



A Sysmex Group Company



Instrucciones de uso

REF: LPH 089 / LPH 089-S

CBFB Breakapart Probe



SOLO PARA USO PROFESIONAL



www.cytocell.com

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

Uso previsto

CytoCell® CBFB 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 16q22 del cromosoma 16 en suspensiones de células de origen hematológico fijadas en solución fijadora de Carnoy (3:1 metanol/ácido acético) procedentes de pacientes con sospecha o diagnóstico confirmado de leucemia mielógena aguda (LMA).

Indicaciones de uso

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 reordenamiento del gen *CBFB* resultaría relevante para la gestión clínica.

Limitaciones

Este producto está diseñado para detectar reordenamientos con puntos de rotura en la región delimitada por los clones rojo y verde de este conjunto de sondas, en la que se incluye el gen *CBFB*. Es posible que con este producto no se detecten puntos de rotura fuera de esta región ni variantes de los reordenamientos contenidas en su totalidad dentro de la misma.

Este producto no está previsto para su uso como técnica diagnóstica, diagnóstico complementario, prueba prenatal, método de cribado poblacional, análisis de diagnóstico inmediato o prueba de autodiagnóstico independiente.

Este producto no ha sido validado para tipos de muestras o de enfermedades, ni para ningún fin que no esté cubierto en el uso previsto.

Está previsto como complemento de otras pruebas analíticas diagnósticas, por lo que no se deberá iniciar ninguna acción terapéutica basada exclusivamente en el resultado de un ensayo de FISH.

La notificación y la interpretación de los resultados de ensayos de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) deberán llevarse a cabo por personal debidamente cualificado, de conformidad con las normas de práctica profesional, y tener en cuenta los resultados de otros ensayos, datos clínicos y de diagnóstico.

Este producto está diseñado para uso exclusivo en laboratorio profesional.

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

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 bandeado 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 contrasta 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 *CBFB* (factor de unión central de subunidad beta) se encuentra en 16q22, y suele reordenarse debido a la inversión *inv(16)(p13.11q22.1)* o a la translocación

t(16;16)(p13.11;q22.1). Rara vez se han documentado translocaciones de 16q22 con otros genes acompañantes, mientras que la delección de la banda 16q22 también se ha documentado¹.

Las leucemias mielógenas agudas con inversión *inv(16)(p13.11q22.1)* o translocación *t(16;16)(p13.11;q22.1)* forman una entidad patológica reconocida según la clasificación de las neoplasias mieloides y las leucemias agudas de la Organización Mundial de la Salud (OMS)². Estos reordenamientos se encuentran habitualmente en pacientes con la anteriormente denominada LMA de subtipo FAB (clasificación franco-anglo-estadounidense) M4Eo, un subtipo mielomonocítico que presenta un aumento de los eosinófilos en la médula ósea, y se observan en el 5-8 %² de las LMA. También pueden presentar este reordenamiento los casos de LMA relacionados con el tratamiento^{2,3}.

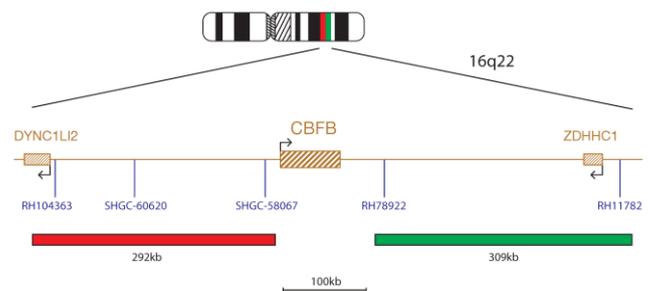
La inversión *inv(16)(p13.11q22.1)* o la translocación *t(16;16)(p13.11;q22.1)* producen reordenamientos del gen *CBFB-MYH11*, y están clasificados como un grupo de riesgo citogenético favorable en pacientes con LMA^{4,5,6}.

Tanto en la inversión *inv(16)(p13.11q22.1)* como en la translocación *t(16;16)(p13.11;q22.1)*, los puntos de ruptura se producen en el intrón 5 del gen *CBFB* y en el intrón 5 del gen *MYH11*. El extremo N del gen *CBFB* se une al extremo C del gen *MYH11* con su dominio de multimerización. La proteína híbrida resultante reduce la cantidad de CBF activo. Asimismo, se produce una acumulación de multímeros *CBFB-MYH11/CBFA* en el núcleo. El gen *CBFB* regula la expresión de determinados factores de ribosilación del ADP (AFR, por sus siglas en inglés) y otros genes supresores tumorales, por lo que se considera que la proteína de fusión reprime la expresión de dichos genes⁴. Se ha demostrado que esta proteína de fusión es necesaria, pero no suficiente para la leucemogénesis, y se sigue trabajando para determinar la forma en la que la proteína parece bloquear en colaboración con el *RUNX1* para mediar en la señal proliferativa y el bloque de diferenciación celular necesario para el desarrollo de la leucemia^{7,8}.

Características de las sondas

CBFB, 16q22, rojo
CBFB, 16q22, verde

CMP-H098 v001.00



El conjunto CBFB Breakapart Probe se compone de dos sondas distintas. La sonda roja (292kb) en posición centromérica al gen *CBFB* se extiende más allá del marcador RH104363 para cubrir parte del gen *DYNC1L12*, e incluye los marcadores SHGC-60620 y SHGC-58067. La sonda verde (309kb) en posición telomérica al gen *CBFB* se extiende a través del marcador RH78922 más allá del gen *ZDHHC1* hasta una región telomérica al marcador RH11782.

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 dextrano; citrato de sodio salino [SSC]) y vienen listas para su uso.

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

Se utiliza DAPI Antifade ES (0,125 µg/ml DAPI [(4,6-diamidino-2-fenilindol) en medio de fijación basado en glicerol]) como tinción de contraste.

Advertencias y precauciones

1. Para uso diagnóstico *in vitro*. De uso exclusivo en laboratorio profesional.
2. Las mezclas de las sondas contienen formamida, que es un teratógeno; no respire los vapores ni permita que entre en contacto con la piel. Manipúlelo con cuidado; utilice guantes y bata de laboratorio.
3. El DAPI puede ser carcinógeno. Manipúlelo con cuidado; utilice guantes y bata de laboratorio.
4. No lo utilice si los viales están dañados, o si su contenido presenta algún tipo de daño.
5. Cumpla con las normas nacionales relativas a la eliminación de residuos y con las recomendaciones en la ficha de datos de seguridad para resolver una eliminación segura de este producto. Esto también es de aplicación al contenido dañado del kit de ensayo.
6. Deseche todos los reactivos usados y todo material desechable contaminado siguiendo los procedimientos para residuos infecciosos o potencialmente infecciosos. Es responsabilidad de cada laboratorio manipular los residuos sólidos y líquidos según su naturaleza y nivel de peligrosidad, así como tratarlos y eliminarlos (o que se traten y eliminen) de acuerdo con la normativa aplicable.
7. Todos los operarios deberán poder distinguir los colores rojo, azul y verde.
8. Si no se sigue el protocolo y el uso de los reactivos indicados, el resultado se podría ver afectado y se podrían generar falsos positivos o falsos negativos.
9. La sonda no se deberá diluir ni mezclar con otras sondas.

10. 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.

11. Todos los productos deben validarse antes de su uso.

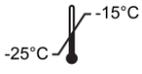
12. Los controles internos deben llevarse a cabo usando poblaciones celulares no afectadas en las muestras del ensayo.

Definiciones de temperatura

- -20 °C / Congelado / En el congelador: de -25 °C a -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Temperatura ambiente: +15 °C a +25 °C

Conservación y manipulación

El kit deberá 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 deberán conservar en la oscuridad.



La sonda FISH, la tinción de contraste DAPI Antifade ES y la solución de hibridación conservan su estabilidad durante los ciclos de congelación y descongelación que se experimentan durante el uso normal (la extracción del vial del congelador constituiría el primer ciclo y su reposición en el congelador, el segundo). La exposición a la luz debe minimizarse y evitarse

siempre que sea posible. Almacene los componentes en el recipiente opaco suministrado. Los componentes utilizados y almacenados en condiciones distintas a las indicadas en el etiquetado pueden no funcionar como se espera y afectar negativamente a los resultados del ensayo. Deberá 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:

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

Equipo opcional no suministrado

1. Cámara de secado citogenético

Reactivos necesarios pero no suministrados

1. Disolución de 20xSSC (citrato de sodio salino)
2. Etanol al 100 %
3. Tween-20
4. 1 M de hidróxido de sodio (NaOH)
5. 1 M de ácido clorhídrico (HCl)
6. 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]
Verde	495	521
Rojo	596	615

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

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

recomendaciones de los fabricantes relativas a la vida útil de la bombilla 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 portaobjetos⁹.

Preparación de las disoluciones

Soluciones de etanol

Diluya etanol al 100 % con agua purificada utilizando las siguientes proporciones y mézclelo bien:

- 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 disolución 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 disolución hasta 4 semanas a temperatura ambiente en un recipiente hermético.

Solución de 0,4xSSC

Diluya 1 parte de disolución 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 disolución hasta 4 semanas a temperatura ambiente en un recipiente hermético.

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

Diluya 1 parte de disolución 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 disolución hasta 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

1. Deposite la muestra celular en un portaobjetos para microscopio de vidrio. Deje que se seque. (Opcional, si se utiliza 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, utilice una campana de laboratorio en su lugar).
2. Sumerja el portaobjetos en 2xSSC durante 2 minutos a temperatura ambiente sin agitación.
3. Deshidrátelo en mezclas progresivas de etanol (70 %, 85 % y 100 %), durante 2 minutos en cada una a temperatura ambiente.
4. Deje que se seque.

Antes de la desnaturalización

5. Saque la sonda del congelador y deje que alcance la temperatura ambiente. Centrifugue brevemente los tubos antes de su uso.
6. Mezcle uniformemente la disolución de la sonda con una pipeta.
7. 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.
8. Coloque la sonda y el portaobjetos con la muestra sobre una placa calefactora a 37 °C (+/- 1 °C) para precalentarlos durante 5 minutos.
9. Deposite 10 µl de mezcla de sonda sobre la muestra celular y coloque con cuidado un cubreobjetos. Selle con adhesivo de solución de caucho y deje que se seque completamente.

Desnaturalización

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

Hibridación

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

Lavados después de la hibridación

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

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 dar lugar a una unión no específica.
6. La hibridación excesiva puede dar lugar a señales adicionales o inesperadas.
7. Los usuarios deberán optimizar el protocolo para 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

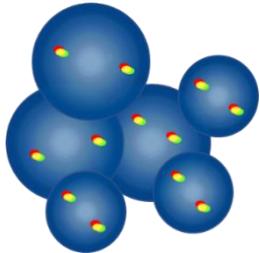
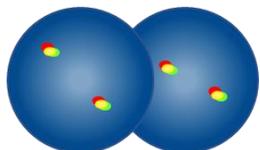
Evaluación de la calidad del portaobjetos

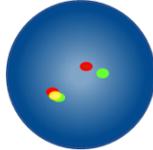
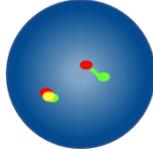
El portaobjetos no se deberá analizar si se dan las siguientes condiciones:

- 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 deberá 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

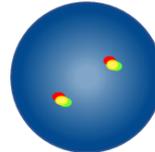
- Cada muestra deberá ser analizada e interpretada por dos analistas. Cualquier discrepancia deberá resolverse mediante la valoración de un tercer analista.
- Cada analista deberá estar debidamente cualificado según los criterios nacionales reconocidos.
- Cada analista deberá puntuar de manera independiente 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.
- Si al analizar las sondas de rotura de dos colores se observa una separación entre las señales roja y verde no superior al ancho de dos señales, se contabilizará como una señal reordenada o fusionada.
- Si al analizar las sondas de rotura de tres colores se observa una separación entre cualquiera de las tres señales (roja, verde, azul) 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.

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 de fusión: la separación entre las señales roja y verde es inferior al ancho de dos sondas.
	Se contabilizan como dos señales de fusión: una de las señales de fusión es difusa.

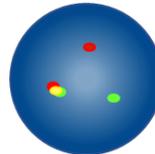
Resultados previstos

Patrón previsto de señales normales



En una célula normal, se espera observar dos señales de fusión (F) rojo-verde (2 F).

Patrón previsto de señales anómalas



En una célula con un reordenamiento del gen CBFB, el patrón de señal previsto será de una fusión (F), una señal roja (R) y una señal verde (G) (1F1R1G).

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

Interferencias / sustancias interferentes relevantes conocidas

No se conocen interferencias / sustancias interferentes.

Reactividad cruzada conocida

No se ha detectado ninguna reactividad cruzada.

Notificación de incidentes graves

Para un paciente/usuario/tercero en la Unión Europea y en países con un régimen regulador idéntico (Directiva 98/79/CE / Reglamento (UE) 2017/746 sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*); si, durante el uso de este producto, o como resultado de su uso, se ha producido un incidente grave, informe al fabricante y a la autoridad competente de su país.

En caso de incidentes graves en otros países, informe al fabricante y, si corresponde, a la autoridad competente de su país.

Contacto de vigilancia del fabricante: vigilance@ogt.com

Se puede consultar una lista de puntos de contacto de vigilancia de las autoridades competentes en la UE en la siguiente dirección:

<https://ec.europa.eu/growth/sectors/medical-devices/contacts/>.

Características específicas sobre el 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 4 loci cromosómicos en cada una de las 20 células metafásicas de 5 muestras, lo que dio 400 puntos de datos. Se localizó la ubicación de cada sonda hibridada y se registró el número de señales de FISH de metafase que hibridan con el locus correcto.

La especificidad analítica de cada sonda del kit se calculó como el número de señales de FISH de metafase que hibridan con el locus correcto dividido por el número total de señales de FISH de metafase hibridadas; el resultado se multiplicó por 100 expresado como porcentaje al que se asignó un intervalo de confianza del 95 %.

Tabla 1. Especificidad analítica de CBFB Breakpart Probe

Región	Número de metafases cromosómicas hibridadas	Número de loci correctamente hibridados	Especificidad analítica	Intervalo de confianza del 95 %
16q22 Texas Red	200	200	100 %	98,12-100 %

16q22 FITC	200	200	100 %	98,12-100 %
------------	-----	-----	-------	-------------

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica es el porcentaje de células en interfase puntuables que presentan el patrón previsto de señales normales. Se analizaron un mínimo de 200 células en interfase de cada una de las 25 suspensiones de células fijadas de muestras de médula ósea, que resultaron en un mínimo de 5000 núcleos por cada tipo de muestra. Los datos sobre sensibilidad se analizaron en base al porcentaje de células que mostraban un patrón de señales normal esperado y se expresaron como porcentaje con un intervalo de confianza del 95 %.

Tabla 2. Sensibilidad analítica de CBFB Breakpart Probe

Tipo de muestra	Criterios de sensibilidad	Resultado de la sensibilidad
Médula ósea	>95 %	97,92 % (97,59-98,25 %)

Caracterización de los valores de corte normales

El valor de corte normal se define como el porcentaje de células que presentan un patrón de señales con falso positivo en la que un individuo se consideraría normal y no compatible con un diagnóstico clínico. Se analizaron un mínimo de 200 células en interfase de cada una de las 25 suspensiones de células fijadas de muestras de médula ósea, que resultaron en un mínimo de 5000 núcleos por cada tipo de muestra.

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

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

Tipo de muestra	Resultado del corte
Médula ósea	3,08 %

Los laboratorios deberán verificar los valores de corte usando sus propios datos^{10,11}.

Precisión

La precisión de este producto se ha medido como la precisión intradiaria (entre distintas muestras), la precisión interdiaria (entre distintos días) y la precisión entre lotes en un único centro (entre distintos lotes).

Se utilizaron 2 muestras para evaluar la precisión de este producto: 1 muestra negativa de médula ósea y 1 muestra levemente positiva de médula ósea.

Para determinar la precisión interdiaria y la intradiaria, se evaluaron las muestras a lo largo de 5 días no consecutivos, y para determinar la precisión entre lotes se evaluaron 3 lotes del producto en 4 réplicas de las mismas muestras. Los resultados se presentaron como la concordancia general con la clase negativa prevista (para las muestras negativas).

Tabla 4. Reproducibilidad y precisión de CBFB Breakpart Probe

Variable	Tipo de muestra	Concordancia
Reproducibilidad intradiaria (muestra a muestra) e interdiaria (día a día)	Médula ósea negativa	100 %
	Médula ósea levemente positiva	100 %
Reproducibilidad entre lotes	Médula ósea negativa	100 %
	Médula ósea levemente positiva	100 %

Rendimiento clínico

Para garantizar que el producto detecta los reordenamientos previstos, el rendimiento clínico se determinó en dos ensayos retrospectivos realizados en centros de ensayo externos con muestras representativas de la población prevista para el producto, utilizando material fijado en metanol con ácido acético en una proporción de 3:1 a partir de muestras obtenidas de forma hematológica. El tamaño de muestra combinado para los ensayos fue de 113 muestras, con 20 muestras positivas y 93 negativas. Todas las muestras fueron desidentificadas y se aleatorizaron para prevenir sesgos en el análisis. Los resultados se compararon con el estado conocido de la muestra.

Los resultados de dichos ensayos se analizaron para obtener los valores correspondientes a la sensibilidad clínica, la especificidad clínica y la tasa de falso positivo (TFP) para señales positivas utilizando un enfoque unidimensional.

Tabla 5. Rendimiento clínico de CBFB Breakpart Probe

Variable	Resultado
Sensibilidad clínica (tasa de verdaderos positivos, TVP)	99,42 %
Especificidad clínica (tasa de verdaderos negativos, TVN)	99,84 %

Tasa de falsos positivos (TFP = 1 especificidad)	0,16 %
--	--------

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

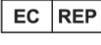
Correo electrónico: techsupport@cytoCELL.com

Página web: www.ogt.com

Bibliografía

- Huret JL. Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. 1999; 3(3):147-149.
- Swerdlow, et al. (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, France, 4th edition, IARC, 2017
- Hernández JM, et al. Haematologica. 2000; 85(5):481-5.
- Moreno-Miralles I, et al. J Biol Chem. 2005;280(48):40097-103.
- Grimwade D, et al. Blood. 2010;116(3):354-365.
- Litzow MR. Haematologica. 2020;105(6):1475-77.
- Rao S. Blood. 2020;136(21):2361-2362.
- Zhen T, et al. Blood. 2020;136(21):2373-2385.
- 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, Van Dyke DL, Stupca PJ, et al. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16-23

Glosario de símbolos

ISO 15223-1:2016 - «Productos sanitarios. Símbolos que utilizar en las etiquetas, el etiquetado y la información a suministrar. Parte 1: Requisitos generales» (© International Organization for Standardization)		
Símbolo	Título	Referencia(s)
	es: Fabricante	5.1.1.
	es: Representante autorizado en la Comunidad 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: Manténgase 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: Precaución	5.4.4.
	es: Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>	5.5.1.
	es: Contiene suficiente para <n> ensayos	5.5.5
Símbolos de la EDMA para reactivos y componentes de IVD, revisión de octubre de 2009		
Símbolo	Título	Referencia(s)
	es: Contenido (o contiene)	N/A

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

Teléfono: +44 (0)1223 294048
Fax: +44 (0)1223 294986
Correo electrónico: probes@cytoCELL.com
Página web: www.ogt.com



Sysmex Europe GmbH
Bornbarch 1
22848 Norderstedt
ALEMANIA

Teléfono: +49 40 527260
Página web: www.sysmex-europe.com

Historial de versiones de las instrucciones de uso

V001.00 2021-10-01: Creación de instrucciones de uso para nuevo producto