A Sysmex Group Company

CytoCell

Instrucciones de uso (IFU)

REF.: CE-LPH 007-S / CE-LPH 007

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

Indicaciones 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 *BCR::ABL1* resultaría relevante para el tratamiento clínico.

Limitaciones
Este producto está diseñado para detectar reordenamientos mediante valores críticos en la región cubierta por los clones rojo y verde de este conjunto de sondas, en la que se incluyen las regiones *BCR* y *ABL1*. 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 *BCR* (*activador BCR de RhoGEF y GTPase*) se encuentra en 22q11.2 y el gen *ABL1* (*protooncogén ABL 1, tirosina·cinasa citoplásmica*) está ubicado en 9q34.1. La translocación entre estos dos genes da lugar al gen de fusión *BCR::ABL1* y produce el cromosoma Filadelfia, que constituye el resultado visible de esta translocación.

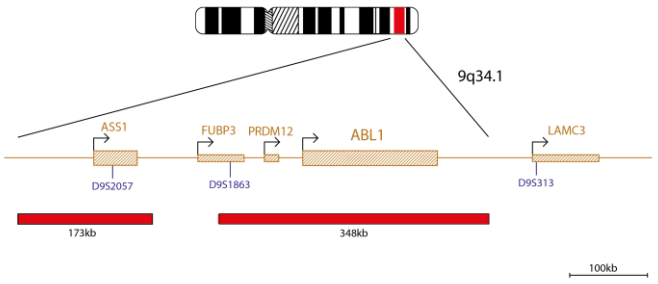
La presencia de la fusión *BCR::ABL1* posee importantes implicaciones diagnósticas y pronósticas en diversos trastornos hematológicos.

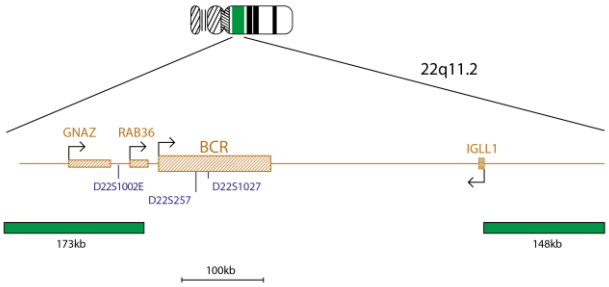
La translocación t(9;22)(q34.1;q11.2) es el rasgo característico de la LMC y se observa en aproximadamente el 90-95 % de los casos[1]. El resto de casos presenta una translocación diferente o un reordenamiento críptico en las bandas 9q34.1 y 22q11.2 que no es detectable con las técnicas citogenéticas convencionales[1].

La fusión *BCR::ABL1* también puede hallarse en el 25 % de los adultos y el 2-4 % de los niños con LLA[1]. Se ha demostrado que la presencia de la fusión *BCR::ABL1* es indicativa de un mal pronóstico en la LLA tanto en adultos como en niños[1,2]. Por tanto, la detección de esta anomalía es de capital importancia para la estratificación del riesgo y afectará a las decisiones sobre el tratamiento y el manejo de la enfermedad[2]. En un número reducido de casos de LLA, la translocación no genera un cromosoma Filadelfia citogenéticamente visible. En estos casos, la técnica FISH es esencial para resaltar el gen de fusión[3].

Este reordenamiento también se observa en casos muy poco frecuentes de LMA. La LMA con cromosoma Filadelfia se caracteriza por su resistencia a la quimioterapia estándar convencional y un mal pronóstico[4], por lo que la identificación rápida y precisa de esta anomalía cromosómica es fundamental.

Especificación de la sonda
ABL1, 9q34.1 en rojo
BCR, 22q11.2 en verde





El conjunto de sondas rojas contiene una sonda de 348 kb que abarca el gen *ABL1* y una sonda de 173 kb que abarca el gen *ASS1*. El conjunto de sondas verdes contiene una sonda centromérica de 173 kb del gen *BCR* que abarca los genes *GNAZ* y *RAB36*. Una segunda sonda verde cubre una región telomérica de 148 kb del gen *BCR* que abarca parte del gen *IGLL1*.

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) 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[5].

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

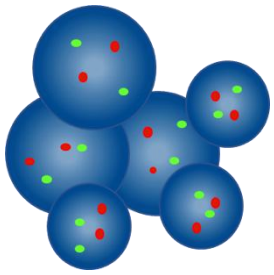
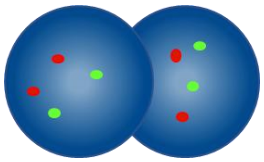
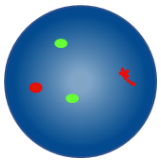
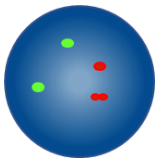
Evaluación de la calidad del portaobjetos

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

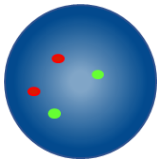
Directrices para el análisis

- 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
- Si, al analizar las sondas de ruptura de dos colores, se observa una separación entre las señales roja y verde no superior al ancho de 2 señales, se contabilizará como una señal reordenada o fusionada
- Si, al analizar las sondas de translocación de tres colores, se observa una separación entre cualquiera de las 3 señales (roja, verde, azul) no superior al ancho de 2 señales, se contabilizará como una señal sin reordenamiento/fusión
- 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

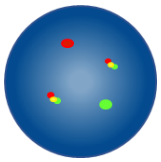
Resultados previstos

Patrón de señal normal previsto



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

Patrones previstos de señales anómalas



En una célula con una translocación t(9;22)(q34.1;q11.2), 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

La sonda verde de BCR puede presentar una hibridación cruzada en el cromosoma 7 en 7q11.2.

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 se define como el porcentaje de señales que hibridan en el locus correcto y en ninguna otra ubicación. Se analizaron cuatro loci cromosómicos en cada una de las 20 células en metafase de cinco muestras, de los que se obtuvieron 400 puntos de datos. Se trazó la ubicación de cada sonda hibridada y se registró la cantidad de señales FISH de cromosomas en metafase que hibridaron con el locus correcto.

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 la sonda BCR/ABL (ABL1) Translocation, Dual Fusion Probe

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

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 100 células en interfase como mínimo por cada una de las 25 suspensiones fijadas de células de médula ósea y de las 25 suspensiones fijadas de células de sangre periférica, que se consideraron negativas en el reordenamiento *BCR::ABL* y que dieron como resultado un mínimo de 2500 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 la sonda BCR/ABL (ABL1) Translocation, Dual Fusion Probe

Tipo de muestra	Criterios de sensibilidad	Resultado de sensibilidad
Médula ósea	> 95 %	97,60 % (96,78 %-98,41 %)
Sangre periférica	> 95 %	98,73 % (97,97 %-99,50 %)

Caracterización de los valores de corte normales

El valor de corte normal se define como el porcentaje de células que presenta un patrón de señal falso positivo por el que un individuo se consideraría normal y no sería coherente con un diagnóstico clínico. Se analizaron 100 células en interfase como mínimo por cada una de las 25 suspensiones fijadas de células de médula ósea y de las 25 suspensiones fijadas de células de sangre periférica, que se consideraron negativas en el reordenamiento *BCR::ABL* y que dieron como resultado un mínimo de 2500 núcleos con puntuación asignada por cada tipo de muestra.

El valor de corte se estableció mediante la función β inversa (BETAINV) de MS Excel. Se calculó como el porcentaje de células en interfase que presentaron un patrón de 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 la sonda BCR/ABL (ABL1) Translocation, Dual Fusion Probe

Tipo de muestra	Resultado del corte
Médula ósea	2,39 %
Sangre periférica	2,55 %

Los laboratorios deben comprobar los valores de corte comparándolos con sus propios datos[6,7].

Precisión

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

Se utilizaron dos (2) muestras para la evaluación de la precisión del producto: una muestra de médula ósea negativa y una muestra de médula ósea con positividad baja. La muestra de médula ósea con positividad baja se elaboró mediante una proporción de muestra de médula ósea negativa en la que se inoculó una muestra de médula ósea con positividad conocida con el objetivo de crear una muestra con positividad baja en el intervalo de entre 2 y 4 veces el valor de corte y que sirvió para cuestionar la sonda en torno al valor de corte establecido.

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

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

Variable	Tipo de muestra	Concordancia
Precisión intradía y entre días	Médula ósea negativa	100 %
	Médula ósea con positividad baja	86,7 %
De un lote a otro lote intradía y entre días	Médula ósea negativa	100 %
	Médula ósea con positividad baja	100 %

Rendimiento clínico

Para garantizar que el producto detecta las reorganizaciones previstas, se definió el rendimiento clínico mediante dos 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. El tamaño del conjunto de muestras fue de 947 muestras, con una población de 84 muestras de médula ósea y 155 muestras de sangre periférica positivas y 697 muestras de médula ósea y 11 de sangre periférica negativas. 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 la sonda BCR/ABL (ABL1) Translocation, Dual Fusion Probe

Variable	Resultado
Sensibilidad clínica (índice de positivo verdadero, IPV)	98,93 %
Especificidad clínica (índice de negativo verdadero, INV)	99,63 %
Índice de falso positivo (IFP) = 1: especificidad	0,37 %

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: 50558449LPH007JD

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.,* editors, WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Lyon,Francia, IARC:2008
2. Harrison *et al*., BJH 2010;151:132-142
3. Van Rhee *et al*., Br j Haematol 1995;90:225-8
4. Soupir *et al*., Am J Clin Pathol 2007;127:642-650
5. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
6. Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
7. Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *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
EC REP	**es:** Representante autorizado en la Comunidad Europea/Unión Europea	5.1.2
	es: Fecha de caducidad	5.1.4
LOT	**es**: Número de lote	5.1.5
REF	**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
IVD	**es:** Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*	5.5.1
Σ	**es:** Contiene cantidad suficiente para <n> pruebas	5.5.5
UDI	**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)**
CONT	**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
Correo electrónico: probes@cytocell.com
Sitio web: www.ogt.com

EC REP

Sysmex Europe SE
Deelböge 19 D
22297 Hamburg
ALEMANIA

Sitio web: www.sysmex-europe.com

Historial de versiones de las Instrucciones de uso
V001 2023-01-11: Nuevas instrucciones de uso (IFU) según el Reglamento (UE) 2017/746
V002 2025-08-29: Eliminación de la marca UKCA
V003 2025-09-09: Actualizar la dirección del representante autorizado en la UE. Eliminar el número de teléfono del representante autorizado en la UE. Eliminar el número de fax de OGT.