



A Sysmex Group Company



Instrucciones de uso

REF: LPH 038-S / LPH038

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



SOLO PARA USO PROFESIONAL



www.cytoCELL.com

Más información y otros idiomas disponibles en www.ogt.com

Limitaciones

Este producto está diseñado para detectar reordenamientos mediante valores críticos en la región cubierta por los clones rojo y verde o deleciones en la región cubierta por los clones azules de este conjunto de sonda, en la que se incluyen las regiones *ABL*, *BCR* y *ASS1*. Es posible que con este producto no se detecten valores críticos fuera de esta región, variantes de los reordenamientos contenidas en su totalidad dentro de la misma ni pérdidas parciales de esta.

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 BCR/ABL (ABL1) 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 9q34.1 del cromosoma 9 y la región 22q11 del cromosoma 22 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 crónica (LMC), leucemia mielógena aguda (LMA) o leucemia linfocítica aguda (LLA).

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 *BCR-ABL1* 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 bandeo 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 *BCR* (*activador BCR de RhoGEF y GTPase*) se encuentra en 22q11.23, el gen *ABL1* (*protooncogén ABL 1, tirosina-cinasa citoplásmica*) está ubicado en 9q34.12 y el gen *ASS1* (*argininosuccinato sintetasa 1*) está situado en 9q34.11. La translocación entre los genes *BCR* y *ABL1* da lugar al gen de fusión *BCR-ABL1* y produce el cromosoma Filadelfia, que constituye el resultado visible de esta translocación.

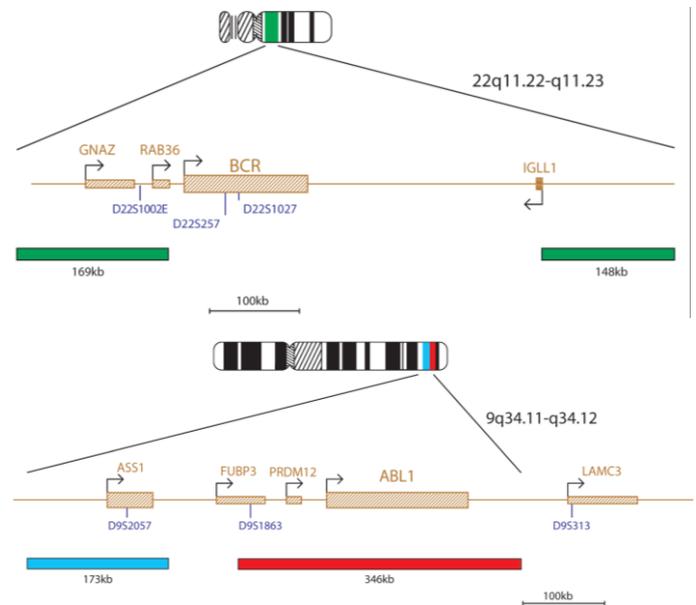
La presencia de la fusión *BCR-ABL1* posee importantes implicaciones diagnósticas y pronósticas en diversos trastornos hematológicos.

La translocación t(9;22)(q34.12;q11.23) es el rasgo característico de la LMC y se observa en aproximadamente el 90-95%¹ de los casos. El resto de casos presenta una translocación distinta o una translocación críptica entre 9q34.12 y 22q11.23 que no es detectable con las técnicas citogenéticas convencionales¹. Las fusiones *BCR-ABL1* también pueden hallarse en el 25% de los adultos y el 2-4% de los niños con LLA¹. Este reordenamiento también se observa en casos muy poco frecuentes de LMA².

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 incluye la región del gen *ASS1* (*argininosuccinato sintetasa 1*)³. Las deleciones concomitantes del gen *ASS1* se han asociado a un peor pronóstico en la LMC, aunque esta previsión puede revertirse parcialmente con el tratamiento con inhibidores de las tirosina-cinasas⁴; por tanto, el establecimiento de patrones atípicos en los pacientes con translocación *BCR-ABL1* puede tener implicaciones sobre el diagnóstico y el pronóstico clínicos.

Características de las sondas

ABL1, 9q34.11-q34.12, en rojo
BCR, 22q11.22-q11.23, en verde
ASS1, 9q34.11-q34.12, en azul



El conjunto de sondas *BCR/ABL1* se compone de una sonda verde de 169 kb, centromérica al gen *BCR*, que contiene los genes *GNAZ* y *RAB36*. Una segunda sonda verde abarca una región de 148 kb, telomérica al gen *BCR*, que cubre una porción del gen *IGLL1*. Una sonda roja cubre una región de 346 kb que abarca el gen *ABL1*. Una sonda azul adicional cubre una región de 173 kb y abarca el gen *ASS1* al completo.

Materiales suministrados

Sonda: 50 µl por vial (5 ensayos) o 100 µl por vial (10 ensayos)
 Las sondas se suministran premezcladas en disolución de hibridación (formamida; sulfato de dextran; citrato de sodio salino [SSC]) y vienen listas para su uso.

Tinción de contraste: 150 µl por vial (15 ensayos)

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

Advertencias y precauciones

1. Para uso diagnóstico *in vitro*. Solo para uso profesional.
2. Use guantes al manipular las sondas de ADN y la tinción de contraste con DAPI.
3. Las mezclas de las sondas contienen formamida, que es un teratógeno; no respire los vapores ni permita que entre en contacto con la piel. Utilice guantes y bata de laboratorio y manipúlelo en una campana de laboratorio. Para su eliminación, aclare con abundante agua.

- El DAPI puede ser carcinógeno. Manipúlelo con cuidado; utilice guantes y bata de laboratorio. Para su eliminación, aclare con abundante agua.
- 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 el los reactivos indicados, el resultado se podría ver afectado y se podrían generar 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 termorresistente
- 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 (citrate 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 _{máx} [nm]	Emisión _{máx} [nm]
Cian	418	467
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. Es necesario usar un filtro de paso monobanda de espectro cian para una visualización óptima del espectro cian o un filtro de paso de banda triple espectro rojo/espectro verde/espectro cian para la visualización simultánea de los fluoróforos verdes, rojos y cian.

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 portaobjetos⁵.

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.
- Escurra 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.
- Escurra 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

DS136/CE-es v007.00/2020-12-01 (H008 v3 / H010 v2)

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 Cytocell 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

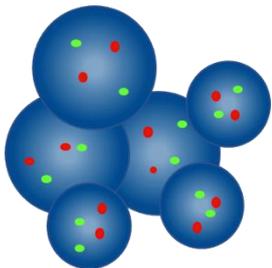
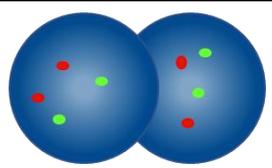
Evaluación de la calidad del portaobjetos

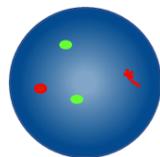
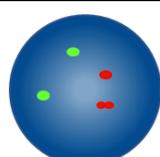
El portaobjetos no se deberá analizar si se dan las siguientes condiciones:

- 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

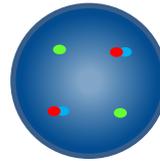
- Cada muestra debe ser analizada e interpretada por dos analistas. Cualquier discrepancia debe resolverse mediante la valoración de un tercer analista.
- Cada analista deberá estar debidamente cualificado según los criterios nacionales reconocidos.
- Cada analista deberá puntuar de manera independiente 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 plantee 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.
	Se contabilizan como dos señales rojas y dos señales verdes: la separación en una de las señales rojas es inferior al ancho de dos señales.

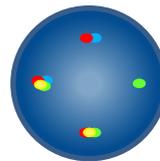
Resultados previstos

Patrón previsto de señales normales

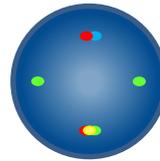


En una célula normal, se espera observar dos señales de fusión rojo-azul y dos señales verdes (2 RA, 2 V).

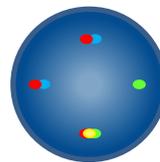
Patrón previsto de señales anómalas



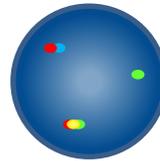
En una célula con un reordenamiento $t(9;22)(q34;q11)$, se espera observar una señal de fusión rojo-verde, una señal de fusión rojo-verde-azul, una señal de fusión rojo-azul y una señal verde (1 F, 1 RVA, 1 RA, 1 V).



En una célula con un reordenamiento $t(9;22)(q34;q11)$ y delección de la porción proximal del cromosoma 9q, se espera observar una señal de fusión rojo-verde, dos señales verdes y una señal de fusión rojo-azul (1 F, 2 V, 1 RA).



En una célula con un reordenamiento $t(9;22)(q34;q11)$ y delección de la porción distal del cromosoma 22q, se espera observar una señal de fusión rojo-verde, una señal verde y dos señales de fusión rojo-azul (1 F, 1 V, 2 RA).



En una célula con un reordenamiento $t(9;22)(q34;q11)$ y delección de la porción proximal del cromosoma 9q y de la porción distal del cromosoma 22q, se espera observar una señal de fusión rojo-verde, una señal verde y una señal de fusión rojo-azul (1 F, 1 V, 1 RA).

La sonda ASS1 azul es capaz de diferenciar el solapamiento accidental de señales de una fusión BCR/ABL1 real en las células en interfase. La señal azul se manifestará cuando se produzca un solapamiento accidental de señales y no se mostrará cuando se trate de una fusión real.

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

Reactividad cruzada conocida

Es posible que la sonda verde distal al gen BCR muestre hasta dos señales de hibridación cruzada en los cromosomas de los grupos B, C o E.

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).

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 BCR/ABL *Plus* Translocation, Dual Fusion Probe

Sonda	Locus de interés	N.º de señales hibridadas con el locus correcto	N.º total de señales hibridadas	Especificidad (%)
ABL1 roja	9q34	182	182	100
BCR verde	22q11.23	182	182	100
ASS1 azul	9q34	182	182	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 BCR/ABL *Plus* 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 %
468	500	93,6	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 BCR/ABL *Plus* Translocation, Dual Fusion Probe

Patrón de señales anómalas	Índice de Youden	Corte normal (%)
1 F, 1 RVA, 1 RA, 1 V; 1 F, 2 V, 1 RA; 1 F, 1 V, 2 RA; 1 F, 1 V, 2 RA	1,00	2

Los laboratorios deberán verificar los valores de corte usando sus propios datos⁶⁷.

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 BCR/ABL *Plus* Translocation, Dual Fusion Probe

Variable	Desviación estándar (DE)
Precisión	0,19
Entre distintas muestras	0,19
Entre distintos días	0,38
Entre distintos lotes	0,00
Desviación global	0,30

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 BCR/ABL *Plus* Translocation, Dual Fusion Probe

Variable	Resultado
Sensibilidad clínica (tasa de verdaderos positivos, TVP)	96,9 %
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. Soupir *et al.*, *Am J Clin Pathol* 2007;127:642-650
3. Robinson *et al.*, *Leukemia* 2005;19(4):564-71
4. Siu *et al.*, *BMC Blood Disorders* 2009;9:4
5. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
6. 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.
7. Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Precinical 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
CONT	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@cytoCell.com
Sitio web: www.ogt.com