



A Sysmex Group Company



Instrucciones de uso (IFU)

REF.: CE-LPH 022-S / CE-LPH 022

CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe



SOLO PARA USO PROFESIONAL



ogt.com/IFU

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

Uso previsto

CytoCell® CBFβ (CBFB)/MYH11 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 las regiones 16p13.1 y 16q22 del cromosoma 16 en suspensiones de células de origen hematológico fijadas en solución de Carnoy (metanol y ácido acético en proporción 3:1) 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 la translocación *CBFB::MYH11* resulte relevante para el tratamiento clínico.

Limitaciones

Este producto está diseñado para detectar reordenamientos con puntos de rotura en la región cubierta por los clones rojo y verde de este conjunto de sondas, en la que se incluyen las regiones *CBFB* y *MYH11*. Es posible que con este producto no se detecten puntos de rotura fuera de esta región ni variantes de reordenamiento contenidas por completo en ella.

El producto no se ha concebido para su uso como única prueba diagnóstica, como prueba diagnóstica para selección terapéutica, como prueba prenatal o como cribado de poblaciones, ni para llevar a cabo pruebas en uno mismo o con el paciente presente.

Este producto no se ha validado para tipos de muestras, tipos de enfermedades ni finalidades distintos de los descritos 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 personal debidamente cualificado y deben ser coherentes con las normas de práctica profesional y tener en cuenta los resultados de otras pruebas pertinentes y el resto de la información clínica y de diagnóstico.

El producto está destinado exclusivamente a su uso profesional en laboratorio. Si no se respeta el protocolo, el resultado se podría ver afectado y se podrían producir falsos positivos o falsos 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 hibridación con

una sonda de ADN con marcado fluorescente y desnaturalizada de forma parecida que cuente con una secuencia complementaria. Después de la hibridación, se elimina la sonda de ADN que no se ha fijado y cuya fijación no es específica y se lleva a cabo una contratinción del ADN para su visualización. La microscopía de fluorescencia permite entonces la visualización de la sonda hibridada con el material diana.

Información sobre la sonda

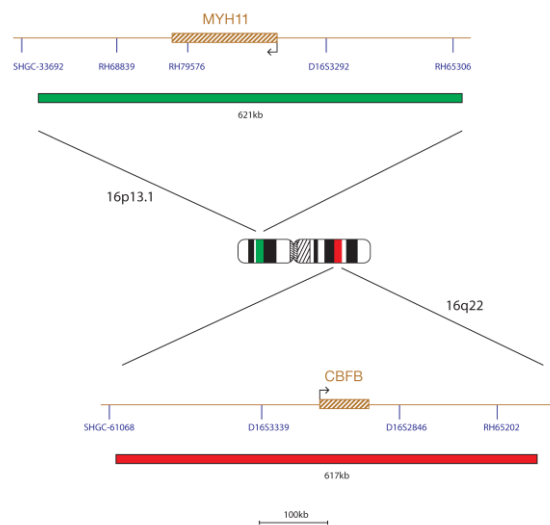
El gen *CBFB* (subunidad beta del factor de transcripción de unión nuclear) está localizado en la región 16q22, mientras que el gen *MYH11* (cadena pesada de la miosina 11) se encuentra en la región 16p13.1. La inversión *inv(16)(p13.1q22)* y la translocación *t(16;16)(p13.1;q22)* dan lugar al gen de fusión *CBFB::MYH11*. La leucemia mielógena aguda con el gen de fusión *CBFB::MYH11* está considerada como una entidad patológica según la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS)¹. Este tipo de LMA comprende entre un 5 y un 8 % de los casos en pacientes adultos jóvenes y tiene una incidencia menor en los adultos de mayor edad¹. La inversión *inv(16)(p13.1q22)* es la alteración citogenética más habitual y se detecta en aproximadamente el 95 % de los pacientes con *CBFB::MYH11*¹. El pronóstico de los pacientes que sufren LMA con *CBFB::MYH11* es favorable, con índices de supervivencia a largo plazo de alrededor del 50 % en adultos^{1,2}.

Especificación de la sonda

CBFB, 16q22, en rojo

MYH11, 16p13.1, en verde

CMP-H077 v005.00



La sonda CBFB, marcada en rojo, cubre una región de 617 kb dentro de 16q22 e incluye el gen *CBFB*. La sonda MYH11, marcada en verde, cubre una región de 621 kb dentro de 16p13.1 e incluye el gen *MYH11*.

Materiales suministrados

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

Las sondas se suministran premezcladas en una solución de hibridación (<65 % de formamida; <20 mg de sulfato de dextrano; y <10 % de citrato de sodio salino (SSC) 20x) y vienen listas para su uso.

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

La contratinción es DAPI Antifade ES (0,125 µg/mL de DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol) en un 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. Las mezclas de sondas contienen formamida, un teratógeno; no inhale los vapores ni permita que entren en contacto con la piel. Manipúlelas con precaución; utilice guantes y una bata de laboratorio.
3. Manipule el DAPI con precaución; utilice guantes y una 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, azul y verde.
8. Si no se respetan el protocolo y los reactivos indicados, el resultado se podría ver afectado y se podrían producir falsos positivos o falsos 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 resultado se podría ver afectado y se podrían producir falsos positivos o falsos negativos.

DS555/CE-es v001/2023-11-15 (H077 v5)


Página 1 de 6

11. Todos los productos se deben validar antes de utilizarlos.
12. Los controles internos se deben llevar a cabo usando poblaciones celulares intactas en las muestras de la prueba.

Definiciones de temperatura

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

Almacenamiento y manipulación

 El kit debe conservarse en un congelador a una temperatura de entre -25 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 contratinción DAPI Antifade ES y la solución de hibridación conservan la estabilidad a lo largo de los siguientes ciclos de congelación y descongelación que experimentan durante su uso rutinario (en el que un ciclo consta de la extracción del vial del refrigerador y su posterior 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 contratinción. La exposición a la luz se debe minimizar y evitar en la medida de lo posible. Guarde los componentes en el recipiente opaco que se suministra. Es posible que el comportamiento de los componentes usados y guardados en condiciones diferentes a las que se describen en las instrucciones de uso no sea el previsto, lo que 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 hasta 80 °C)
2. Micropipetas y puntas de volumen variable calibradas de entre 1 y 200 µL
3. Baño María con control de temperatura preciso entre 37 y 72 °C
4. Tubos de microcentrífuga (0,5 mL)
5. Microscopio de fluorescencia (consulte la sección «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. Pinzas
9. Medidor de pH calibrado (o tiras indicadoras de 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. Probetas
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) 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 de plan apocromático de inmersión en aceite de 60/63x o 100x para conseguir una visualización óptima. Los fluoróforos de este conjunto de sondas se excitan y emiten en las siguientes longitudes de onda:

| Fluoróforo | Excitación _{máx.} [nm] | Emisión _{máx.} [nm] |
|------------|---------------------------------|------------------------------|
| DAPI | 364 | 454 |
| Cian | 418 | 467 |
| Verde | 495 | 521 |
| Rojo | 596 | 615 |
| Oro | 539 | 561 |
| Naranja | 551 | 572 |

Compruebe que se hayan instalado en el microscopio los filtros de emisión y excitación correspondientes que abarquen las longitudes de onda enumeradas anteriormente.

Es necesario usar un filtro de paso de banda triple de DAPI/espectro verde/espectro rojo o un filtro de paso de banda doble de espectro verde/espectro rojo para conseguir una visualización simultánea óptima de los fluoróforos verde y rojo.

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

Preparación de las muestras

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) procedentes 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 la institución correspondientes. Prepare las muestras secadas al aire en portaobjetos para microscopio según los procedimientos normativos de citogenética. La guía *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual* contiene recomendaciones en cuanto a la recogida de muestras, su cultivo, su extracción y su colocación en portaobjetos³.

Preparación de soluciones

Soluciones de etanol

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

- 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 hermético.

Solución de SSC 2x

Diluya 1 parte de solución de SSC 20x en 9 partes de agua purificada y mezcle bien. Compruebe el pH y ajústelo a 7,0 con NaOH o HCl si fuera necesario. Conserve la solución durante un plazo máximo de 4 semanas a temperatura ambiente en un recipiente hermético.

Solución de SSC 0,4x

Diluya 1 parte de solución de SSC 20x en 49 partes de agua purificada y mezcle bien. Compruebe el pH y ajústelo a 7,0 con NaOH o HCl si fuera necesario. Conserve la solución durante un plazo máximo de 4 semanas a temperatura ambiente en un recipiente hermético.

Solución de SSC 2x con Tween-20 al 0,05 %

Diluya 1 parte de solución de SSC 20x en 9 partes de agua purificada. Añada 5 µL de Tween-20 por cada 10 mL y mezcle bien. Compruebe el pH y ajústelo a 7,0 con NaOH o HCl si fuera necesario. Conserve la solución durante un plazo máximo de 4 semanas a temperatura ambiente en un recipiente hermético.

Protocolo FISH

(Nota: Asegúrese de limitar la exposición de la sonda y la contratinción 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 funcionar a una temperatura aproximada de 25 °C con un 50 % de humedad para que la preparación de las muestras celulares sea óptima. Si no dispone de una cámara de secado de citogenética, recurra de forma alternativa a una campana de extracción).
2. Sumerja el portaobjetos en solución de SSC 2x durante 2 minutos a temperatura ambiente (TA) sin agitarlo.
3. Deshidrátelo a TA en una serie de baños de etanol (al 70 %, al 85 % y al 100 %), durante 2 minutos en cada uno de ellos.
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 transfíralos a un tubo de microcentrífuga. Vuelva a introducir 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 precalentarlos durante 5 minutos.
9. Coloque 10 µL de la mezcla de la sonda en la muestra celular y aplique con cuidado un cubreobjetos. Séllelo con solución adhesiva de caucho y deje que se seque completamente la solución adhesiva.

Desnaturalización

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 opaco 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 de SSC 0,4x (a pH 7,0) a 72 °C (± 1 °C) durante 2 minutos sin agitarlo.
15. Escurra el portaobjetos y sumérjalo en solución de SSC 2x con Tween-20 al 0,05 % a TA (a pH 7,0) durante 30 segundos sin agitarlo.
16. Escurra el portaobjetos y añada 10 μ L de medio de fijación 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 microscopio de fluorescencia (consulte la sección **Recomendaciones sobre microscopios de fluorescencia**).

Recomendaciones sobre el procedimiento

1. El horneado o el curado de los portaobjetos pueden reducir la señal de fluorescencia.
2. Las condiciones de hibridación se pueden ver afectadas negativamente por el uso de reactivos diferentes de aquellos suministrados o recomendados por 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 señal.
5. Una desnaturalización incompleta puede ocasionar falta de señal y una desnaturalización excesiva también puede redundar en una unión no específica.
6. La hibridación excesiva puede dar lugar a señales adicionales o inesperadas.
7. Los usuarios deberán optimizar el protocolo para sus muestras antes de utilizar la prueba con fines diagnósticos.
8. Unas condiciones inferiores a las óptimas 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

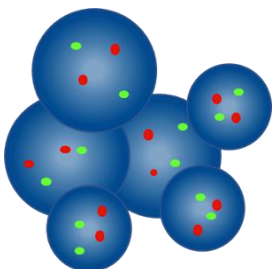
No se debe analizar el portaobjetos si:

- las señales son demasiado débiles para analizarlas en filtros únicos: para poder continuar con el análisis, las señales deben presentarse brillantes y diferenciadas, y se deben poder evaluar fácilmente;
- existe una gran cantidad de acumulaciones o superposiciones de células que impiden el análisis;
- no se ha hibridado más del 50 % de las células;
- hay un exceso de partículas fluorescentes entre las células o un haz fluorescente que interfiere con las señales; en los portaobjetos con calidad óptima, el fondo debe aparecer oscuro o negro y limpio;
- los bordes del núcleo celular no se pueden diferenciar y no se encuentran intactos.

Directrices para el análisis

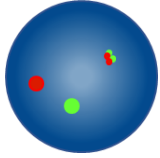
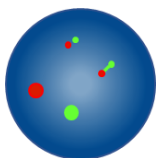
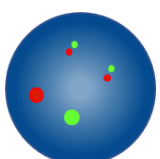
- Dos analistas deben analizar e interpretar cada una de las muestras. Se deben resolver las posibles discrepancias mediante la evaluación por parte de un tercer analista.
- Cada uno de los analistas debe contar con la cualificación correspondiente conforme a las normas reconocidas a nivel nacional.
- Cada analista debe puntuar de forma independiente 100 núcleos de cada una de las muestras. El primer analista debe comenzar el análisis desde el lateral izquierdo del portaobjetos y el segundo, desde el derecho.
- Cada uno de los analistas debe documentar los resultados en hojas independientes.
- Se deben analizar únicamente los núcleos que se encuentren intactos, y no los que se superpongan o formen parte de acumulaciones, ni tampoco aquellos núcleos que se encuentren cubiertos por residuos citoplasmáticos o presenten un elevado grado de autofluorescencia.
- Se deben evitar las zonas en las que haya un exceso de residuos citoplasmáticos o una hibridación no específica.
- La intensidad de la señal puede variar, incluso dentro del mismo núcleo. En estos casos, utilice filtros únicos o ajuste el plano focal.
- En condiciones inferiores a las óptimas, la señal puede presentarse difusa. Se debe contar una sola señal cuando dos señales del mismo color se toquen; cuando la distancia entre ellas no sea superior a dos anchos de señal; o si hay un hilo débil que conecte dos señales.
- Si tiene dudas sobre si es posible analizar una célula o no, no la analice.

Directrices para el análisis



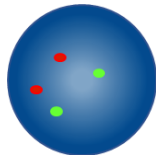
No deben contabilizarse los núcleos que se encuentren tan cerca que no sea posible establecer los límites entre ellos.

| | |
|--|--|
| | No deben contabilizarse los núcleos que se solapan; es decir, cuando toda la superficie de ambos núcleos no sea visible. |
| | Patrón de señales normal previsto (2R2V). |
| | Patrón de señales normal (2R2V): se localizan conjuntamente una señal roja y una señal verde. |
| | Patrón de señales normal (2R2V): una de las dos señales rojas es difusa. |
| | Patrón de señales normal (2R2V): la separación en una de las señales rojas es inferior al ancho de dos sondas. |
| | Patrón de señales normal (2R2V): se localizan conjuntamente una señal roja y una señal verde. |
| | Patrón de señales anómalo previsto (1R1V2F): las señales de fusión roja y verde son proporcionalmente más pequeñas. |
| | Patrón de señales anómalo previsto (1R1V2F): se localizan conjuntamente las señales de fusión. |
| | Patrón de señales anómalo previsto (1R1V2F): se localizan conjuntamente las señales de fusión. |

| | |
|---|---|
|  | Patrón de señales anómalo previsto (1R1V2F): hay dos señales de fusión próximas entre sí. |
|  | Se contabilizan como una señal roja, una señal verde y dos señales de fusión: una de las señales de fusión es difusa. |
|  | Se contabilizan como una señal roja, una señal verde y dos señales de fusión: la distancia entre la señal roja y la señal verde en las fusiones es inferior al ancho de dos sondas y las señales de fusión roja y verde son proporcionalmente más pequeñas. |

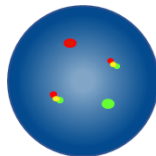
Resultados previstos

Patrón de señales normal previsto



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

Patrones de señales anómalos previstos



En una célula con una inversión inv(16)(p13.1q22) o una translocación t(16;16)(p13.1;q22), el patrón de señales previsto es de una señal roja, una señal verde y dos fusiones (1R1V2F).

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

Interferencias/Sustancias interferentes relevantes conocidas

No se conocen interferencias/sustancias interferentes relevantes.

Reactividad cruzada conocida

No se conoce ningún tipo de reactividad cruzada.

Comunicación de incidentes graves

En el caso de los pacientes, 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 producto, 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, si procede, a la autoridad nacional competente.

Contacto de vigilancia del fabricante: vigilance@ogt.com

En lo que respecta a las autoridades nacionales competentes 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 con el locus correcto, y no con otros puntos. Se analizaron dos locus cromosómicos en cada una de las veinte células en metafase de cinco muestras, de los que se obtuvieron 200 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 producto 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; el resultado se multiplicó por 100 para expresarlo como porcentaje y se proporcionó con un intervalo de confianza del 95 %.

Tabla 1. Especificidad analítica de CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe.

| Diana | Número de cromosomas en metafase hibridados | Número de locus hibridados correctamente | Especificidad analítica | Intervalo de confianza del 95 % |
|---------|---|--|-------------------------|---------------------------------|
| 16q22 | 200 | 200 | 100 % | 98,12-100 % |
| 16p13.1 | 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 señales normal previsto. Se analizaron 200 células en interfase como mínimo para cada una de las 25 muestras de médula ósea, obteniéndose puntuaciones para un mínimo de 5.000 núcleos por cada tipo de muestra. Los datos de sensibilidad se analizaron en función del porcentaje de células que mostraron el patrón de señales normal previsto y se expresaron en forma de porcentaje con un intervalo de confianza del 95 %.

Tabla 2. Sensibilidad analítica de CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe.

| Tipo de muestra | Criterios de sensibilidad | Resultado de sensibilidad |
|-----------------|---------------------------|---------------------------|
| Médula ósea | >95 % | 98,94 % (98,59-99,29 %) |

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 de falso positivo que haría que el paciente se considerara normal y que no sería coherente con un diagnóstico clínico. Se analizaron 200 células en interfase como mínimo para cada una de las 1.300 muestras de médula ósea, obteniéndose puntuaciones para un mínimo de 260.000 núcleos para 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 señales de falso positivo utilizando el límite superior de un intervalo de confianza unilateral del 95 % de la distribución binomial en una muestra normal de un paciente.

Tabla 3. Caracterización de los valores de corte normales de CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe.

| Tipo de muestra | Resultado del valor de corte |
|-----------------|------------------------------|
| Médula ósea | 2,3 % |

Los laboratorios deben verificar los valores de corte usando sus propios datos^{4,5}.

Reproducibilidad

Se llevaron a cabo estudios de reproducibilidad para determinar:

- la reproducibilidad intradiaria en 3 laboratorios (entre distintas muestras);
- la reproducibilidad interdiaria 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 en cuanto al reordenamiento; dos muestras con positividad baja con valores de una a tres veces el valor de corte; y dos muestras con positividad alta que contenían más del 45 % de células positivas en cuanto al reordenamiento). El análisis se llevó a cabo usando dos réplicas 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. Asimismo, uno de los laboratorios analizó la reproducibilidad entre lotes usando sondas procedentes de tres lotes distintos.

Los resultados se presentaron como la concordancia global con la clase negativa prevista (para las muestras negativas) y la clase positiva prevista (para las muestras positivas).

Tabla 4a. Reproducibilidad y precisión de CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe.

| Variable | Tipo de muestra | Concordancia |
|---|----------------------------------|--------------|
| Reproducibilidad intradiaria (entre distintas muestras), interdiaria (entre distintos días) y entre laboratorios (entre distintos laboratorios) | Médula ósea negativa | 100 % |
| | Médula ósea con positividad baja | 35 % |
| | Médula ósea con positividad alta | 100 % |
| Reproducibilidad entre lotes | Médula ósea negativa | 100 % |
| | Médula ósea con positividad baja | 33 % |
| | Médula ósea con positividad alta | 100 % |

Se llevó a cabo un estudio adicional de reproducibilidad para complementar los resultados con positividad baja utilizando dos muestras con diferentes niveles de positividad baja (valores de corte 2x y 4x) y dos muestras negativas a fin de determinar:

- la reproducibilidad intradiaria en un solo laboratorio (entre distintas muestras);
- la reproducibilidad interdiaria en un solo laboratorio (entre distintos días);
- la reproducibilidad entre operadores en un solo laboratorio (entre distintos operadores).

Se determinó la reproducibilidad para un lote de sondas, que se evaluó mediante dos réplicas de cada muestra y se sometió a pruebas durante cinco días no consecutivos por parte de dos operadores distintos.

Los resultados se presentaron como la concordancia global con la clase positiva prevista (para las muestras positivas).

Tabla 4b. Datos complementarios adicionales de la reproducibilidad y la precisión de CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe.

| Variable | Tipo de muestra | Concordancia |
|---|--|--------------|
| Reproducibilidad intradiaria (entre distintas muestras), interdiaria (entre distintos días) y entre operadores (entre distintos operadores) | Médula ósea con positividad baja (valor de corte 2x) | 100 % |
| | Médula ósea con positividad baja (valor de corte 4x) | 100 % |

Rendimiento clínico

Para garantizar que CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe detecta los reordenamientos previstos, se determinó el rendimiento clínico mediante cuatro (4) estudios de muestras representativas de la población prevista para el producto (material residual fijado en metanol y acético en proporción 3:1). En estos estudios se utilizaron trescientas noventa y tres (393) muestras en total, de las que veintiocho (28) eran muestras positivas y trescientas sesenta y cinco (365) eran muestras negativas. Los resultados se compararon con el estado conocido de la muestra. La concordancia y la discordancia de los resultados cumplieron 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 CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe.

| Variable | Resultado |
|--|-----------|
| Sensibilidad clínica (índice de positivos verdaderos, IPV)* | 98,76 % |
| Especificidad clínica (índice de negativos verdaderos, INV)* | 99,52 % |
| Índice de falsos positivos (IFP) = 1 – especificidad* | 0,48 % |

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

El SSP 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: 50558449LPH022J9

Si Eudamed no estuviera plenamente operativa, el SSP se pondrá a disposición del público previa petición 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@cytozell.com

Sitio web: www.ogt.com

Referencias

- WHO Classification of Tumours Editorial Board. *Haematolymphoid tumours* [Internet; beta version ahead of print]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2022 [cited 2023 Nov 03]. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/63>
- Döhner, et al. *Blood*. 2022;140(122):1345-1377.
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. *Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization*. *Genet Med*. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Dyke DL, 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: Código 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: Consultar las instrucciones de uso | 5.4.3 |
|  | es: Consultar la versión electrónica de 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 una 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 diagnóstico <i>in vitro</i> (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 (IFU)

V001 2023-10-09: Nuevas instrucciones de uso (IFU) según el Reglamento (UE) 2017/746.