



A Sysmex Group Company



Instrucciones de uso

REF.: LPH 036-S / LPH 036

EV11 (MECOM) Breakapart 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 fijada con los clones rojo, verde y azul de este conjunto de sonda, en la que se incluye la región *EV11* (*MECOM*). Es posible que con este producto no se detecten los valores críticos que se encuentran fuera de esta región o los reordenamientos de variantes situados por completo dentro de la región.

La prueba no se ha concebido para su uso como única prueba de diagnóstico, como prueba prenatal o como cribado de poblaciones, ni para llevar a cabo pruebas en uno mismo o con el paciente presente. Este producto está indicado solo para uso profesional en laboratorio; la interpretación de todos los resultados debe llevarla a cabo personal cualificado, teniendo en cuenta otros resultados de pruebas pertinentes.

Este producto no está validado para su uso con tipos de muestras o enfermedades diferentes a los que se especifican en el uso previsto.

La interpretación de los resultados de FISH y la elaboración de informes al respecto deben ser coherentes con las normas de la práctica profesional y tener en cuenta otra información clínica y de diagnóstico. Este kit 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.

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

Este kit no está validado para fines distintos de los que recoge la sección de uso previsto.

Uso previsto

CytoCell EV11 (MECOM) Breakapart Probe es un ensayo cualitativo no automatizado de hibridación *in situ* fluorescente (FISH, por sus siglas en inglés) que permite detectar reordenamientos cromosómicos en la región 3q26.2 del cromosoma 3 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) o leucemia linfoblástica aguda (LLA).

Indicaciones

Este producto se ha concebido como prueba complementaria de otras pruebas clínicas e histopatológicas en protocolos diagnósticos clínicos y de tratamiento reconocidos en los que el conocimiento del estado de translocación del gen *EV11* (*MECOM*) resultaría relevante para el tratamiento clínico.

Principios de la prueba

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. 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 oncogén *MECOM* (*locus del complejo MDS1 y EV11*), situado en 3q26.2, a menudo aparece reordenado en las neoplasias hematológicas de origen granulocítico.

MECOM codifica una proteína con dedos de zinc que se expresa incorrectamente en las células leucémicas del 2-5 % de los pacientes con LMA y SMD¹. Esta expresión no regulada suele atribuirse a un reordenamiento cromosómico en 3q26.2 y las dos anomalías más frecuentes son la translocación t(3;3)(q21;q26.2) y la inversión inv(3)(q21q26.2)¹. Los valores críticos varían considerablemente entre las translocaciones y las inversiones.

En las inversiones, los valores críticos incluyen el gen *MECOM*, se hallan centroméricos a este y cubren una longitud de unos 600 kb. Por su parte, la mayoría de los valores críticos de las translocaciones registradas en 3q26.2 son teloméricas al gen *MECOM* y cubren una región que abarca el extremo telomérico del gen *MDS1* y el gen *MYNN*².

Los reordenamientos cromosómicos que se producen en la región 3q26.2 se asocian a tumores malignos de origen granulocítico, una expresión anómala del gen *MECOM*, un pronóstico desfavorable y una evolución clínica agresiva².

Las LMA con inversión inv(3)(q21q26.2) o translocación t(3;3)(q21;q26.2) constituyen una entidad patológica reconocida según la clasificación de las neoplasias mieloides y las leucemias agudas de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Se trata de LMS modificadas o de nueva aparición con una evolución clínica agresiva y anomalías que incluyen el gen *MECOM*, situado en 3q26.2, y el gen *RPN1* (riboforina I), ubicado en 3q21³.

También se ha documentado el reordenamiento del gen *MECOM* en las enfermedades relacionadas con el tratamiento a través de la translocación t(3;21)(q26.2;q22), que da lugar al gen de fusión *MECOM-RUNX1*^{3,4}.

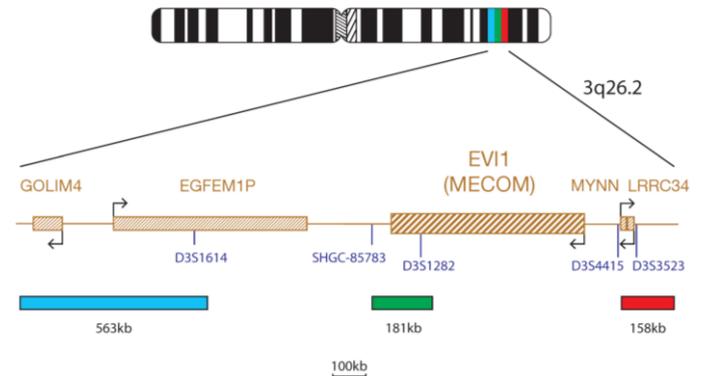
Los reordenamientos del gen *MECOM* son muy heterogéneos y pueden ser difíciles de detectar por medios citogenéticos convencionales, lo que pone de manifiesto la utilidad de las herramientas FISH en su detección.

Especificación de la sonda

EV11, 3q26.2, en rojo

EV11, 3q26.2, en verde

EV11, 3q26.2, en azul



El componente rojo del conjunto de sondas EV11 está formado por una sonda de 158 kb, telomérica al marcador D3S4415, que incluye el gen LRRC34. El componente verde cubre una región de 181 kb que incluye una porción centromérica del gen *EV11* (*MECOM*) y se extiende más allá del marcador D3S1282. El componente azul cubre una región de 563 kb centromérica al gen *EV11* que incluye el marcador D3S1614.

Materiales suministrados

Sonda: 50 µl en cada vial (5 pruebas) o 100 µl en cada vial (10 pruebas).

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

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

La contratinción es montante de fluorescencia DAPI (ES: 0,125 µg/ml de DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol)).

Advertencias y precauciones

1. Destinado a su uso en diagnóstico *in vitro*. Solo para uso profesional.
2. Lleve guantes cuando manipule las sondas de ADN y la contratinción DAPI.
3. Las mezclas de sondas contienen formamida, un teratógeno; no inhale los vapores y evite que entre en contacto con la piel. Manipúlelas con precaución; utilice guantes y una bata de laboratorio.
4. El DAPI es una sustancia posiblemente carcinógena. Manipúlelas con precaución; utilice guantes y una bata de laboratorio.
5. Elimine todos los materiales peligrosos de conformidad con las directrices de su institución en materia de eliminación de residuos peligrosos.
6. Los usuarios deben ser capaces de distinguir los colores rojo, azul y verde.
7. Si no se respetan el protocolo y los reactivos indicados, el resultado se podría ver afectado y se podrían generar resultados falsos positivos o falsos negativos.

- La sonda no se debe 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.

Almacenamiento y manipulación

 El kit debe conservarse en un congelador a una temperatura de entre -25 °C 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 se mantiene estable durante los ciclos de congelación y descongelación que se suceden durante su uso rutinario (donde un ciclo se considera la retirada de la sonda del congelador y su posterior colocación en este) y es fotoestable durante un plazo máximo de 48 horas a partir de su exposición a un entorno continuamente iluminado. Deberá hacerse todo lo posible por limitar la exposición a la luz y los cambios de 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 °C y 72 °C
- Tubos de microcentrífuga (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
- Fórceps
- 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 20x de citrato de sodio salino (SSC)
- Etol 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 sonda 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. Para conseguir una óptima visualización simultánea de los fluoróforos verde y rojo, recurra a un filtro de triple paso de banda DAPI/espectro verde/espectro rojo o a un filtro de doble paso de banda 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.

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 montante de fluorescencia 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

El kit está diseñado para su uso con suspensiones de células de origen hematológico fijadas en solución de Carnoy (metanol y ácido acético en una proporción 3:1), que se deberán preparar de acuerdo con las directrices del laboratorio o la institución correspondiente. 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 portaobjetos⁵.

Preparación de soluciones

Soluciones de etanol

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

- Etol al 70 %: 7 partes de etanol al 100 % y 3 partes de agua purificada.
 - Etol 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 2xSSC

Diluya 1 parte de solución 20xSSC 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 0,4xSSC

Diluya 1 parte de solución 20xSSC 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 2xSSC con Tween-20 al 0,05 %

Diluya 1 parte de solución 20xSSC 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 tinción de contraste 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 utiliza una cámara de secado de citogenética:** los portaobjetos se deben preparar en 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 2xSSC 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 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 en una placa térmica a 37 °C (+/- 1 °C) para precalentarla 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 protegido frente a la luz 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 0,4xSSC (a pH 7,0) a 72 °C (+/- 1 °C) durante 2 minutos sin agitarlo.
- Escrura el portaobjetos y sumérralo en solución 2xSSC con Tween-20 al 0,05 % a TA (pH de 7,0) durante 30 segundos sin agitarlo.
- Escrura el portaobjetos y añada 10 µl de montante de fluorescencia DAPI en cada muestra.
- Aplique un cubreobjetos, elimine las burbujas y deje que se desarrolle el color en la oscuridad durante 10 minutos.
- Observe el portaobjetos con un microscopio de fluorescencia (consulte **Recomendaciones sobre microscopios de fluorescencia**).

Estabilidad de los portaobjetos finalizados

Los portaobjetos finalizados se mantienen estables durante un plazo máximo de 1 mes si se almacenan en la oscuridad a la TA o por debajo de ella.

Recomendaciones sobre el procedimiento

- El horneado o el curado de los portaobjetos puede reducir la señal de fluorescencia.
- El uso de reactivos distintos a los suministrados o recomendados por Cytozell Ltd. puede afectar negativamente a las condiciones de hibridación.

- 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 el ensayo 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

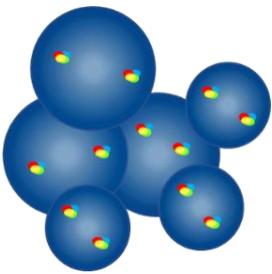
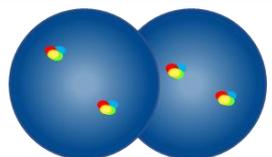
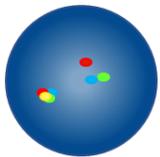
Evaluación de la calidad del portaobjetos

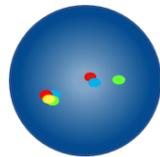
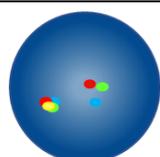
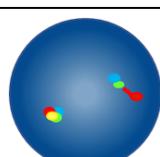
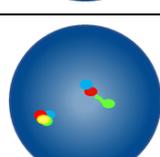
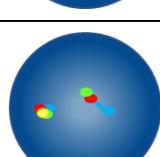
No se debe analizar el portaobjetos en los siguientes casos:

- 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 de células o superposiciones 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, al analizar las sondas de translocación de tres colores, se observa una separación entre las señales roja, verde y cian no superior al ancho de dos señales, se contabilizará como una señal no reordenada o fusionada.
- Se habrán de descartar todas aquellas células cuyo análisis plantee dudas.

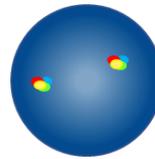
Directrices para el análisis	
	No deben contabilizarse los núcleos que se encuentren tan cerca que no sea posible establecer los límites entre ellos.
	No deben contabilizarse los núcleos que se solapen; es decir, cuando toda la superficie de ambos núcleos no sea visible.
	Se contabilizan como dos señales de fusión: la separación entre las señales roja y verde/azul es inferior al ancho de dos señales.

	Se contabilizan como dos señales de fusión: la separación entre la señal verde y la señal rojo-azul es inferior al ancho de dos señales.
	Se contabilizan como dos señales de fusión: la separación entre la señal azul y la señal rojo-verde es inferior al ancho de dos señales.
	Se contabilizan como dos señales de fusión: en la fusión del margen superior derecho, la señal roja es difusa.
	Se contabilizan como dos señales de fusión: en la fusión del margen superior derecho, la señal verde es difusa.
	Se contabilizan como dos señales de fusión: en la fusión del margen superior derecho, la señal azul es difusa.

Resultados previstos

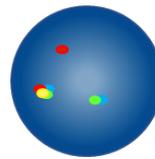
La estrategia tricolor muestra la presencia de una translocación o de una inversión y permite distinguir cada tipo distinto de reordenamiento.

Patrón de señal normal previsto

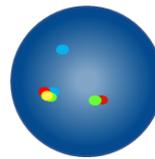


En una célula normal, se espera observar dos señales rojo-verde-azul localizadas conjuntamente (2 RVA).

Patrones previstos de señales anómalas



En una célula con una translocación $t(3;nn)(q26.2;nn)$, el patrón de señal previsto es de una señal roja, una señal de fusión verde-azul y una señal de fusión rojo-verde-azul (1 R, 1 VA, 1 RVA).



En una célula con una inversión $inv(3;nn)(q21q26.2;nn)$, el patrón de señal previsto es de una señal de fusión rojo-verde, una señal azul independiente y una señal de fusión rojo-verde-azul (1 RV, 1 A, 1 RVA).

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

Reactividad cruzada conocida

No se ha detectado ninguna reactividad cruzada conocida.

Elaboración de informes sobre eventos 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 evento adverso (como, por ejemplo, el retraso en un diagnóstico, un

diagnóstico erróneo, el retraso en un tratamiento o un tratamiento inadecuado), debe notificarlo de inmediato al fabricante (**correo electrónico:** vigilance@ogt.com).

Cuando corresponda, será necesario informar también del evento a las autoridades nacionales competentes. Se puede consultar una lista de los puntos de contacto de vigilancia en: <http://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

Características específicas de rendimiento

Especificidad analítica

La especificidad analítica es el porcentaje de señales hibridadas 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 hibridadas con el locus correcto, dividido por el número total de señales de FISH hibridadas.

Tabla 1. Especificidad analítica de EVI1 Breakpart Probe

Sonda	Locus de interés	N.º de señales hibridadas con el locus correcto	N.º total de señales hibridadas	Especificidad (%)
Roja EVI1	3q26	200	200	100
Verde EVI1	3q26	200	200	100
Azul EVI1	3q26	200	200	100

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica es el porcentaje de células en interfase que se pueden puntuar con el patrón de señal normal previsto. 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 de señal normal previsto (con un intervalo de confianza del 95 %).

Tabla 2. Sensibilidad analítica de EVI1 Breakpart Probe

N.º de células con el patrón de señal previsto	N.º de células con señales puntuables	Sensibilidad (%)	Intervalo de confianza del 95 %
4957	5000	99,14	98,84-99,36

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 señal anómalo específico para el que una muestra se considera normal para ese patrón de señal.

El valor de corte normal se estableció usando muestras negativas para el reordenamiento que la sonda debe detectar y la función inversa beta. Dos analistas independientes registraron por cada muestra los patrones de señales de 100 núcleos en interfase, lo que supuso un total de 200 por muestra.

Tabla 3. Caracterización de los valores de corte normales de EVI1 Breakpart Probe

Patrón de señal anómalo	Número de muestras analizadas para generar el corte	Número de núcleos evaluados por muestra	N.º máx. de patrones de señales con falsos positivos	Valor de corte normal (%)
1 R, 1 VA, 1 RVA	25	200	3	4
1 RV, 1 A, 1 RVA	25	200	3	4

Los laboratorios deberán verificar los valores de corte usando sus propios datos^{6,7}.

Reproducibilidad

La reproducibilidad se determinó en tres laboratorios distintos que analizaron seis muestras enmascaradas (dos muestras negativas para el reordenamiento, dos muestras levemente positivas con valores de una a tres veces el valor de corte y dos muestras altamente positivas que contenían más del 45 % de células positivas para el reordenamiento). El análisis se llevó a cabo usando dos copias de cada muestra en el transcurso de cinco días no consecutivos.

Los tres laboratorios llevaron a cabo ensayos intradiarios, interdiarios y entre laboratorios usando sondas de un mismo lote. Uno de los laboratorios analizó la reproducibilidad entre lotes usando sondas procedentes de tres lotes distintos.

La reproducibilidad se calculó a partir de la concordancia entre las variables examinadas en cada prueba.

Tabla 4. Reproducibilidad y precisión de EVI1 Breakpart Probe

Señal	Estudio de reproducibilidad	Muestra	Concordancia (%)
Inversión (1 RV, 1 A, 1 RVA)	Intradiaria, interdiaria y entre laboratorios	Negativa	100
		Altamente positiva	100
	Entre lotes	Negativa	92
		Altamente positiva	100
Translocación (1 R, 1 VA, 1 RVA)	Intradiaria, interdiaria y entre laboratorios	Negativa	100
		Altamente positiva	100
	Entre lotes	Negativa	100
		Altamente positiva	100

Rendimiento clínico

El rendimiento clínico se determinó usando un grupo representativo de pacientes aleatorios derivados por LMA o SMD, para lo que se recogieron 100 muestras del centro. Las tasas de incidencia de los reordenamientos detectados por la sonda se compararon con las derivadas de una revisión de distintas fuentes bibliográficas.

A efectos de esta comparación, se calculó el intervalo de confianza indicado en la bibliografía en un tamaño poblacional de 100 muestras mediante la fórmula «1 – prueba de proporciones de la muestra con corrección de continuidad».

Tabla 5. Rendimiento clínico de EVI1 Breakpart Probe

Reordenamiento	Prevalencia			
	Revisión bibliográfica (%)	ICI del 95 % (%)	Estudio clínico (%)	ICS del 95 % (%)
LMA con inv(3)/t(3;3)/reordenamientos de MECOM	1,3	0,1	4	6,7
Reordenamientos de MDS con MECOM	0,4	0		5,3

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@cytoCELL.com

Sitio web: www.ogt.com

Referencias

- Soderholm *et al.*, Leukemia 1997;11:352-358
- Bobadilla *et al.*, Br J Haematol 2007;136:806-813
- Swerdlow *et al.*, (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC, 2017
- Pedersen-Bjergaard *et al.*, Leukemia 2008;22:240-248
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16–23.

Guía de los 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: Mantener alejado de la luz solar

	es: Contiene cantidad suficiente para <n> pruebas
	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
Tel.: +44(0)1223 294048
Fax: +44(0)1223 294986
Correo electrónico: probes@cytoCell.com
Sitio web: www.ogt.com