A Sysmex Group Company

CytoCell

Instrucciones de uso (IFU)

REF.: CE-LPH 026-S / CE-LPH 026

AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe

CE 2797 IVD

SOLO PARA USO PROFESIONAL

ogt.com/IFU

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

Uso previsto

CytoCell® AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) 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 21q22.1 del cromosoma 21 y la región 8q21.3 del cromosoma 8 en suspensiones de células de origen hematológico fijadas en solución fijadora de Carnoy (3:1 metanol/ácido acético) de pacientes con sospecha o diagnóstico confirmado de leucemia mielógena aguda (LMA).

Indicaciones de uso

Este dispositivo 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 *AML1::ETO (RUNX1::RUNX1T1)* resultaría relevante para el tratamiento clínico.

Limitaciones

Este producto se ha diseñado para detectar reordenamientos mediante valores críticos en la región cubierta por los clones rojo y verde de este conjunto de sonda, en la que se incluyen las regiones *AML1* y *ETO* (*RUNX1* y *RUNX1T1*). Es posible que con este dispositivo no se detecten valores críticos fuera de esta región ni variantes de los reordenamientos contenidas en su totalidad dentro de la misma.
El dispositivo no se ha concebido para: su uso como única prueba de diagnóstico, su uso como prueba de diagnóstico complementaria, como prueba prenatal, como cribado de poblaciones ni para llevar a cabo pruebas en uno mismo o con el paciente presente.
Este dispositivo no se ha validado en tipos de muestras, tipos de enfermedades ni finalidades que no sean las que se describen en el uso previsto.
Se ha concebido como prueba complementaria de otras pruebas diagnósticas de laboratorio, y no se deben poner en práctica las opciones de tratamiento únicamente basándose en el resultado de la prueba FISH.
La interpretación de los resultados de FISH y la elaboración de informes al respecto debe llevarlas a cabo el personal debidamente cualificado, debe ser coherente con las normativas de la práctica profesional y es necesario que se tengan en cuenta los resultados de otras pruebas pertinentes, así como otra información clínica y de diagnóstico.
El dispositivo está destinado exclusivamente para uso profesional en laboratorio.
No respetar el protocolo puede afectar al rendimiento de la prueba y dar lugar a resultados falsos positivos y negativos.

Principios de la prueba

La hibridación *in situ* fluorescente (FISH) es un método que permite la detección de secuencias de ADN en los cromosomas de la metafase o en los núcleos de la interfase de muestras citogenéticas fijadas. Este método emplea sondas de ADN que se hibridan con cromosomas completos o secuencias sencillas únicas, y sirve como prueba complementaria de gran utilidad al análisis citogenético con bandas G. El método se puede aplicar ahora como herramienta esencial de investigación en el análisis cromosómico prenatal, hematológico y de tumores sólidos. El ADN diana, tras la fijación y desnaturalización, queda disponible para su alineamiento con una sonda de ADN con marcado fluorescente y desnaturalizada de forma parecida que cuente con la secuencia complementaria. Después de la hibridación, se elimina la sonda de ADN que no se ha fijado y cuya fijación no es específica y se lleva a cabo una contratinción del ADN para su visualización. La microscopía de fluorescencia permite entonces la visualización de la sonda hibridada con el material diana.

Información sobre la sonda

El gen *RUNX1* (*factor de transcripción 1 de la familia RUNX*), que se encuentra en 21q22.1, se une al gen *RUNX1T1* (RUNX1), ubicado en la localización (Ensembl) 8q21.3, en la translocación t(8;21)(q21.3;q22.1), observada sobre todo en los pacientes con leucemia mielógena aguda (LMA) de subtipo FAB (clasificación franco-anglo-estadounidense) M2.

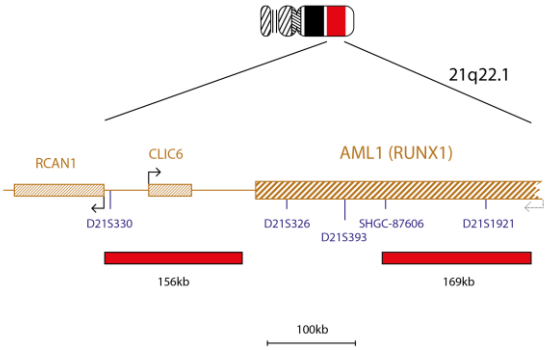
Las LMA con una fusión *RUNX1::RUNX1T1* que derive en una translocación t(8;21)(q21.3;q22.1) forman una entidad patológica reconocida según la clasificación de las neoplasias mieloides y las leucemias agudas de la Organización Mundial de la Salud (OMS)[1]. La translocación se observa en el 10-22 % de los pacientes con LMA de subtipo FAB M2 y en el 5-10 % de todos los casos de LMA, especialmente en niños y adultos jóvenes[2] y es un indicador de pronóstico favorable[3,4,5]. El valor crítico t(8;21) se registra principalmente en el intrón entre los exones 5 y 6 inmediatamente antes del dominio de transactivación y la proteína de fusión generada contiene el dominio de unión al ADN del gen RUNX1 unido al factor de transcripción RUNX1T1[2].

Además de la translocación recíproca t(8;21) que da lugar a la fusión *RUNX1::RUNX1T1*, se han documentado otras variantes de translocación. Esas otras variedades de reordenamiento pueden ser crípticas y pasar fácilmente desapercibidas en el bandeo cromosómico de Giemsa; sin embargo, la técnica FISH es capaz de detectar la presencia de esos reordenamientos[2].

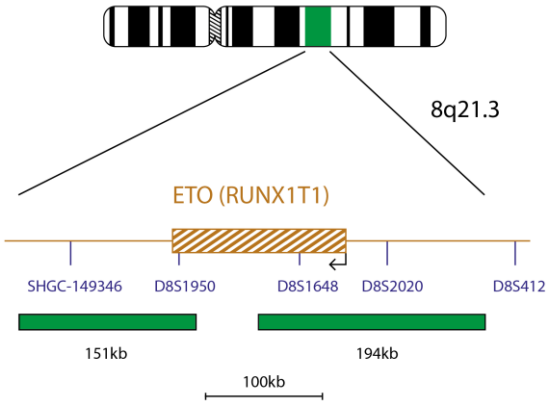
Especificación de la sonda

AML1, 21q22.1, en rojo
ETO, 8q21.3, Verde

CMP-H004 v006.00



CMP-H005 v005.00



El componente AML1 está formado por una sonda de 156 kb, marcada en rojo y centromérica al gen *AML1* (*RUNX1*), que abarca el gen *CLIC6*, y por una sonda de 169 kb que cubre una porción del gen *AML1* (*RUNX1*) que incluye los marcadores SHGC-87606 y D21S1921. El componente ETO (RUNX1T1), marcado en verde, contiene una sonda de 151 kb que cubre la porción centromérica del gen así como la región flanqueante y una sonda de 194 kb que cubre la porción telomérica del gen y la región flanqueante.

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 (< 65 % de formamida; < 20 mg de sulfato de dextrano; < 10 % de citrato de sodio salino [SSC] a 20x) y vienen listas para su uso.

Contratinción: 150 µl en cada vial (15 pruebas)
La tinción de contraste es DAPI Antifade ES (0,125 µg/ml DAPI [4,6-diamidino-2-fenilindol] en medio de fijación basado en glicerol).

Advertencias y precauciones

1. Destinado a su uso en diagnóstico *in vitro*. Exclusivamente para uso profesional en laboratorio.
2. Los fijadores de la sonda contienen formamida, un teratógeno; no inhale los gases ni permita que se ponga en contacto con la piel. Manipule el contenido con precaución; lleve siempre puestos los guantes y la bata de laboratorio.
3. Manipule el contenido de DAPI con precaución; lleve siempre puestos los guantes y la bata de laboratorio.
4. No utilice los viales si están dañados o su integridad se ha puesto en riesgo de cualquier modo.
5. Cumpla con las normas nacionales relativas a la eliminación de residuos y con las recomendaciones de la ficha de datos de seguridad para eliminar de forma segura este producto. Esta instrucción también es pertinente si el contenido del kit de la prueba está dañado.
6. Elimine todos los reactivos usados y cualquier otro material desechable contaminado según los procedimientos vigentes para residuos infecciosos o potencialmente infecciosos. El laboratorio es el responsable de la manipulación de los residuos sólidos y líquidos según su naturaleza y nivel de peligrosidad, así como de su tratamiento y eliminación (ya sea por cuenta propia o a través de terceros) de acuerdo con la normativa vigente.
7. Los usuarios deben ser capaces de distinguir los colores rojo, verde y azul.
8. No respetar el protocolo o los reactivos descritos puede afectar al rendimiento de la prueba y dar lugar a resultados falsos positivos y negativos.
9. La sonda no se debe diluir ni mezclar con otras sondas.
10. Si no se utilizan 10 µl de la sonda durante el paso previo a la desnaturalización del protocolo, el rendimiento se puede ver afectado y se pueden obtener resultados falsos positivos o negativos.
11. Todos los productos se deben validar antes de utilizarlos.
12. Los controles internos se deben llevar a cabo con poblaciones celulares intactas en las muestras de la prueba.

Definiciones de temperatura

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

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 FISH, la tinción de contraste DAPI Antifade ES y la solución de hibridación conservan la estabilidad a los largo de los siguientes ciclos de congelación y descongelación que experimentan durante su uso rutinario (en el que un ciclo consta de la retirada del vial del refrigerador y su reintroducción): 5 ciclos en el caso del vial de 50 µl (5 pruebas) de sonda FISH; 10 ciclos en el caso del vial de 100 µl (10 pruebas) de sonda FISH; y 15 ciclos en el caso del vial de 150 µl (15 pruebas) de tinción de contraste. La exposición a la luz se debe reducir al máximo y se debe evitar en la medida de lo posible. Guarde los componentes en el recipiente protegido frente a la luz que se suministra. Es posible que el rendimiento de los componentes usados y guardados en condiciones diferentes a las que se describen en el etiquetado no sea el previsto y puede afectar de forma negativa a los resultados del ensayo. Se deben tomar las precauciones necesarias para limitar su exposición a los cambios de iluminación y temperatura.

Equipo y materiales necesarios pero no suministrados

Se deben utilizar equipos calibrados:

1. Placa térmica (con una placa sólida y un control de temperatura preciso con un máximo de 80 °C)
2. Micropipetas y puntas de volumen variable calibradas de entre 1 µl y 200 µl
3. Baños de agua con control de temperatura preciso entre 37 °C y 72 °C
4. Tubos de microcentrífuga (0,5 ml)
5. Microscopio de fluorescencia (consulte la sección en materia de Recomendaciones sobre microscopios de fluorescencia)
6. Microscopio de contraste de fases
7. Jarras de Coplin limpias de plástico, cerámica o vidrio resistente al calor
8. Fórceps
9. Medidor de pH calibrado (o tiras indicadoras del pH capaces de medir un pH de entre 6,5 y 8,0)
10. Recipiente humidificado
11. Aceite de inmersión para lentes de microscopio de calidad de fluorescencia
12. Centrífuga de sobremesa
13. Portaobjetos para microscopio
14. Cubreobjetos de 24 x 24 mm
15. Cronómetro
16. Incubadora a 37 °C
17. Solución adhesiva de caucho
18. Mezclador vórtex
19. Cilindros graduados
20. Agitador magnético
21. Termómetro calibrado

Equipo opcional no suministrado

1. Cámara de secado de citogenética

Reactivos necesarios pero no suministrados

1. Solución de citrato de sodio salino (SSC) a 20x
2. Etanol al 100 %
3. Tween-20
4. Hidróxido sódico (NaOH) 1 M
5. Ácido clorhídrico (HCl) 1 M
6. 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 juego de sonda se excitan y emiten en las siguientes longitudes de onda:

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

Compruebe que se han 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.

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

Preparación de las muestras

Este kit se ha diseñado para su uso con suspensiones de células de origen hematológico fijadas en solución de Carnoy (metanol y ácido acético en proporción 3:1) de pacientes con sospecha o diagnóstico confirmado de leucemia mielógena aguda (LMA) y que se hayan preparado de acuerdo con las directrices del laboratorio o de la institución correspondientes. Prepare las muestras secadas al aire en portaobjetos para microscopio según los procedimientos normativos de citogenética. El manual de AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* contiene recomendaciones en cuanto a la recogida de muestras, su cultivo, su extracción y su colocación en portaobjetos[6].

Preparación de soluciones

Soluciones de etanol

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

- Etanol al 70 %: 7 partes de etanol al 100 % y 3 partes de agua purificada
- Etanol al 85 %: 8,5 partes de etanol al 100 % y 1,5 partes de agua purificada

Conserve las soluciones durante un plazo máximo de 6 meses a temperatura ambiente en un recipiente cerrado herméticamente.

Solución 2xSSC

Diluya 1 parte de solución 20xSSC en 9 partes de agua purificada y mezcle minuciosamente. Compruebe el pH y ajústelo a 7,0 mediante NaOH o HCl si fuera necesario. Conserve la solución durante un plazo máximo de 4 semanas a temperatura ambiente en un recipiente cerrado herméticamente.

Solución 0,4xSSC

Diluya 1 parte de solución 20xSSC en 49 partes de agua purificada y mezcle minuciosamente. Compruebe el pH y ajústelo a 7,0 mediante NaOH o HCl si fuera necesario. Conserve la solución durante un plazo máximo de 4 semanas a temperatura ambiente en un recipiente cerrado herméticamente.

Solución 2xSSC, 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 minuciosamente. Compruebe el pH y ajústelo a 7,0 mediante NaOH o HCl si fuera necesario. Conserve la solución durante un plazo máximo de 4 semanas a temperatura ambiente en un recipiente cerrado herméticamente.

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. Coloque la muestra celular en un portaobjetos de vidrio para microscopio. Deje que se seque. (**Opcional si se emplea una cámara de secado de citogenética**: La cámara debe estar funcionando a una temperatura aproximada de 25 °C y un 50 % de humedad para que la colocación 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).
2. Sumerja el portaobjetos en 2xSSC durante 2 minutos a temperatura ambiente (TA) sin agitarlo.
3. Deshidrátelo mediante series de baños de etanol (al 70 %, al 85 % y al 100 %) con una duración de 2 minutos cada uno a TA.
4. Deje que se seque.

Paso previo a la desnaturalización

5. Saque la sonda del congelador y deje que alcance la TA. Centrifugue los tubos brevemente antes de usarlos.
6. Compruebe que la solución de la sonda se ha mezclado uniformemente con una pipeta.
7. Extraiga 10 µl de sonda por cada prueba y transfiérala a un tubo de microcentrífuga. Vuelva a poner el resto de la sonda de inmediato en el congelador.
8. Coloque la sonda y el portaobjetos con la muestra en una placa térmica a 37 °C (+/- 1 °C) para precalentarla durante 5 minutos.
9. Coloque 10 µl de la mezcla de la sonda en la muestra celular y aplique con cuidado el cubreobjetos. Séllelo con solución adhesiva de caucho y deje que se seque completamente la solución adhesiva.

Desnaturalización

10. 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

11. 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

12. Saque el DAPI del congelador y deje que alcance la TA.
13. Retire el cubreobjetos y todos los restos de solución adhesiva con cuidado.
14. Sumerja el portaobjetos en solución 0,4xSSC (a pH 7,0) a 72 °C (+/- 1 °C) durante 2 minutos sin agitarlo.
15. Escurra el portaobjetos y sumérjalo en solución Tween-20 al 0,05 %, 2xSSC a TA (pH de 7,0) durante 30 segundos sin agitarlo.
16. Escurra el portaobjetos y añada 10 µl de montante de fluorescencia DAPI en cada muestra.
17. Aplique un cubreobjetos, elimine las burbujas y deje que se desarrolle el color en la oscuridad durante 10 minutos.
18. Visualice el portaobjetos con un microscopios de fluorescencia (consulte **Recomendaciones sobre microscopios de fluorescencia**).

Recomendaciones sobre el procedimiento

1. El horneado o el curado de los portaobjetos puede reducir la señal de fluorescencia.
2. Las condiciones de hibridación se pueden ver afectadas negativamente por el uso de reactivos diferentes de aquellos que suministra o recomienda Cytocell Ltd.
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 la señal.
5. Una desnaturalización incompleta puede ocasionar falta de señal y una desnaturalización excesiva también puede redundar en 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

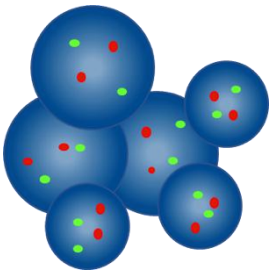
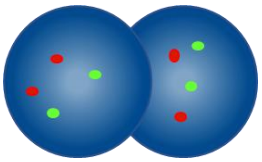
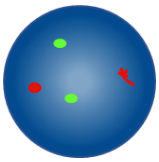
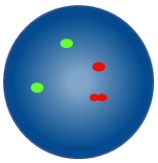
Evaluación de la calidad del portaobjetos

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 > 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

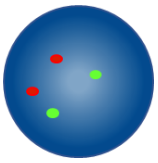
Directrices para el análisis

- Dos analistas deberían 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 para conocer las normativas nacionales
- 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 contengan acumulaciones, ni tampoco aquellos núcleos que se encuentren cubiertos por residuos citoplasmáticos o contengan un elevado grado de autofluorescencia
- Se deben evitar las zonas en las que hay 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 tocan; cuando la distancia entre ellas no sea superior a dos anchuras de señal o en caso de que haya un hilo débil que conecte dos señales
- Se habrán de descartar todas aquellas células cuyo análisis plantee dudas

Directrices para el análisis	
	No cuente los núcleos que se encuentren tan cerca que no sea posible establecer los límites entre ellos
	No cuente los núcleos que se solapen: todas las zonas de ambos núcleos no son visibles
	Cuente dos señales rojas y dos señales verdes: si 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

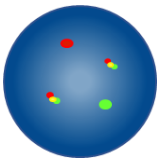
Resultados previstos

Patrón de señal normal previsto



En una célula normal, está previsto que se observen dos señales rojas y dos verdes (2R2V).

Patrón de señal anómalo previsto



En una célula con una translocación t(8;21)(q21.3;q22.12), el patrón de señal previsto es de una señal roja, una señal verde y dos fusiones (1R1V2F).

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

Interferencias pertinentes conocidas/sustancias interferentes

Interferencias pertinentes conocidas/sustancias interferentes.

Reactividad cruzada conocida

No se ha detectado ninguna reactividad cruzada.

Elaboración de informes sobre incidentes graves

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

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

Contacto de vigilancia del fabricante: vigilance@ogt.com

En el caso de las autoridades competentes nacionales de la UE, puede encontrar una lista de los puntos de contacto de vigilancia en: https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Características específicas de rendimiento

Especificidad analítica

La especificidad analítica 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 400 locus de interés. Se analizaron dos loci cromosómicos en cada una de las 20 células en metafase de 5 muestras, de los que se obtuvieron 400 puntos de datos. 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.

Se calculó la especificidad analítica de cada sonda del kit mediante la división del número de señales FISH de cromosomas en metafase que hibridaron con el locus correcto entre el número total de señales FISH de cromosomas en metafase hibridadas y multiplicando el resultado por 100 para expresarlo como porcentaje y con un intervalo de confianza del 95 %.

Tabla 1. Especificidad analítica de AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe

Sonda	Diana	Número de cromosomas en metafase hibridados	Número de loci hibridados correctamente	Especificidad analítica (%)	Intervalo de confianza del 95 % (%)
AML1, en rojo	21q22.1	200	200	100	98,12-100
ETO, verde	8q21.3	200	200	100	98,12-100

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica es el porcentaje de células en interfase que se pueden puntuar con el patrón de señal normal previsto. Se analizaron 200 células en interfase como mínimo por cada una de las 25 suspensiones fijadas de células de médula ósea en fijador de Carnoy y cuyos cariotipos se consideran normales, que dan como resultado un mínimo de 5000 núcleos con puntuación asignada por cada tipo de muestra. Los datos de sensibilidad se analizaron en función del porcentaje de células que mostraron un patrón de señal normal previsto y se expresaron en porcentaje con un intervalo de confianza del 95 %.

Tabla 2. Sensibilidad analítica de AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe

Número de células con patrones de señales previstos	Número total de células con señales que se pueden puntuar	Sensibilidad analítica (%)	Intervalo de confianza del 95 % (%)
4965	5000	99,3	99,02, 99,58

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 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.

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

Tabla 3. Caracterización de los valores de corte normales de AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe

Patrón de señales anómalas	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 (%)
1R1V2F	1290	200	1	2,3

Los laboratorios deben comprobar los valores de corte comparándolos con sus propios datos[7,8].

Reproducibilidad

Se llevaron a cabo estudios de reproducibilidad para determinar:

- la reproducibilidad intradía en 3 laboratorios (entre distintas muestras)
- la reproducibilidad entre días en 3 laboratorios (entre distintos días)
- la reproducibilidad entre laboratorios en 3 laboratorios (entre distintos laboratorios)
- la reproducibilidad entre lotes en un solo laboratorio (entre distintos lotes)

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 de AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe

Criterios del	estudio	Resultado
Intradiaria, entre días y entre laboratorios	90 % de concordancia con la clase negativa	100 %
	95 % de concordancia con la clase altamente positiva	100 %
Entre lotes	90 % de concordancia con la clase negativa	100 %
	95 % de concordancia con la clase altamente positiva	100 %

Rendimiento clínico

Para garantizar que AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation Dual Fusion Probe detecta las reorganizaciones previstas, se definió el rendimiento clínico mediante cinco estudios de muestras representativas de la población prevista para el producto: material residual fijado en metanol y ácido acético en una proporción de 3:1. Los estudios contaron con un conjunto combinado de seiscientas treinta y cuatro (634) muestras con un total de treinta y cinco (35) muestras positivas y de quinientas noventa y nueve (599) muestras negativas en total en todos los laboratorios. La concordancia y discordancia de los resultados cumplió con los criterios de aceptación del estudio.

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

Tabla 5. Rendimiento clínico de AML1/ETO (RUNX1/RUNX1T1) Translocation, Dual Fusion Probe

Variable	Resultado
Sensibilidad clínica (índice de positivo verdadero, IPV)*	99,74 %
Especificidad clínica (índice de negativo verdadero, INV)*	99,90 %
Índice de falso positivo (IFP) = 1: especificidad*	0,10 %

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

El resumen de seguridad y rendimiento se pondrá a disposición del público a través de la base de datos europea sobre productos sanitarios (Eudamed), donde está vinculado al UDI-DI básico.
URL de Eudamed: https://ec.europa.eu/tools/eudamed
UDI-DI básico: 50558449LPH026JH

Si Eudamed no funciona en su totalidad, el resumen de seguridad y rendimiento se puede poner a disposición de los usuarios a través de una solicitud que deberá enviarse por correo electrónico a SSP@ogt.com.

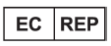
Información adicional

Para obtener información adicional sobre el producto, póngase en contacto con el departamento de asistencia técnica de CytoCell.
Tel.: +44 (0) 1223 294048
Correo electrónico: techsupport@cytocell.com
Sitio web: www.ogt.com

Referencias

1. Swerdlow, *et al.* (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France, 4th edition, IARC,2017
2. Reikvam H, *et a*l. J Biomed Biotechnol. 2011; 2011:104631.
3. Grimwade, *et al*. Blood. 2001;98(5):1312-1320.
4. Harrison, *et al*. Journal of Clinical Oncology. 2010;28(16):2674-2681.
5. Grimwade, *et al*. Blood. 2010;116(3):354-365.
6. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
7. 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.
8. Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16–23.

Glosario de símbolos

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

Patentes y marcas comerciales
CytoCell es una marca registrada de Cytocell Limited.

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

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

Sysmex Europe SE
Bornbarch 1
22848 Norderstedt
ALEMANIA

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

Historial de versiones de las Instrucciones de uso
V001.00 2023-01-11: Nuevas instrucciones de uso (IFU) según el Reglamento (UE) 2017/746
V002 2025-08-29: Eliminación de la marca UKCA.