cuyo análisis planteé dudas.

Pautas para el análisis	
	No se contabilizan: los núcleos están demasiado próximos para determinar los límites.
	Los núcleos que se superponen no se contabilizan: no todas las zonas de los dos núcleos son visibles.
	Se contabilizan como dos señales rojas y dos señales verdes: una de las dos señales rojas es difusa.



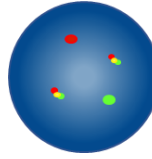
### Resultados previstos

#### Patrón previsto de señales normales



En una célula normal, se espera observar dos señales rojas y dos señales verdes (2 R, 2 V).

#### Patrón previsto de señales anómalas



En una célula con una translocación t(15;17)(q24.1;q21), el patrón de señal previsto es de una señal roja, una señal verde y dos fusiones (1 R, 1 V, 2 F).

Es posible observar otros patrones de señales en muestras aneuploides o no equilibradas.

#### Reactividad cruzada conocida

No se ha detectado ninguna reactividad cruzada.

#### Notificación de acontecimientos adversos

Si cree que este producto ha funcionado incorrectamente o ha sufrido un deterioro de sus características de rendimiento que haya podido contribuir a que se produzca un acontecimiento adverso (como, por ejemplo, el retraso en un diagnóstico o un diagnóstico erróneo, el retraso en un tratamiento o un tratamiento inadecuado), deberá notificarlo de inmediato al fabricante (**correo electrónico:** [vigilance@ogt.com](mailto:vigilance@ogt.com)).

Si corresponde, también debe informar de lo sucedido a las autoridades competentes de su país. Se puede consultar una lista de puntos de contacto de vigilancia en la siguiente dirección: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

#### Características específicas sobre el rendimiento

##### Especificidad analítica

La especificidad analítica es el porcentaje de señales que hibridan con el locus correcto y no con otros puntos. La especificidad analítica se estableció mediante el análisis de un total de 200 locus de interés. La especificidad analítica se calculó como el número de señales de FISH que hibridan con el locus correcto dividido por el número total de señales de FISH hibridadas.

Tabla 1. Especificidad analítica de PML/RAR $\alpha$  Translocation, Dual Fusion Probe

Sonda	Locus de interés	N.º de señales hibridadas con el locus correcto	N.º total de señales hibridadas	Especificidad (%)
Roja PML	15q24.1	200	200	100
Verde RAR $\alpha$	17p21	200	200	100

##### Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica es el porcentaje de células en interfase puntuables que presentan el patrón previsto de señales normales. La sensibilidad analítica se estableció mediante el análisis de células en interfase de distintas muestras normales. La sensibilidad se calculó como el porcentaje de células puntuables que presentan el patrón previsto de señales normales (con un intervalo de confianza del 95 %).

Tabla 2. Sensibilidad analítica de PML/RAR $\alpha$  Translocation, Dual Fusion Probe

N.º de células con patrones de señales previstos	N.º de células con señales puntuables	Sensibilidad (%)	Intervalo de confianza del 95 %
480	500	96,0	2,1



### Caracterización de los valores de corte normales

El valor de corte normal, con respecto a las sondas de FISH, es el porcentaje máximo de células en interfase puntuables que presentan un patrón de señales anómalas específico en el que una muestra se considera normal para ese patrón de señales.

El valor de corte normal se estableció utilizando muestras de pacientes normales y positivos. En cada muestra, se registraron los patrones de señales de 100 células. Se calculó el índice de Youden para hallar el valor umbral en el que se maximiza la sensibilidad + la especificidad-1.

Tabla 3. Caracterización de los valores de corte normales de PML/RAR $\alpha$  Translocation, Dual Fusion Probe

Patrón de señales anómalas	Índice de Youden	Corte normal (%)
1 R, 1 V, 2 F	1,00	4

Los laboratorios deberán verificar los valores de corte usando sus propios datos<sup>9,10</sup>.

### Precisión y reproducibilidad

La precisión es la medición de la variación natural de un ensayo cuando se repite varias veces en condiciones idénticas. En este caso, se evaluó analizando las repeticiones de las sondas de un mismo número de lote probadas con la misma muestra, el mismo día y en las mismas condiciones.

La reproducibilidad es la medición de la variabilidad de un ensayo y se ha establecido como la variabilidad entre distintas muestras, distintos días y distintos lotes. La reproducibilidad entre distintos días se evaluó analizando las mismas muestras en tres fechas distintas. La reproducibilidad entre distintos lotes se evaluó analizando las mismas muestras en una misma fecha con sondas procedentes de tres números de lote distintos. La reproducibilidad entre distintas muestras se evaluó analizando tres copias de una muestra en una misma fecha. De cada muestra se registraron los patrones de señales de 100 células en interfase y se calculó el porcentaje de células con el patrón de señales previsto.

Asimismo, se calcularon la reproducibilidad y la precisión como la desviación estándar entre las reproducciones de cada variable, así como la desviación estándar media global.

Tabla 4. Reproducibilidad y precisión de PML/RAR $\alpha$  Translocation, Dual Fusion Probe

Variable	Desviación estándar (DE)
Precisión	0,00
Entre distintas muestras	0,00
Entre distintos días	0,00
Entre distintos lotes	0,00
Desviación global	0,00

### Rendimiento clínico

El rendimiento clínico se estableció a partir de una muestra representativa de la población a la que va destinada el producto. En cada muestra, se registraron los patrones de señales de más de 100 células en interfase. Se estableció una determinación normal o anómala comparando el porcentaje de células con el patrón de señales anómalas específico con el valor de corte normal. A continuación, los resultados se compararon con el estado conocido de la muestra.

Se analizaron los resultados de los datos clínicos al objeto de calcular la sensibilidad, la especificidad y los valores de corte usando un enfoque unidimensional.

Tabla 5. Rendimiento clínico de PML/RAR $\alpha$  Translocation, Dual Fusion Probe

Variable	Resultado
Sensibilidad clínica (tasa de verdaderos positivos, TVP)	100 %
Especificidad clínica (tasa de verdaderos negativos, TVN)	100 %
Tasa de falsos positivos (TFP) = 1 - especificidad	0 %

### Información adicional

Para obtener información adicional sobre el producto, póngase en contacto con el departamento de asistencia técnica de CytoCell.

Teléfono: +44 (0)1223 294048

Correo electrónico: techsupport@cytozell.com







Página web: www.ogt.com

### Bibliografía

1. Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
2. Campbell *et al.*, Biomed Research International 2013;2013:1-5
3. Creutzig *et al.*, Blood 2012;120(16):3187-3205
4. Zhang *et al.*, Blood Reviews 2015;29(2):101-125
5. Tomita *et al.*, International Journal of Haematology 2013;97(6):717-725
6. Grimwade *et al.*, Blood 2000;96(4):1297-1308
7. Lo-Coco, Hasa, Best practice & research. Clinical haematology 2014;27(1):3-9

8. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
9. 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.
10. 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.

### Guía de símbolos

REF	es: Número de catálogo
	es: Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	es: Código de lote
	es: Consulte las instrucciones de uso
	es: Fabricante
	es: Fecha de caducidad
	es: Límite de temperatura
	es: Manténgase alejado de la luz solar
	es: Contiene suficiente para <n> ensayos
	es: Contenido

### Patentes y marcas comerciales

CytoCell es una marca comercial registrada de CytoCell Ltd.



### CytoCell Ltd.

Oxford Gene Technology,  
418 Cambridge Science Park,  
Milton Road,  
Cambridge, CB4 0PZ, Reino Unido

Teléfono: +44(0)1223 294048

Fax: +44(0)1223 294986

Correo electrónico: probes@cytozell.com

Sitio web: www.ogt.com