



A Sysmex Group Company



Mode d'emploi

RÉF : LPH 095 / LPH 095-S

Del(5q) Plus Tri-Colour Deletion Probe



RÉSERVÉ À UNE UTILISATION PROFESSIONNELLE



www.cytocell.com

Informations supplémentaires et autres langues disponibles sur www.ogt.com/cytocell

Utilisation prévue

CytoCell® Del(5q) Plus Tri-Colour Deletion Probe est un test qualitatif non automatisé d'hybridation *in situ* par fluorescence (FISH) utilisé pour détecter les délétions chromosomiques des régions 5p15.3, 5q31.2 et 5q32-q33.1 sur le chromosome 5 dans des suspensions cellulaires d'origine hématologique fixées dans une solution de Carnoy (3:1 méthanol/acide acétique) provenant de patients atteints d'une leucémie myéloïde aiguë (LMA) ou d'un syndrome myélodysplasique (SMD) confirmé ou suspecté.

Indications d'utilisation

Ce produit est conçu comme complément à d'autres analyses cliniques et histopathologiques dans le cadre d'un parcours diagnostique et clinique reconnu, pour lequel il est important de connaître le statut de la délétion de 5p15.3, 5q31.2 ou 5q32-q33.1 pour la prise en charge clinique.

Limitations

Ce dispositif est conçu pour détecter les pertes génomiques plus importantes que les régions couvertes par les clones aquas, rouges et verts de cet ensemble de sondes, qui comprend les régions 5p15.3, 5q31.2 et 5q32-q33.1. Il est possible que les pertes génomiques situées hors de cette région ou les pertes partielles de cette région ne soient pas détectées par ce produit.

Ce dispositif ne convient pas aux applications suivantes : diagnostic autonome, utilisation comme outil de diagnostic complémentaire, dépistage prénatal, dépistage basé sur la population, test auprès du patient ou autotest.

Ce dispositif n'a pas été validé pour des types d'échantillons ou de maladies ou d'autres fins que celles indiquées dans l'utilisation prévue.

Il est destiné à compléter d'autres tests diagnostiques de laboratoire, et aucune mesure thérapeutique ne doit être débutée sur la seule base du résultat de la FISH. La création de rapports et l'interprétation des résultats de la FISH doivent être effectuées par du personnel ayant reçu une formation adaptée, conformément aux pratiques professionnelles de référence et tenir compte d'autres résultats de test et informations cliniques et diagnostiques.

Cet appareil est exclusivement destiné à un usage professionnel en laboratoire.

Le non-respect du protocole peut affecter les performances du produit et entraîner des résultats faux positifs/négatifs.

Principe du test

L'hybridation *in situ* par fluorescence (FISH) permet de détecter des séquences d'ADN sur des chromosomes en métaphase ou dans les noyaux interphasiques d'échantillons cytogénétiques fixés. Cette technique utilise des sondes ADN qui s'hybrident à des chromosomes entiers ou à des séquences uniques spécifiques, et complète efficacement l'analyse cytogénétique en bandes G. Cette technique peut désormais être utilisée comme outil d'investigation essentiel dans l'analyse prénatale, hématologique, ainsi que dans l'analyse chromosomique des tumeurs solides. Après fixation et dénaturation, l'ADN cible est disponible pour l'anneau à une sonde ADN comportant une séquence complémentaire, dénaturée de façon similaire et marquée par fluorescence. Après l'hybridation, la sonde ADN non liée et non liée spécifiquement est retirée et l'ADN est contre-coloré pour la visualisation. Un microscope à fluorescence permet alors la visualisation de la sonde hybridée sur le matériel cible.

Informations sur les sondes

Les délétions du bras long du chromosome 5 sont les anomalies caryotypiques les plus fréquentes dans le syndrome myélodysplasique (SMD) et la leucémie myéloïde aiguë (LMA) avec des modifications associées à la myélodysplasie^{1,2}.

Un sous-ensemble de patients atteint de SMD dont del(5q) est la seule anomalie cytogénétique ou n'ayant qu'une seule anomalie unique n'impliquant pas le chromosome 7 présente un ensemble cohérent de caractéristiques cliniques, dénommé syndrome 5q¹. Il s'agit du seul sous-type de SMD défini cytogénétiquement dans le système de classification de l'Organisation mondiale de la santé. Cette entité clinique associée à < 5 % de blastes bénéficie d'un pronostic plus favorable. Toutefois, les patients porteurs de del(5q) associé à d'autres anomalies cytogénétiques ou présentant un excès de blastes sont associés à une survie inférieure^{2,3}.

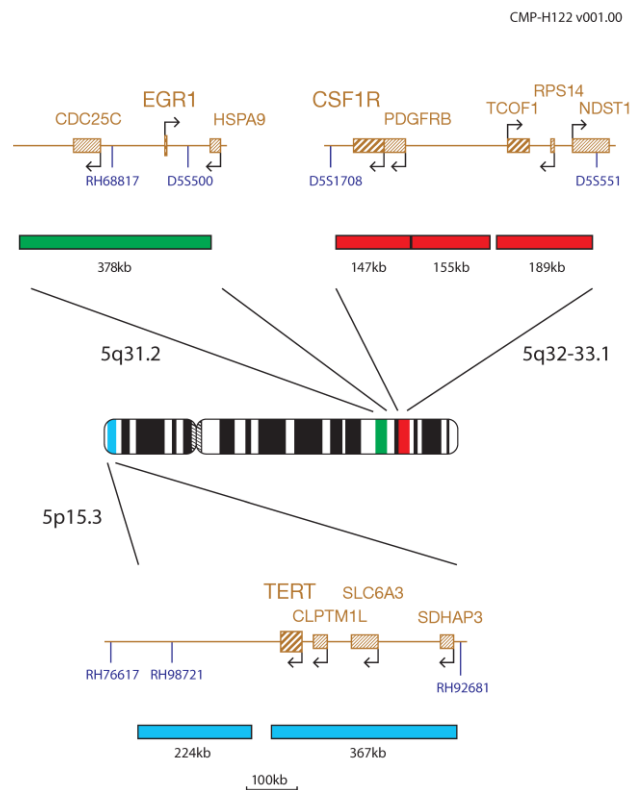
Contrairement au SMD de novo, le pronostic de la LMA avec del(5q) est généralement défavorable, en particulier lorsqu'il est considéré comme faisant partie d'un caryotype complexe⁴. La délétion de 5q est également fréquemment observée dans les cas de SMD-t et de LMA-t liés au traitement, dont le pronostic est particulièrement défavorable¹.

Deux régions chromosomiques ont été cartographiées sur le 5q pour le SMD et la LMA. Une région fréquemment concernée par une délétion, sur 5q33, est associée au syndrome 5q. Une autre région plus proximale, située sur 5q31, a été associée à une forme plus agressive du SMD et de la LMA et s'accompagne souvent d'anomalies cytogénétiques supplémentaires et d'un pronostic plus défavorable^{1,3,5}.

CytoCell Del(5q) Plus Tri-Colour Deletion Probe détecte les délétions d'EGR1 (réponse de croissance précoce 1), un gène suppresseur de tumeur situé sur 5q31. EGR1 agit par haploinsuffisance pour initier le développement du SMD et de la LMA⁶. La sonde détectera également les délétions de RPS14 (protéine ribosomale S14) sur 5q33.1. Les patients atteints de SMD avec del(5q) sont haplo-insuffisants pour le RPS14, ce qui entraîne une altération de la biogénèse du ribosome et affecte la traduction des gènes et l'activation des protéines impliquées dans la différenciation et l'apoptose⁴. La sonde du gène TERT (telomerase reverse transcriptase) à 5p15.3 aidera à distinguer les cas avec del(5q) de ceux avec monosomie 5.

Caractéristiques des sondes

TERT, 5p15.3, aqua
EGR1, 5q31.2, vert
CSF1R, 5q32-33.1, rouge



Le mélange Del(5q) Plus Tri-Colour Deletion Probe se compose de trois sondes distinctes. La sonde verte (378kb) couvre les gènes CDC25C et EGR1, ainsi que leurs régions flanquantes, qui comprennent les marqueurs RH68817 et D5S500. L'ensemble de sondes rouges (147kb, 155kb et 189kb) se situe entre les marqueurs D5S1708 et D5S551 et comprend les gènes CSF1R, PDGFRB, TCOF1 et RPS14. L'ensemble de sondes aquas (224kb et 367kb) se situe entre les marqueurs RH76617 et RH92681 et comprend les gènes TERT, CLPTM1L, SLC6A3 et SDHAP3.

Matériel fourni

Sonde : 50 µl par flacon (5 tests) ou 100 µl par flacon (10 tests)

Les sondes sont fournies préalablement mélangées dans une solution d'hybridation (formamide, sulfate de dextrane, solution saline de citrate de sodium (SCS)) et sont prêtes à l'emploi.

Contre-coloration: 150 µl par flacon (15 tests)

La contre-coloration est le DAPI Antifade ES (0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-phénylindole) dans un milieu de montage à base de glycérol).

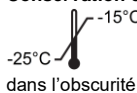
Avertissements et précautions

- Utilisation réservée au diagnostic *in vitro*. Exclusivement réservé à un usage en laboratoire professionnel.
- Les mélanges de sonde contiennent du formamide, un agent tératogène. Ne pas respirer les vapeurs et éviter tout contact cutané. Ce produit doit être manipulé avec précaution : le port de gants et d'une blouse de laboratoire est obligatoire.
- Le DAPI est potentiellement cancérigène. Ce produit doit être manipulé avec précaution : le port de gants et d'une blouse de laboratoire est obligatoire.
- Ne pas utiliser si le(s) flacon(s) est/sont endommagé(s) ou si le contenu du flacon est compromis de quelque manière que ce soit.
- Suivez la réglementation de votre région sur la mise au rebut, ainsi que les recommandations de la fiche de données de sécurité pour déterminer comment mettre ce produit au rebut sans risque. Cela s'applique également au contenu du kit de test endommagé.
- Éliminer tous les réactifs utilisés et tout autre matériel jetable contaminé conformément aux procédures relatives aux déchets infectieux ou potentiellement infectieux. Il est de la responsabilité de chaque laboratoire de manipuler les déchets solides et liquides selon leur nature et leur degré de dangerosité et de les traiter et de les éliminer (ou de les faire traiter et éliminer) conformément aux réglementations applicables.
- Les opérateurs doivent pouvoir distinguer les couleurs rouge, bleue et verte.
- Le non-respect du protocole spécifié et des instructions sur les réactifs peut affecter les performances du produit et entraîner des résultats faux positifs/négatifs.
- La sonde ne doit pas être diluée ou mélangée avec d'autres sondes.
- La non-utilisation de 10 µl de sonde durant l'étape de pré-dénaturation du protocole peut affecter les performances et entraîner des résultats faux positifs/négatifs.
- Tous les produits doivent être validés avant utilisation.
- Les contrôles internes doivent être effectués en utilisant des populations cellulaires non affectées dans les échantillons à analyser.

Définitions de température

- 20 °C/congelé/dans le congélateur : -25 °C à -15 °C
- 37 °C : +37 °C ± 1 °C
- 72 °C : +72 °C ± 1 °C
- 75 °C : +75 °C ± 1 °C
- Température ambiante (TA) : +15 °C à +25 °C

Conservation et manipulation

 Le kit doit être conservé entre -25 °C et -15 °C au congélateur jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du kit. La sonde et les flacons de contre-coloration doivent être conservés dans l'obscurité.



La sonde FISH, la contre-coloration DAPI Antifade ES et la solution d'hybridation restent stables tout au long des cycles de congélation/décongélation observés en utilisation normale (un cycle constituant le retrait et le remplacement du flacon dans le congélateur). L'exposition à la lumière doit être minimisée et évitée autant que possible. Stockez les composants dans le conteneur résistant à la lumière fourni. Les composants utilisés et stockés dans d'autres conditions que celles indiquées sur l'étiquette peuvent ne pas fonctionner comme prévu et peuvent avoir une incidence négative sur les résultats du dosage. Il est essentiel de limiter l'exposition aux variations de lumière et de température.

Équipement et matériel nécessaires non fournis

L'équipement utilisé doit être calibré :

- Plaque chauffante (avec plaque solide et contrôle précis de la température jusqu'à 80 °C)
- Micropipettes calibrées de volume variable et embouts de 1 µl à 200 µl
- Bain-marie avec contrôle précis de la température à 37 °C et 72 °C
- Tube pour microcentrifugeuse (0,5 ml)
- Microscope à fluorescence (consulter la section Recommandations relatives à la microscopie à fluorescence)
- Microscope à contraste de phase
- Bocaux Coplin propres en plastique, céramique ou verre réfractaire
- Forceps
- pH-mètre calibré (ou bandelettes de pH pouvant mesurer un pH de 6,5 à 8,0)
- Récipient humidifié
- Huile d'immersion de l'objectif du microscope à fluorescence
- Centrifugeuse de paillasse
- Lames pour microscope
- Lamelles couvre-objet de 24 x 24 mm
- Minuteur
- Incubateur à 37 °C
- Colle à base de caoutchouc
- Agitateur vortex
- Éprouvettes graduées
- Agitateur magnétique
- Thermomètre calibré

Équipement en option non fourni

- Chambre de séchage cytogénétique

Réactifs nécessaires, mais non fournis

- Solution saline de citrate de sodium (SCS) x20
- Éthanol à 100 %
- Tween-20
- Hydroxyde de sodium (NaOH) 1 M
- Acide chlorhydrique (HCl) 1 M
- Eau purifiée

Recommandations relatives à la microscopie à fluorescence

Utiliser une lampe à mercure de 100 watts ou un équivalent, et des objectifs plans apochromatiques à immersion dans l'huile x60/63 ou x100 pour une visualisation optimale. Les fluorophores utilisés pour cet ensemble de sondes excitent et émettent les longueurs d'onde suivantes :

Fluorophore	Excitation _{max} [nm]	Émission _{max} [nm]
Aqua	418	467
Vert	495	521
Rouge	596	615

Vérifier que les filtres d'excitation et d'émission appropriés couvrant les longueurs d'onde indiquées ci-dessus sont installés dans le microscope. Utiliser un filtre passe-bande unique pour spectre aqua pour une visualisation optimale du spectre bleu ou un filtre passe-bande triple pour spectre rouge/vert/bleu pour une visualisation simultanée des fluorophores verts, rouges et bleus.

Vérifier le microscope à fluorescence avant utilisation pour vous assurer qu'il fonctionne correctement. Utiliser de l'huile d'immersion adaptée à la microscopie en fluorescence et formulée pour une auto-fluorescence faible. Éviter de mélanger la solution DAPI antifade avec l'huile d'immersion pour microscope, car cela aura pour effet d'obscurcir les signaux. Suivre les recommandations du fabricant concernant la durée de vie de la lampe et l'ancienneté des filtres.

Préparation de l'échantillon

Ce kit est conçu pour être utilisé sur des suspensions cellulaires d'origine hématologique fixées dans une solution de Carnoy (3:1 méthanol/acide acétique), et préparées conformément aux directives du laboratoire ou de l'établissement. Préparer des échantillons séchés à l'air sur des lames pour microscope, conformément aux procédures cytogénétiques de référence. Le manuel *Cytogenetics Laboratory Manual* de l'AGT contient des recommandations sur le prélèvement des spécimens, la mise en culture, le recueil et la préparation des lames.

Préparation des solutions

Solutions d'éthanol

Diluer de l'éthanol à 100 % avec de l'eau purifiée en respectant les proportions suivantes, puis mélanger soigneusement :

- Éthanol à 70 % : 7 volumes d'éthanol à 100 % pour 3 volumes d'eau purifiée
 - Éthanol à 85 % : 8,5 volumes d'éthanol à 100 % pour 1,5 volume d'eau purifiée
- Les solutions peuvent être conservées jusqu'à 6 mois à température ambiante dans un contenant hermétique.

Solution SCS x2

Diluer un volume de solution 20xSCS avec 9 volumes d'eau purifiée et mélanger soigneusement. Vérifier le pH et l'ajuster à 7,0 à l'aide de NaOH ou de HCl si nécessaire. La solution peut être conservée jusqu'à 4 semaines à température ambiante dans un contenant hermétique.

Solution SCS x0,4

Diluer un volume de solution 20xSCS avec 49 volumes d'eau purifiée et mélanger soigneusement. Vérifier le pH et l'ajuster à 7,0 à l'aide de NaOH ou de HCl si nécessaire. La solution peut être conservée jusqu'à 4 semaines à température ambiante dans un contenant hermétique.

SCS x2, solution Tween-20 à 0,05 %

Diluer un volume de solution 20xSCS avec 9 volumes d'eau purifiée. Ajouter 5 µl de Tween-20 pour 10 ml et mélanger soigneusement. Vérifier le pH et l'ajuster à 7,0 à l'aide de NaOH ou de HCl si nécessaire. La solution peut être conservée jusqu'à 4 semaines à température ambiante dans un contenant hermétique.

Protocole FISH

(Remarque : limiter en tout temps l'exposition de la sonde et de la contre-coloration à la lumière du laboratoire.)

Préparation des lames

- Déposer une goutte d'échantillon cellulaire sur une lame pour microscope en verre. Laisser sécher. (En option, en cas d'utilisation d'une chambre de séchage cytogénétique : La chambre doit fonctionner à environ 25 °C avec un taux d'humidité de 50 % pour garantir l'application optimale de l'échantillon cellulaire. En l'absence de chambre de séchage cytogénétique, une hotte aspirante peut être utilisée.)
- Immerger la lame dans SSC x2 pendant 2 minutes à température ambiante (TA) sans agitation.
- Déshydrater par une série de bains d'éthanol (70 %, 85 % et 100 %), pendant 2 minutes à TA à chaque fois.
- Laisser sécher.

Pré-dénaturation

- Retirer la sonde du congélateur et la laisser se réchauffer à TA. Centrifuger rapidement les tubes avant utilisation.
- Vérifier que la solution de la sonde est mélangée de façon homogène à l'aide d'une pipette.

7. Prélever 10 µl de sonde par test et transférer ce volume dans un tube de microcentrifugeuse. Replacer rapidement le reste de la sonde dans le congélateur.
8. Mettre la sonde et la lame de l'échantillon à préchauffer à 37 °C (+/- 1 °C) sur la plaque chauffante pendant 5 minutes.
9. Appliquer 10 µl de mélange de sonde sur l'échantillon cellulaire et appliquer soigneusement une lamelle couvre-objet. Sceller avec de la colle à base de caoutchouc et laisser la colle sécher complètement.

Dénaturation

10. Dénaturer l'échantillon et la sonde simultanément en chauffant la lame sur une plaque chauffante à 75 °C (+/- 1 °C) pendant 2 minutes.

Hybridation

11. Placer la lame dans un contenant humide et opaque à 37 °C (+/- 1 °C) toute la nuit.

Lavages post-hybridation

12. Retirer le DAPI du congélateur et le laisser se réchauffer à TA.
13. Retirer soigneusement la lamelle couvre-objet et toutes les traces de colle.
14. Immerger la lame dans 0,4 x SSC (pH 7,0) à 72 °C (+/- 1 °C) pendant 2 minutes sans agitation.
15. Vider la lame et l'immerger dans 2 xSCS et Tween-20 à 0,05 % à TA (pH 7,0) pendant 30 secondes sans agitation.
16. Vider la lame et appliquer 10 µl de DAPI antifade sur chaque échantillon.
17. Utiliser un thermomètre calibré pour mesurer la température des solutions, des bains-marie et des incubateurs, car ces températures sont essentielles pour garantir des performances optimales du produit.
18. Observer avec un microscope à fluorescence (voir **Recommandations relatives à la microscopie à fluorescence**).

Recommandations de procédure

1. La cuisson et le vieillissement des lames peuvent réduire la fluorescence du signal.
2. L'utilisation d'autres réactifs que ceux fournis ou recommandés par Cytocell Ltd. peut avoir une influence négative sur les conditions d'hybridation.
3. Les concentrations, le pH et les températures du lavage sont importants, car une stringence faible peut entraîner une liaison non spécifique de la sonde, et une stringence élevée une perte de signal.
4. Une dénaturation incomplète peut entraîner une perte de signal et une dénaturation excessive peut également entraîner une liaison non spécifique.
5. L'hybridation excessive peut entraîner des signaux supplémentaires ou inattendus.
6. Les utilisateurs doivent optimiser le protocole pour leurs propres échantillons avant d'utiliser le test à des fins diagnostiques.
7. Des conditions suboptimales peuvent entraîner une liaison non spécifique qui peut être interprétée de façon erronée comme un signal de la sonde.

Interprétation des résultats

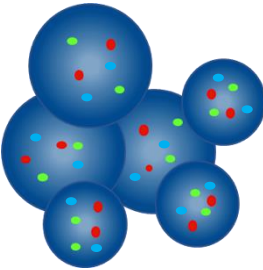
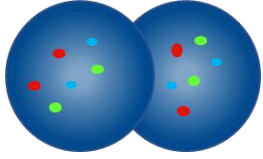
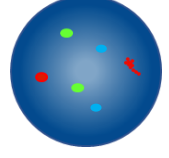
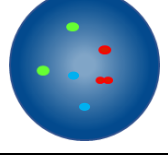
Évaluation de la qualité des lames

La lame ne doit pas être analysée dans les cas suivants :

- Les signaux sont trop faibles pour permettre une analyse avec des filtres uniques. Pour l'analyse, les signaux doivent être clairs, distincts et faciles à évaluer.
- L'analyse est obstruée par un grand nombre de cellules agglutinées ou se chevauchant.
- Plus de 50 % des cellules ne sont pas hybridées.
- Les particules fluorescentes sont trop nombreuses entre les cellules et/ou un halo fluorescent interfère avec le signal. Une lame optimale comporte un arrière-plan sombre ou noir et propre.
- Les bords des noyaux cellulaires ne peuvent pas être distingués et ne sont pas intacts.

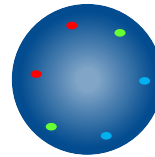
Directives d'analyse

- Chaque échantillon doit être analysé et interprété par deux analystes. Toute différence doit être évaluée par un troisième analyste.
- Chaque analyste doit être qualifié conformément aux normes nationales reconnues.
- Chaque analyste doit évaluer indépendamment 100 noyaux pour chaque échantillon. Le premier analyste doit commencer l'analyse par le côté gauche de la lame et le deuxième par le côté droit.
- Chaque analyste doit consigner ses résultats dans des fiches distinctes.
- Seuls les noyaux intacts doivent être analysés. Les noyaux se chevauchant, agglutinés ou couverts par des débris cytoplasmiques ou associés à un degré élevé d'auto-fluorescence ne doivent pas être analysés.
- Éviter les zones présentant des débris cytoplasmiques trop nombreux ou une hybridation non spécifique.
- L'intensité du signal peut varier, même avec un seul noyau. Dans ce cas, utiliser des filtres uniques et/ou ajuster le plan focal.
- Le signal peut apparaître diffus si les conditions sont suboptimales. Si deux signaux de la même couleur se touchent, ou si la distance qui les sépare est inférieure à la largeur de deux signaux, ou lorsqu'un brin ténu connecte les deux signaux, ils doivent être comptés comme un seul et même signal.
- Si le caractère analysable d'une cellule est incertain, ne pas l'analyser.

Directives d'analyse	
	Ne pas compter les noyaux trop proches pour en déterminer les limites.
	Ne pas compter les noyaux qui se chevauchent, lorsque les surfaces des deux noyaux ne sont pas visibles.
	Compter comme deux signaux rouges, deux signaux aquas et deux signaux verts, si l'un des deux signaux rouges est diffus.
	Compter comme deux signaux rouges, deux signaux aquas et deux signaux verts, si l'espace d'un signal rouge est inférieur à la largeur de deux signaux.

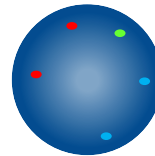
Résultats attendus

Séquence de signaux normaux attendue

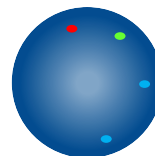


Dans une cellule normale, deux signaux aquas, deux signaux verts et deux signaux rouges sont attendus (2A2V2R).

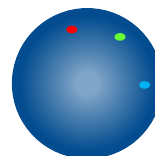
Séquences de signaux anormaux attendus



Dans une cellule présentant une délétion hémizygotique de 5q31.2, la séquence de signaux attendue correspondra à deux signaux aquas, un signal vert et deux signaux rouges (2A1V2R).



Dans une cellule présentant une délétion hémizygotique de 5q, la séquence de signaux attendue correspondra à deux signaux aquas, un signal vert et un signal rouge (2A1V1R).



Dans une cellule présentant une monosomie 5, la séquence de signaux attendue correspondra à un signal aqua, un signal vert et un signal rouge (1A1V1R).

D'autres séquences de signaux sont possibles pour les spécimens aneuploïdes/déséquilibrés.

Interférences/substances interférentes connues

Aucune interférence/substance interférente pertinente connue.

Réactivité croisée connue

Aucune réactivité croisée connue.

Signalement des incidents graves

Pour un patient/utilisateur/tiers situé dans l'Union européenne et dans les pays ayant un régime réglementaire identique (Directive 98/79/CE/Règlement (UE) 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*) ; si, pendant l'utilisation de ce dispositif ou en conséquence de son utilisation, un incident grave s'est produit, veuillez le signaler au fabricant et à votre autorité nationale compétente.

En cas d'incidents graves dans d'autres pays, veuillez le signaler au fabricant et, le cas échéant, à votre autorité nationale compétente.

Contact pharmacovigilance du fabricant : vigilance@ogt.com

Pour les autorités nationales compétentes en UE, une liste des points de contact de pharmacovigilance se trouve à l'adresse : https://ec.europa.eu/health/md_sector/contact_fr

Caractéristiques de performances spécifiques

Spécificité analytique

La spécificité analytique est définie comme le pourcentage de signaux qui s'hybrident au locus correct et nulle part ailleurs. 6 loci chromosomiques dans chacune des 20 cellules en métaphase provenant de 5 échantillons ont été analysés, pour obtenir 600 points de données. L'emplacement de chaque sonde hybridée a été cartographié et le nombre de signaux FISH des chromosomes en métaphase qui se sont hybridés au bon locus a été enregistré.

La spécificité analytique de chaque sonde du kit a été calculée en divisant le nombre de signaux FISH des chromosomes en métaphase hybridés au locus correct par le nombre total de signaux FISH des chromosomes en métaphase hybridés, ce résultat a été multiplié par 100, exprimé en pourcentage et donné avec un intervalle de confiance de 95 %.

Tableau 1. Spécificité analytique du *Del(5q) Plus Tri-Colour Deletion Probe*

Cible	Nombre de chromosomes en métaphases hybridés	Nombre de locus correctement hybridés	Spécificité analytique	Intervalle de confiance de 95 %
5q32-33.1	200	200	100 %	98,12–100 %
5q31.2	200	200	100 %	98,12–100 %
5p15.33	200	200	100 %	98,12–100 %

Sensibilité analytique

La sensibilité analytique correspond au pourcentage de cellules en interphase évaluables dans la séquence de signaux normaux attendue. Au moins 200 cellules en interphase ont été analysées pour chacune des 25 suspensions cellulaires fixes issues de moelle osseuse, ce qui a permis d'obtenir un minimum de 5 000 noyaux évalués pour chaque type d'échantillon. Les données de sensibilité ont été analysées en fonction du pourcentage de cellules présentant une séquence de signaux normaux attendue et exprimées en pourcentage avec un intervalle de confiance de 95 %.

Tableau 2. Sensibilité analytique du *Del(5q) Plus Tri-Colour Deletion Probe*

Type d'échantillon	Critères de sensibilité	Résultat de sensibilité
Moelle osseuse	> 95 %	98,9 % (98,50–99,30 %)

Caractérisation des valeurs seuils normales

La valeur seuil normale est définie comme le pourcentage de cellules présentant une séquence de signaux faux positifs à partir de laquelle un individu serait considéré comme normal et non compatible avec un diagnostic clinique. Au moins 200 cellules en interphase ont été analysées pour chacune des 25 suspensions cellulaires fixes issues de moelle osseuse, ce qui a permis d'obtenir un minimum de 5 000 noyaux évalués pour chaque type d'échantillon.

La valeur seuil a été déterminée à l'aide de la fonction β -inverse (BETAINV) dans MS Excel. Elle a été calculée comme le pourcentage de cellules en interphase présentant une séquence de signaux faux positifs en utilisant la limite supérieure d'un intervalle de confiance unilatéral de 95 % de la distribution binomiale dans un échantillon de patient normal.

Tableau 3. Caractérisation des valeurs seuils normales du *Del(5q) Plus Tri-Colour Deletion Probe*

Type d'échantillon	Séquence de signaux	Résultat seuil
Moelle osseuse	1A1G1R	2,34 %
	2A1G2R	2,34 %
	2A1G1R	6,26 %

Les laboratoires doivent vérifier les valeurs seuils à partir de leurs propres données^{8,9}.

Précision

La précision de ce produit a été mesurée en termes de précision intra-journalière (d'un échantillon sur l'autre), de précision inter-journalière (d'un jour sur l'autre) et de précision inter-lot à site unique (d'un lot sur l'autre).

4 échantillons ont été utilisés pour évaluer la précision de ce produit : 1 moelle osseuse négative et 3 échantillons de moelle osseuse faiblement positifs.

Pour établir la précision inter-journalière et intra-journalière, les échantillons ont été évalués sur 5 dates non consécutives, et pour établir la précision lot à lot, 3 lots du produit ont été évalués sur 4 réplicats des mêmes échantillons. Les résultats ont été présentés comme la concordance globale avec la classe négative prévue (pour les échantillons négatifs).

Tableau 4. Reproductibilité et précision du *Del(5q) Plus Tri-Colour Deletion Probe*

Variable	Type d'échantillon	Concordance
Intra-journalier (échantillon à échantillon) et Reproductibilité inter-journalière (jour à jour)	Moelle osseuse négative	100 %
	Moelle osseuse faiblement positive (1A1V1R)	100 %
	Moelle osseuse faiblement positive (2A1V1R)	100 %
	Moelle osseuse faiblement positive (2A1V2R)	60 %
Reproductibilité d'un lot à un autre	Moelle osseuse négative	100 %
	Moelle osseuse faiblement positive (1A1V1R)	100 %
	Moelle osseuse faiblement positive (2A1V1R)	100 %
	Moelle osseuse faiblement positive (2A1V2R)	58,3 %

Performance clinique

Pour s'assurer que le produit détecte les réorganisations prévues, les performances cliniques ont été établies sur trois études rétrospectives de sites externes sur des échantillons représentatifs de la population prévue pour le produit en utilisant du méthanol/acide acétique 3:1. La taille combinée des échantillons pour les trois études était de 45 spécimens, dont 13 spécimens positifs et 32 spécimens négatifs. Tous les échantillons ont été anonymisés et randomisés pour éviter tout biais d'analyse. Les résultats ont été comparés au statut connu de l'échantillon.

Les résultats de ces tests ont été analysés afin de fournir des valeurs de sensibilité et de spécificité cliniques et de taux de faux positifs (TFP) pour les signaux positifs, en utilisant une approche unidimensionnelle.

Tableau 5. Performances cliniques du *Del(5q) Plus Tri-Colour Deletion Probe*

Variable	Résultat
Sensibilité clinique (taux de vrais positifs, TVP)	99,17 %
Spécificité clinique (taux de vrais négatifs, TVN)	99,65 %
Taux de faux positifs (TFP = 1-Spécificité)	0,35 %

Informations complémentaires

Pour plus d'informations sur le produit, contactez le service d'assistance technique de CytoCell.

Tél. : +44 (0)1223 294048













E-mail : techsupport@cytoCELL.com

Site web : www.ogt.com

Références

- Ebert BL. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2010;23(4):457-461.
- Swerdlow, et al. (eds). *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*, France, 4th edition, IARC, 2017
- Fang J, Barker B, Bolanos L, et al. *Cell Rep*. 2014;8(5):1328-1338.
- Kanehira K, Ketterling RP, Van Dyke DL. *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol*. 2010;14(3):314-316.
- Boulwood J, Pellagatti A, McKenzie ANJ, et al. *Sang*;116(26):5803-5811.
- Joslin JM, Fernald AA, Tennant TR, et al. *Blood*;110(2):719-726.
- Arsham, MS, Barch, MJ and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. *Genet Med*. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Van Dyke DL, Stupca PJ, et al. Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice. *Genetics in Medicine*. 2006;8(1):16-23.

Glossaire des symboles

ISO 15223-1:2016 - « Dispositifs médicaux — Symboles à utiliser avec les étiquettes, l'étiquetage et les informations à fournir relatifs aux dispositifs médicaux — Partie 1 : Exigences générales » (© International Organization for Standardization)		
Symbole	Titre	Numéro(s) de référence
	fr : Fabricant	5.1.1
	fr : Représentant autorisé pour la communauté européenne	5.1.2
	fr : Date de péremption	5.1.4
	fr : Numéro de lot	5.1.5
	fr : Numéro de référence	5.1.6
	fr : Tenir à l'abri de la lumière du soleil	5.3.2
	fr : Limite de température	5.3.7
	fr : Consulter le mode d'emploi	5.4.3
	fr : Mise en garde	5.4.4
	fr : Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>	5.5.1
	fr : Quantité suffisante pour <n> tests	5.5.5
Symboles EDMA pour les réactifs et les composants de DIV, révision d'octobre 2009		
Symbole	Titre	Numéro(s) de référence
	fr : Contenu	S.O.

Brevets et marques déposées

CytoCell est une marque déposée de CytoCell Ltd.



CytoCell Limited

Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
ROYAUME-UNI

Tél. : +44 (0)1223 294048
Fax : +44 (0)1223 294986
E-mail : probes@cytoCell.com
Site Web : www.ogt.com



Sysmex Europe GmbH

Bornbarch 1
22848 Norderstedt
ALLEMAGNE

Tél. : +49 40 527260
Site Web : www.sysmex-europe.com

Historique des versions du mode d'emploi

V001.00 2021-10-01 : Création du mode d'emploi pour le nouveau produit