



A Sysmex Group Company



Instrucciones de uso (IFU)

REF.: CE-LPH 038-S / CE-LPH 038

**BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation,
Dual Fusion Probe**



SOLO PARA USO PROFESIONAL



Más información y otros idiomas disponibles en ogt.com/IFU

Uso previsto

CytoCell® BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe es una prueba cualitativa no automatizada de hibridación *in situ* fluorescente (FISH, por sus siglas en inglés) que permite detectar reordenamientos cromosómicos entre la región 9q34.1 del cromosoma 9 y la región 22q11.2 del cromosoma 22, con o sin eliminaciones concurrentes de la región ASS1 en 9q34.1 del cromosoma 9, en suspensiones de células de origen hematológico fijadas en solución de Carnoy (metanol y ácido acético en proporción 3:1) de pacientes con sospecha o diagnóstico confirmado de leucemia mielógena crónica (LMC), leucemia mielógena aguda (LMA) o leucemia linfocítica aguda (LLA).

Indicaciones de uso

Este producto se ha diseñado como complemento de otras pruebas clínicas e histopatológicas en protocolos reconocidos de diagnóstico y atención médica en los que el conocimiento del estado de la translocación BCR::ABL1 y el estado de eliminación de la región ASS1 resulten relevantes para el tratamiento clínico.

Limitaciones

Este producto se ha diseñado para detectar reordenamientos con puntos de rotura en la región que cubren los clones rojo y verde o eliminaciones en la región que cubren los clones cian de este conjunto de sondas, lo que incluye las regiones ABL1, BCR y ASS1. Es posible que con este producto no se puedan detectar puntos de rotura fuera de esta región, variantes de reordenamiento contenidas por completo en ella ni pérdidas parciales de esta región. El producto no se ha concebido para su uso como única prueba diagnóstica, como prueba diagnóstica para selección terapéutica, como prueba prenatal o como cribado de poblaciones, ni para llevar a cabo pruebas en uno mismo o con el paciente presente.

Este producto no se ha validado para tipos de muestras, tipos de enfermedades ni finalidades distintos de los descritos en el uso previsto.

Se ha concebido como prueba complementaria de otras pruebas diagnósticas de laboratorio, y no se deben poner en práctica las opciones de tratamiento únicamente basándose en el resultado de la prueba FISH.

La interpretación de los resultados de FISH y la elaboración de informes al respecto debe llevarlas a cabo personal debidamente cualificado y deben ser coherentes con las normas de práctica profesional y tener en cuenta los resultados de otras pruebas pertinentes y el resto de la información clínica y de diagnóstico. El producto está destinado exclusivamente para uso profesional en laboratorio.

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

Principios de la prueba

La hibridación *in situ* fluorescente (FISH) es un método que permite la detección de secuencias de ADN en los cromosomas de la metafase o en los núcleos de la interfase de muestras citogenéticas fijadas. Este método emplea sondas de ADN que se hibridan con cromosomas completos o secuencias sencillas únicas, y sirve como prueba complementaria de gran utilidad al análisis citogenético con bandas G. El método se puede aplicar ahora como herramienta esencial de investigación en el análisis cromosómico prenatal, hematológico y de tumores sólidos. El ADN diana, tras la fijación y desnaturalización, queda disponible para su hibridación con una sonda de ADN con marcado fluorescente y desnaturalizada de forma parecida

que cuente con una secuencia complementaria. Después de la hibridación, se elimina la sonda de ADN que no se ha fijado y cuya fijación no es específica y se lleva a cabo una contratinción del ADN para su visualización. La microscopía de fluorescencia permite entonces la visualización de la sonda hibridada con el material diana.

Información sobre la sonda

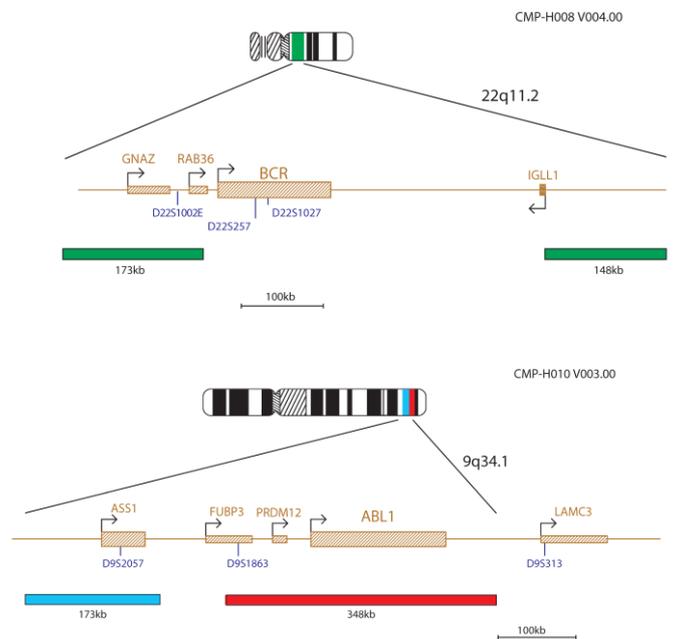
El gen BCR (activador BCR de RhoGEF y GTPasa) se encuentra en 22q11.2; el gen ABL1 (protooncogén ABL 1, tirosina-cinasa citoplásmica) está ubicado en 9q34.1; y el gen ASS1 (argininosuccinato sintetasa 1) está situado en 9q34.1. La translocación entre BCR y ABL1 da lugar al gen de fusión BCR::ABL1. La presencia de la fusión BCR::ABL1 posee importantes implicaciones diagnósticas y pronósticas en diversos trastornos hematológicos.

La translocación t(9;22)(q34.1;q11.2) es el rasgo característico de la leucemia mielógena crónica (LMC) y se observa en aproximadamente el 90-95%¹ de los casos. El resto de los casos presentan una translocación distinta o una translocación críptica entre 9q34.1 y 22q11.2 que no es detectable con las técnicas citogenéticas convencionales¹. La fusión BCR::ABL1 también puede hallarse en el 25% de los adultos y el 2-4% de los niños con leucemia linfocítica aguda (LLA)¹. Este reordenamiento también se observa en casos infrecuentes de leucemia mielógena aguda (LMA)².

La translocación entre los cromosomas 9 y 22 puede verse acompañada de pérdida de las secuencias proximales en el cromosoma 9 derivado, entre las que se encuentra la región del gen ASS1 (argininosuccinato sintetasa 1)³.

Especificación de la sonda

ASS1, 9q34.1, en cian
ABL1, 9q34.1, en rojo
BCR, 22q11.2, en verde



El conjunto de sondas verdes contiene una sonda centromérica de 173 kb del gen BCR que abarca los genes GNAZ y RAB36. Una segunda sonda verde cubre una región telomérica de 148 kb del gen BCR que abarca parte del gen IGLL1.

El conjunto de sondas rojas y cian contiene una sonda roja de 348 kb que abarca el gen ABL1 y una sonda cian de 173 kb que abarca el gen ASS1.

Materiales suministrados

Sonda: 50 µL en cada vial (5 pruebas) o 100 µL en cada vial (10 pruebas). Las sondas se suministran premezcladas en una solución de hibridación (<65% de formamida; <20 mg de sulfato de dextrano; y <10% de citrato de sodio salino (SSC) 20x) y vienen listas para su uso.

Contratinción: 150 µL en cada vial (15 pruebas).

La contratinción es DAPI Antifade ES (0,125 µg/mL de DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol) en medio de fijación basado en glicerol).

Advertencias y precauciones

1. Destinado a su uso en diagnóstico *in vitro*. Exclusivamente para uso profesional en laboratorio.
2. Los conjuntos de sondas contienen formamida, un teratógeno; no inhale los vapores ni permita que entre en contacto con la piel. Manipúlelas con precaución; utilice guantes y una bata de laboratorio.
3. Manipule el DAPI con precaución; utilice guantes y una bata de laboratorio.
4. No utilice los viales si están dañados o su integridad se ha puesto en riesgo de cualquier modo.
5. Cumpla con las normas nacionales relativas a la eliminación de residuos y con las recomendaciones de la ficha de datos de seguridad para eliminar de forma

segura este producto. Esta instrucción también es pertinente si el contenido del kit de la prueba está dañado.

- Elimine todos los reactivos usados y cualquier otro material desechable contaminado según los procedimientos vigentes para residuos infecciosos o potencialmente infecciosos. El laboratorio es el responsable de la manipulación de los residuos sólidos y líquidos según su naturaleza y nivel de peligrosidad, así como de su tratamiento y eliminación (ya sea por cuenta propia o a través de terceros) de acuerdo con la normativa vigente.
- Los usuarios deben ser capaces de distinguir los colores rojo, azul y verde.
- Si no se respetan 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 debe diluir ni mezclar con otras sondas.
- Si no se utilizan 10 µL de la sonda durante el paso previo a la desnaturalización del protocolo, el resultado se podría ver afectado y se podrían producir falsos positivos o falsos negativos.
- Todos los productos se deben validar antes de utilizarlos.
- Los controles internos se deben llevar a cabo con poblaciones celulares intactas de las muestras de la prueba.

Definiciones de temperatura

- 20 °C/congelado/en el congelador: De -25 a -15 °C
- 37 °C: +37 ± 1 °C
- 72 °C: +72 ± 1 °C
- 75 °C: +75 ± 1 °C
- Temperatura ambiente (TA): De +15 a +25 °C

Almacenamiento y manipulación

 El kit debe conservarse en un congelador a una temperatura de entre -25 y -15 °C hasta la fecha de caducidad que se indica en la etiqueta del kit. Los viales de la sonda y la contratinción se deben almacenar en un lugar oscuro.



La sonda FISH, la contratinción DAPI Antifade ES y la solución de hibridación conservan la estabilidad a lo largo de los siguientes ciclos de congelación y descongelación que experimentan durante su uso rutinario (de tal modo que un ciclo consta de la extracción del vial del congelador y su posterior reintroducción): 5 ciclos en el caso del vial de 50 µL (5 pruebas) de sonda FISH; 10 ciclos en el caso del vial de 100 µL (10 pruebas) de sonda FISH; y 15 ciclos en el caso del vial de 150 µL (15 pruebas) de contratinción. La exposición a la luz se debe minimizar y evitar en la medida de lo posible. Guarde los componentes en el recipiente opaco que se suministra. Es posible que el comportamiento de los componentes usados y guardados en condiciones diferentes a las que se describen en las instrucciones de uso no sea el previsto, lo que puede afectar de forma negativa a los resultados del ensayo. Se deben tomar las precauciones necesarias para limitar su exposición a los cambios de iluminación y temperatura.

Equipo y materiales necesarios, pero no suministrados

Se deben utilizar equipos calibrados:

- Placa térmica (con una placa sólida y un control de temperatura preciso hasta 80 °C)
- Micropipetas y puntas de volumen variable calibradas de entre 1 µL y 200 µL
- Baño María con control de temperatura preciso entre 37 y 72 °C
- Tubos de microcentrifuga (0,5 mL)
- Microscopio de fluorescencia (consulte la sección «Recomendaciones sobre microscopios de fluorescencia»)
- Microscopio de contraste de fases
- Jarras de Coplin limpias de plástico, cerámica o vidrio resistente al calor
- Pinzas
- Medidor de pH calibrado (o tiras indicadoras de pH capaces de medir un pH de entre 6,5 y 8,0)
- Recipiente humidificado
- Aceite de inmersión para lentes de microscopio de calidad de fluorescencia
- Centrífuga de sobremesa
- Portaobjetos para microscopio
- Cubreobjetos de 24 x 24 mm
- Cronómetro
- Incubadora a 37 °C
- Solución adhesiva de caucho
- Mezclador vórtex
- Probetas
- Agitador magnético
- Termómetro calibrado

Equipo opcional no suministrado

- Cámara de secado de citogenética

Reactivos necesarios, pero no suministrados

- Solución de citrato de sodio salino (SSC) 20x
- Etanol al 100 %
- Tween-20
- Hidróxido sódico (NaOH) 1 M
- Ácido clorhídrico (HCl) 1 M
- Agua purificada

Recomendaciones sobre microscopios de fluorescencia

Utilice una lámpara de mercurio de 100 vatios o equivalente y objetivos apocromáticos de plan de inmersión en aceite de 60/63x o 100x para conseguir una visualización óptima. Los fluoróforos de este conjunto de sondas se excitan y emiten en las siguientes longitudes de onda:

Fluoróforo	Excitación _{máx.} [nm]	Emisión _{máx.} [nm]
Cian	418	467
Verde	495	521
Rojo	596	615

Compruebe que se hayan instalado en el microscopio los filtros de emisión y excitación correspondientes que abarquen las longitudes de onda enumeradas anteriormente.

Es necesario usar un filtro de paso de banda simple de espectro cian para conseguir una visualización óptima del espectro cian o un filtro de paso de banda triple de espectro rojo/espectro verde/espectro cian para conseguir una visualización simultánea de los fluoróforos verdes, rojos y cian.

Compruebe que el microscopio de fluorescencia funciona correctamente antes de utilizarlo. Utilice aceite de inmersión adecuado para la microscopía de fluorescencia y que se haya formulado con una autofluorescencia baja. Evite la mezcla del medio de montaje antidecoloración DAPI con el aceite de inmersión para microscopio, ya que puede ocultar las señales. Siga las recomendaciones del fabricante en cuanto a la vida útil de la lámpara y la antigüedad de los filtros.

Preparación de las muestras

Este kit se ha diseñado para su uso con suspensiones de células de origen hematológico fijadas en solución de Carnoy (metanol y ácido acético en proporción 3:1) que se hayan preparado de acuerdo con las directrices del laboratorio o de la institución correspondientes. Prepare las muestras secadas al aire en portaobjetos para microscopio según los procedimientos normativos de citogenética. La guía *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual* contiene recomendaciones en cuanto a la recogida de muestras, su cultivo, su extracción y su colocación en portaobjetos⁴.

Preparación de soluciones

Soluciones de etanol

Diluya etanol al 100 % en agua purificada con las siguientes proporciones y mezcle bien:

- Etanol al 70 %: 7 partes de etanol al 100 % y 3 partes de agua purificada.
 - Etanol al 85 %: 8,5 partes de etanol al 100 % y 1,5 partes de agua purificada.
- Conserve las soluciones durante un plazo máximo de 6 meses a temperatura ambiente en un recipiente hermético.

Solución de SSC 2x

Diluya 1 parte de solución de SSC 20x en 9 partes de agua purificada y mezcle bien. Compruebe el pH y ajústelo a 7,0 con NaOH o HCl si fuera necesario. Conserve la solución durante un plazo máximo de 4 semanas a temperatura ambiente en un recipiente hermético.

Solución de SSC 0,4x

Diluya 1 parte de solución de SSC 20x en 49 partes de agua purificada y mezcle bien. Compruebe el pH y ajústelo a 7,0 con NaOH o HCl si fuera necesario. Conserve la solución durante un plazo máximo de 4 semanas a temperatura ambiente en un recipiente hermético.

Solución de SSC 2x con Tween-20 al 0,05 %

Diluya 1 parte de solución de SSC 20x en 9 partes de agua purificada. Añada 5 µL de Tween-20 por cada 10 mL y mezcle bien. Compruebe el pH y ajústelo a 7,0 con NaOH o HCl si fuera necesario. Conserve la solución durante un plazo máximo de 4 semanas a temperatura ambiente en un recipiente hermético.

Protocolo FISH

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

Preparación de los portaobjetos

- Coloque la muestra celular en un portaobjetos de vidrio para microscopio. Deje que se seque. (Opcional si se emplea una cámara de secado de citogenética: La cámara debe estar funcionando a una temperatura aproximada de 25 °C con un 50 % de humedad para que la preparación de las muestras celulares sea óptima. Si no se dispone de una cámara de secado de citogenética, recurra de forma alternativa a una campana de extracción).
- Sumerja el portaobjetos en solución de SSC 2x durante 2 minutos a temperatura ambiente (TA) sin agitarlo.
- Deshidrátelo a TA en una serie de baños de etanol (al 70 %, al 85 % y al 100 %), durante 2 minutos en cada uno de ellos.
- Deje que se seque.

Paso previo a la desnaturalización

- Saque la sonda del congelador y deje que alcance la TA. Centrifugue los tubos brevemente antes de usarlos.
- Compruebe que la solución de la sonda se ha mezclado uniformemente con una pipeta.
- Extraiga 10 µL de sonda por cada prueba y transféralos a un tubo de microcentrifuga. Vuelva a introducir el resto de la sonda de inmediato en el congelador.
- Coloque la sonda y el portaobjetos con la muestra en una placa térmica a 37 °C (± 1 °C) para precalentarlos durante 5 minutos.
- Coloque 10 µL de la mezcla de la sonda en la muestra celular y aplique con cuidado un cubreobjetos. Séllelo con solución adhesiva de caucho y deje que se seque completamente la solución adhesiva.

Desnaturalización

- Desnaturalice la muestra y la sonda al mismo tiempo mediante el calentamiento del portaobjetos en una placa térmica a 75 °C (± 1 °C) durante 2 minutos.

Hibridación

- Deje el portaobjetos en un recipiente húmedo y opaco a 37 °C (± 1 °C) durante toda la noche.

Lavados posteriores a la hibridación

- Saque el DAPI del congelador y deje que alcance la TA.
- Retire el cubreobjetos y todos los restos de solución adhesiva con cuidado.
- Sumerja el portaobjetos en solución de SSC 0,4x (a pH 7,0) a 72 °C (± 1 °C) durante 2 minutos sin agitarlo.
- Escorra el portaobjetos y sumérgalo en solución de SSC 2x con Tween-20 al 0,05 % a TA (a pH 7,0) durante 30 segundos sin agitarlo.
- Escorra el portaobjetos y añada 10 μ L de medio de montaje antidecoloración DAPI en cada muestra.
- Aplique un cubreobjetos, elimine las burbujas y deje que se desarrolle el color en la oscuridad durante 10 minutos.
- Visualice el portaobjetos con un microscopio de fluorescencia (consulte **Recomendaciones sobre microscopios de fluorescencia**).

Recomendaciones sobre el procedimiento

- El horneado o el curado de los portaobjetos pueden reducir la señal de fluorescencia.
- Las condiciones de hibridación se pueden ver afectadas negativamente por el uso de reactivos diferentes de aquellos suministrados o recomendados por Cytocell Ltd.
- Se recomienda usar un termómetro calibrado para medir las temperaturas de las soluciones, los baños María y las incubadoras, ya que estas temperaturas son cruciales para el funcionamiento óptimo del producto.
- 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.
- Una desnaturalización incompleta puede ocasionar falta de señal y una desnaturalización excesiva también puede redundar en una unión no específica.
- La hibridación excesiva puede dar lugar a señales adicionales o inesperadas.
- Los usuarios deberán optimizar el protocolo de sus muestras antes de utilizar la prueba con fines diagnósticos.
- Unas condiciones deficientes podrían producir una unión no específica, la cual podría malinterpretarse como una señal de la sonda.

Interpretación de los resultados

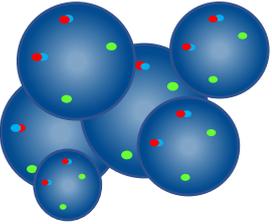
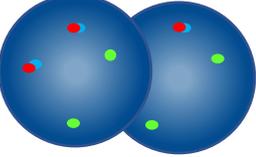
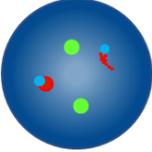
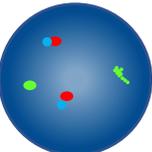
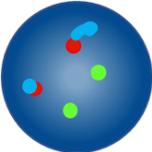
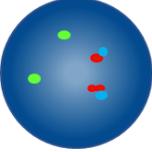
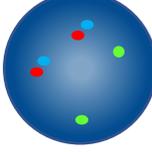
Evaluación de la calidad del portaobjetos

No se debe analizar el portaobjetos en los siguientes casos:

- Las señales son demasiado débiles para analizarlas en filtros únicos: para poder continuar con el análisis, las señales deben presentarse brillantes y diferenciadas, y hay que poder evaluarlas fácilmente.
- Existe una gran cantidad de acumulaciones o superposiciones de células que impiden el análisis.
- No se ha hibridado más del 50 % de las células.
- Hay un exceso de partículas fluorescentes entre las células o un haz fluorescente que interfiere con las señales: en los portaobjetos con calidad óptima, el fondo debe aparecer oscuro o negro y limpio.
- Los bordes del núcleo celular no se pueden diferenciar y no se encuentran intactos.

Directrices para el análisis

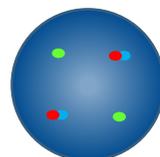
- Dos analistas deben analizar e interpretar cada una de las muestras. Se deben resolver las posibles discrepancias mediante la evaluación por parte de un tercer analista.
- Cada uno de los analistas debe contar con la cualificación correspondiente conforme a las normas reconocidas a nivel nacional.
- Cada analista debe puntuar de forma independiente 100 núcleos de cada una de las muestras. El primer analista debe comenzar el análisis desde el lateral izquierdo del portaobjetos y el segundo, desde el derecho.
- Cada uno de los analistas debe documentar los resultados en hojas independientes.
- Se deben analizar únicamente los núcleos que se encuentren intactos, no los que se superpongan o formen parte de acumulaciones, ni tampoco aquellos núcleos que se encuentren cubiertos por residuos citoplasmáticos o presenten un elevado grado de autofluorescencia.
- Se deben evitar las zonas en las que haya un exceso de residuos citoplasmáticos o una hibridación no específica.
- La intensidad de la señal puede variar, incluso dentro del mismo núcleo. En estos casos, utilice filtros únicos o ajuste el plano focal.
- En condiciones inferiores a las óptimas, la señal puede presentarse difusa. Se debe contar una sola señal cuando dos señales del mismo color se toquen; cuando la distancia entre ellas no sea superior a dos anchos de señal; o si hay un hilo débil que conecte dos señales.
- Si tiene dudas sobre si es posible analizar una célula o no, no la analice.

Directrices para el análisis	
	No deben contabilizarse los núcleos que se encuentren tan cerca que no sea posible establecer los límites entre ellos.
	No deben contabilizarse los núcleos que se solapan; es decir, cuando toda la superficie de ambos núcleos no sea visible.
	Cuenta dos señales de fusión rojas y cian y dos señales verdes: una de las dos señales rojas es difusa.
	Cuenta dos señales de fusión rojas y cian y dos señales verdes: una de las dos señales verdes es difusa.
	Cuenta dos señales de fusión rojas y cian y dos señales verdes: una de las dos señales cian es difusa.
	Cuenta dos señales de fusión rojas y cian y dos señales verdes: la separación en una señal roja es inferior a dos anchuras de la sonda.
	Cuenta dos señales de fusión rojas y cian y dos señales verdes: la separación entre las señales rojas y cian es inferior a dos anchuras de la sonda.

Resultados previstos

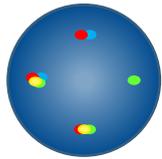
Patrón de señales normal previsto

Dual Fusion Probe de tres colores

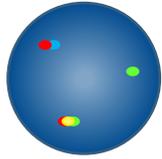


En una célula normal, está previsto que se observen dos señales de fusión rojas y cian y dos señales verdes (2RC2V).

Patrones de señales anómalos previstos



En una célula con un reordenamiento t(9;22)(q34.1;q11.2), está previsto que se observen una señal de fusión roja y cian, una señal verde, una señal de fusión roja y verde y una señal de fusión roja, verde y cian (1RC1V1RV1RVC).



En una célula con un reordenamiento t(9;22)(q34.1;q11.2) y una eliminación de la porción proximal del cromosoma 9q y de la porción distal del cromosoma 22q, está previsto que se observen una señal de fusión roja y cian, una señal verde y una señal de fusión roja y verde (1RC1V1RV).

Es posible que se detecten otros patrones de señal en muestras aneuploides o descompensadas.

Interferencias/Sustancias interferentes relevantes conocidas

No se conocen interferencias/sustancias interferentes relevantes.

Reactividad cruzada conocida

La sonda verde distal al gen *BCR* puede presentar un máximo de 2 señales en el cromosoma 7 en 7q11.2.

Elaboración de informes sobre incidentes graves

En el caso de los pacientes, usuarios y terceros de la Unión Europea y de países con un régimen normativo idéntico (Reglamento (UE) 2017/746 sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*), si durante el uso del producto, o como resultado de este, se produce un incidente grave, comuníquelo al fabricante y a la autoridad nacional competente.

En el caso de que se produzcan incidentes graves en otros países, comuníquelo al fabricante y, según corresponda, a la autoridad nacional competente.

Contacto de vigilancia del fabricante: vigilance@oqt.com

En lo que respecta a las autoridades nacionales competentes de la UE, puede encontrar una lista de los puntos de contacto de vigilancia en:

https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Características específicas de rendimiento

Especificidad analítica

La especificidad analítica se define como el porcentaje de señales que hibridan con el locus correcto, y no con otros puntos. Se analizaron tres (3) locus cromosómicos en cada una de las 100 células en metafase de cinco (5) muestras, obteniéndose 600 puntos de datos. Se representó la ubicación de cada sonda hibridada y se registró la cantidad de señales FISH de cromosomas en metafase que hibridaron con el locus correcto.

Para calcular la especificidad analítica de cada sonda del kit, se dividió el número de señales FISH de cromosomas en metafase que hibridaron con el locus correcto entre el número total de señales FISH que hibridaron con cromosomas en metafase; el resultado se multiplicó por 100 para expresarlo como porcentaje y se proporcionó con un intervalo de confianza del 95 %.

Tabla 1. Especificidad analítica de BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe

Diana	Número de cromosomas en metafase hibridados	Número de locus hibridados correctamente	Especificidad analítica	Intervalo de confianza del 95 %
9q34.1	200	200	100 %	98,12 %-100 %
22q11.2	200	200	100 %	98,12 %-100 %
9q34.1	200	200	100 %	98,12 %-100 %

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica es el porcentaje de células en interfase que se pueden puntuar con el patrón de señales normal previsto. Se analizaron 100 células en interfase como mínimo para cada una de las 25 suspensiones de células fijadas procedentes de muestras de médula ósea que se consideraron negativas en la translocación *BCR::ABL1* y la eliminación de *ASS1*, obteniéndose puntuaciones para un mínimo de 2.500 núcleos por cada tipo de muestra. Los datos de sensibilidad se analizaron en función del porcentaje de células que mostraron el patrón de señales normal previsto y se expresaron en forma de porcentaje con un intervalo de confianza del 95 %.

Tabla 2. Sensibilidad analítica de BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe

Tipo de muestra	Criterios de sensibilidad	Resultado de sensibilidad
Médula ósea	>95 %	100,0 % (± NA)

Caracterización de los valores de corte normales

El valor de corte normal se define como el porcentaje de células que presenta un patrón de señales de falso positivo que haría que el paciente se considerara normal y que no sería coherente con un diagnóstico clínico. Se analizaron 100 células en interfase como mínimo para cada una de las 25 suspensiones de células fijadas procedentes de muestras de médula ósea que se consideraron negativas en la translocación *BCR::ABL1*, obteniéndose puntuaciones para un mínimo de 2.500 núcleos por cada tipo de muestra.

El valor de corte se estableció mediante la función β inversa (BETAINV) de MS Excel. Se calculó como el porcentaje de células en interfase que presentaron un patrón de señales de falso positivo utilizando el límite superior de un intervalo de confianza unilateral del 95 % de la distribución binomial en una muestra normal de un paciente.

Tabla 3. Caracterización de los valores de corte normales de BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe

Tipo de muestra	Patrón de la señal	Resultado del valor de corte
Médula ósea	1RC1V1RV	2,95 %
	1RC1V1RV1RVC	2,95 %

Los laboratorios deben verificar los valores de corte usando sus propios datos^{5,6}.

Precisión

La precisión de este producto se ha evaluado en términos de precisión intradía (entre muestras), precisión entre días (de un día a otro) y la precisión entre lotes en un mismo centro (de un lote a otro).

Se emplearon tres muestras para evaluar la precisión del producto, consistentes en material residual fijado con metanol y ácido acético en proporción 3:1 procedente de muestras de médula ósea desidentificadas que provenían de un banco de muestras fijadas de Cytocell. La población de muestras contenía tres (3) muestras, que abarcaban el rango previsto de normal a positividad baja.

Para establecer la precisión intradía y entre días, las muestras se evaluaron en diez (10) fechas no consecutivas; y, para establecer la precisión entre lotes, se evaluaron tres (3) lotes del producto con tres (3) réplicas de las mismas muestras. Los resultados se presentaron como la concordancia global con la clase negativa prevista (para las muestras negativas).

Tabla 4. Reproducibilidad y precisión de BCR/ABL (ABL1) Plus Translocation, Dual Fusion Probe

Variable	Tipo de muestra	Concordancia
Reproducibilidad intradía (entre distintas muestras) y entre días (de un día a otro)	Médula ósea negativa	96,7 %
	Médula ósea con positividad baja 1RC1V1RV	96,7 %
	Médula ósea con positividad baja 1RC1V1RV1RVC	83,3 %
Reproducibilidad entre lotes	Médula ósea negativa	100,0 %
	Médula ósea con positividad baja 1RC1V1RV	100,0 %
	Médula ósea con positividad baja 1RC1V1RV1RVC	77,8 %

Rendimiento clínico

Para garantizar que el producto detecta los reordenamientos previstos, se determinó el rendimiento clínico mediante dos estudios de muestras representativas de la población prevista para el producto, consistentes en suspensiones de células de origen hematológico fijadas en solución de Carnoy (metanol y ácido acético en proporción 3:1) de pacientes con sospecha o diagnóstico confirmado de leucemia mielógena crónica (LMC) leucemia mielógena aguda (LMA) o leucemia linfoblástica aguda (LLA), preparadas de acuerdo con las directrices del laboratorio o de la institución correspondientes. El tamaño de la población de muestras combinada de los estudios fue de 125 muestras, que comprendían 99 muestras negativas en la translocación *BCR::ABL1* y 26 muestras positivas en la translocación *BCR::ABL1*. Los resultados se compararon con el estado conocido de la muestra. La sonda identificó correctamente el estado de las muestras en todos los casos.

Los resultados de todas las pruebas se analizaron a fin de facilitar la sensibilidad clínica, la especificidad clínica y los valores del índice de falsos positivos (IFP) de las señales positivas mediante un enfoque unidimensional.

Tabla 5. Rendimiento clínico de BCR/ABL (ABL1) *P/US* Translocation, Dual Fusion Probe

Variable	Resultado
Sensibilidad clínica (índice de positivos verdaderos, IPV)	98,97 %
Especificidad clínica (índice de negativos verdaderos, INV)	99,73 %
Índice de falsos positivos (IFP) = 1 – especificidad	0,27 %

Resumen de seguridad y rendimiento (SSP, por sus siglas en inglés)

El resumen de seguridad y rendimiento se pondrá a disposición del público a través de la base de datos europea sobre productos sanitarios (Eudamed), donde está vinculado al UDI-DI básico.

URL de Eudamed: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

UDI-DI básico: 50558449LPH038JQ

Si Eudamed no estuviera plenamente operativa, el SSP se pondrá a disposición del público previa petición por correo electrónico a SSP@ogt.com.

Información adicional

Para obtener información adicional sobre el producto, póngase en contacto con el Departamento de Asistencia Técnica de CytoCell.

Tel.: +44 (0)1223 294048

Correo electrónico: techsupport@cytozell.com

Sitio web: www.ogt.com

Referencias

- WHO Classification of Tumours Editorial Board. Haematolymphoid tumours [Internet; beta version ahead of print]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2022 [cited 2023 March 29]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
- Soupir et al., Am J Clin Pathol 2007;127:642-650
- Robinson et al., Leukemia 2005;19(4):564-71
- Arsham, MS., Barch, M.J. and Lawce H.J. (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.

Glosario de símbolos

EN ISO 15223-1:2021: «Productos sanitarios. Símbolos a utilizar con la información a suministrar por el fabricante. Parte 1: Requisitos generales.» (© International Organization for Standardization)		
Símbolo	Título	Referencia(s)
	es: Fabricante	5.1.1
	es: Representante autorizado en la Comunidad Europea/Unión Europea	5.1.2
	es: Fecha de caducidad	5.1.4
	es: Código de lote	5.1.5
	es: Número de catálogo	5.1.6
	es: Mantener alejado de la luz solar	5.3.2
	es: Límite de temperatura	5.3.7
	es: Consulte las instrucciones de uso	5.4.3
	es: Consulte la versión electrónica de las instrucciones de uso	5.4.3
	es: Precaución	5.4.4
	es: Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>	5.5.1
	es: Contiene cantidad suficiente para <n> pruebas	5.5.5
	es: Identificador único del producto	5.7.10
Símbolos de la EDMA para reactivos y componentes de IVD, revisión de octubre de 2009		
Símbolo	Título	Referencia(s)
	es: Contenido (o contiene)	NA

Patentes y marcas comerciales

CytoCell es una marca registrada de CytoCell Limited.



CytoCell Limited
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
REINO UNIDO

Tel.: +44 (0)1223 294048
Fax: +44 (0)1223 294986
Correo electrónico: probes@cytozell.com
Sitio web: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Bornbarch 1
22848 Norderstedt
ALEMANIA

Tel.: +49 40 527260
Sitio web: www.sysmex-europe.com

Historial de versiones de las instrucciones de uso (IFU)

V001 2023-06-13: Nuevas instrucciones de uso (IFU) según el Reglamento (UE) 2017/746

V002 2025-08-29: Eliminación de la marca UKCA.