



A Sysmex Group Company



Mode d'emploi

RÉF : CE-LPH 022-S / CE-LPH 022

CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe



RÉSERVÉ À UN USAGE PROFESSIONNEL



Informations supplémentaires et autres langues disponibles à l'adresse
ogt.com/IFU

Usage prévu

CytoCell® CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion probe est un test qualitatif non automatisé d'hybridation *in situ* par fluorescence (FISH) utilisé pour détecter les réorganisations chromosomiques entre la région 16p13.1 du chromosome 16 et la région 16q22 du chromosome 16 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) confirmée ou suspectée.

Indications d'emploi

Ce dispositif 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 l'état de la translocation *CBFB::MYH11* pour la prise en charge clinique.

Limitations

Ce dispositif est conçu pour détecter les réorganisations avec points de cassure dans la région couverte par les clones rouges et verts de cet ensemble de sondes, qui comprend les régions *CBFB* et *MYH11*. Il est possible que les points de cassure situés hors de cette région ou les variantes de réorganisation entièrement contenues dans cette région ne soient pas détectés par ce dispositif.

Ce dispositif ne convient pas aux applications suivantes : diagnostic autonome, test compagnon, 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, des types de maladies ou des usages autres que ceux énoncés dans la section « Usage prévu ». 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 réalisées par du personnel qualifié, être conformes aux pratiques professionnelles de référence et tenir compte d'autres résultats de tests pertinents et d'autres informations cliniques et diagnostiques.

Ce dispositif est exclusivement réservé à une utilisation professionnelle en laboratoire.

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

Principes 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.

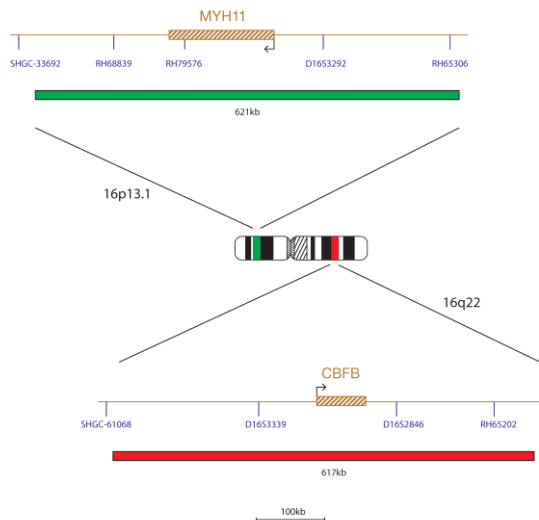
Informations sur la sonde

Le gène *CBFB* (sous-unité bêta du CBF) est situé sur 16q22, tandis que le gène *MYH11* (chaîne lourde de la myosine 11) est situé sur 16p13.1. L'inversion inv(16)(p13.1;q22) et la translocation t(16;16)(p13.1;q22) entraînent l'émergence du gène de fusion *CBFB::MYH11*. Les leucémies myéloïdes aiguës avec fusion *CBFB::MYH11* forment une entité pathologique reconnue selon la classification de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS)¹. Ce type de LMA couvre 5 à 8 % des cas chez les jeunes adultes, mais son incidence diminue chez les personnes plus âgées¹. L'inversion inv(16)(p13.1;q22) correspond à l'altération cytogénétique la plus détectée chez environ 95 % des patients *CBFB::MYH11*¹. Le pronostic de LMA avec *CBFB::MYH11* est favorable, avec des taux de survie à long terme d'environ 50 % chez les adultes^{1,2}.

Caractéristiques de la sonde

CBFB, 16q22, Rouge
MYH11, 16p13.1, Vert

CMP-H077 v005.00



La sonde CBFB marquée en rouge couvre une région de 617 kb au sein de 16q22 et comprend le gène *CBFB*. La sonde MYH11 marquée en vert couvre une région de 621 kb au sein de 16p13.1 et comprend le gène *MYH11*.

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 (< 65 % formamide, < 20 mg sulfate de dextrane, < 10 % solution saline de citrate de sodium [SSC] 20x) et sont prêtes à l'emploi.

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

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

Avertissements et précautions

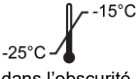
- Utilisation réservée au diagnostic *in vitro*. Exclusivement réservé à une utilisation professionnelle en laboratoire.
- Les mélanges de sonde contiennent du formamide, un agent tératogène. Ne pas respirer les vapeurs et éviter tout contact cutané. Ce produit doit être manipulé avec précaution ; le port de gants et d'une blouse de laboratoire est obligatoire.
- Le DAPI doit être manipulé avec précaution ; le port de gants et d'une blouse de laboratoire est obligatoire.
- Ne pas utiliser si les flacons sont endommagés ou si leur contenu est altéré de quelque manière que ce soit.
- Suivre la réglementation locale 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 endommagé du kit de test.
- Éliminer tous les réactifs utilisés et tout autre matériel jetable contaminé conformément aux procédures applicables aux déchets infectieux ou potentiellement infectieux. Il incombe à chaque laboratoire de traiter les déchets solides et liquides en fonction de leur nature et de leur degré de dangerosité, puis de les traiter et de les éliminer (ou de les faire traiter et éliminer) conformément à toute réglementation applicable.
- Les opérateurs doivent pouvoir distinguer les couleurs rouge, bleue et verte.
- Le non-respect du protocole spécifié et des instructions relatives aux réactifs peut affecter les performances du produit et entraîner des 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 prédénaturation du protocole peut affecter les performances du produit et entraîner des faux positifs/négatifs.
- Tous les produits doivent être validés avant toute utilisation.

12. Des contrôles internes doivent être menés en utilisant des populations de cellules non affectées dans des échantillons d'essai.

Définitions de la température

- 20 °C / congelé / au 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 d'expiration indiquée sur l'étiquetage 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 pendant les cycles de congélation/décongélation qui interviennent dans le cadre d'une utilisation normale (un cycle correspond au retrait puis au remplacement du flacon dans le congélateur), à savoir 5 cycles pour le flacon de sonde FISH de 50 µl (5 tests), 10 cycles pour le flacon de sonde FISH de 100 µl (10 tests) et 15 cycles pour le flacon de contre-coloration de 150 µl (15 tests). L'exposition à la lumière doit être limitée au maximum et évitée dans la mesure du possible. Les composants doivent être conservés dans le contenant étanche à la lumière fourni. Les composants utilisés et conservés dans des conditions autres que celles énoncées sur l'étiquetage peuvent ne pas fournir les performances attendues et peuvent avoir une influence négative sur les résultats de l'essai. 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)
- Réceptacle humidifié
- Huile d'immersion de l'objectif du microscope à fluorescence
- Centrifugeuse de paillasse
- Lames pour microscope
- Lamelles couvre-objets 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 (SSC) 20x
- 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 :

Fluorochrome	Excitation _{max} [nm]	Émission _{max} [nm]
DAPI	364	454
Bleu	418	467
Vert	495	521
Rouge	596	615
Or	539	561
Orange	551	572

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 triple DAPI / spectre vert / spectre rouge ou un filtre passe-bande double pour spectre vert/rouge pour une visualisation simultanée optimale des fluorophores verts et rouges.

Vérifier le microscope à fluorescence avant utilisation pour vous assurer qu'il fonctionne correctement. Utiliser de l'huile d'immersion adaptée à la microscopie à fluorescence et formulée pour une autofluorescence faible. Éviter de mélanger du 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 des échantillons

Le kit est conçu pour être utilisé sur 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) confirmée ou suspectée, 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 lames³.

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 volume 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 SSC 2x

Diluer 1 volume de solution SSC 20x 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 SSC 0,4x

Diluer 1 volume de solution SSC 20x 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.

Solution SSC 2x, Tween-20 à 0,05 %

Diluer 1 volume de solution SSC 20x 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. (**Facultatif, 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, il est possible d'utiliser une hotte aspirante.)
- Immerger la lame dans une solution SSC 2x 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.

Prédénaturation

- 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.
- Prélever 10 µl de sonde par test et transférer ce volume dans un tube de microcentrifugeuse. Remplacer rapidement le reste de la sonde au congélateur.
- Mettre la sonde et la lame de l'échantillon à préchauffer à 37 °C (+/- 1 °C) sur la plaque chauffante pendant 5 minutes.
- Appliquer 10 µl de mélange des sondes 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

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

Hybridation

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

Lavages post-hybridation

- Retirer le DAPI du congélateur et le laisser se réchauffer à TA.
- Retirer soigneusement la lamelle couvre-objet et toutes les traces de colle.
- Immerger la lame dans une solution SSC 0,4x (pH 7,0) à 72 °C (+/- 1 °C) pendant 2 minutes sans agitation.
- Vider la lame et l'immerger dans une solution SSC 2x et Tween-20 à 0,05 % à TA (pH 7,0) pendant 30 secondes sans agitation.
- Vider la lame et appliquer 10 µl de DAPI/antifade sur chaque échantillon.

- Appliquer une lamelle couvre-objet, éliminer les bulles d'air et laisser la couleur se développer dans le noir pendant 10 minutes.
- Observer avec un microscope à fluorescence (voir **Recommandations relatives à la microscopie à fluorescence**).

Recommandations sur les procédures

- La cuisson et le vieillissement des lames peuvent réduire la fluorescence du signal.
- L'utilisation d'autres réactifs que ceux fournis ou recommandés par Cytocell Ltd. peut avoir une influence négative sur les conditions d'hybridation.
- 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.
- 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.
- Une dénaturation incomplète peut entraîner une perte de signal et une dénaturation excessive peut également entraîner une liaison non spécifique.
- L'hybridation excessive peut entraîner des signaux supplémentaires ou inattendus.
- Les utilisateurs doivent optimiser le protocole pour leurs propres échantillons avant d'utiliser le test à des fins diagnostiques.
- Des conditions sous-optimales peuvent entraîner une liaison non spécifique qui peut être interprétée de façon erronée comme un signal de la sonde.

Interprétation des résultats

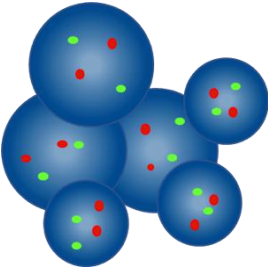
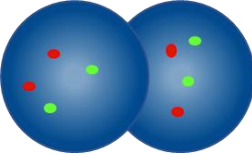
Évaluation de la qualité des lames

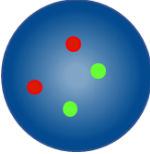
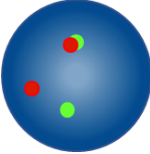
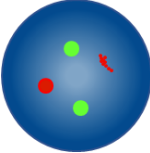
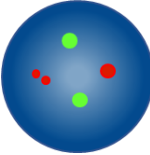
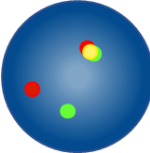
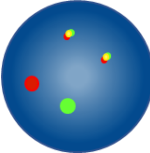
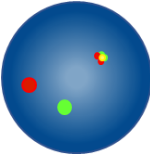
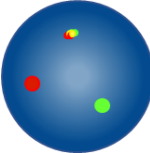
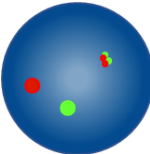
La lame ne doit pas être analysée dans les cas suivants :

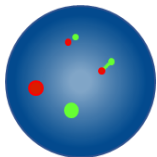
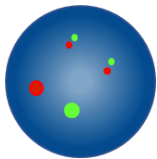
- Les signaux sont trop faibles pour permettre une analyse avec des filtres uniques. Pour l'analyse, les signaux doivent être clairs, distincts et faciles à évaluer
- L'analyse est obstruée par un grand nombre de cellules agglutinées ou se chevauchant
- > 50 % des cellules ne sont pas hybridées
- Les 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'autofluorescence 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 sous-optimales. Si deux signaux de la même couleur se touchent, ou si la distance qui les sépare est inférieure ou égale 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

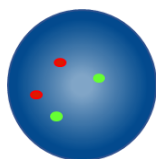
Directives d'analyse	
	Ne pas compter les noyaux trop proches pour en déterminer les limites
	Ne pas compter les noyaux qui se chevauchent, lorsque les surfaces des deux noyaux ne sont pas visibles

	Séquence de signaux normaux attendue (2R2V)
	Séquence de signaux normaux (2R2V) : un signal rouge et un signal vert colocalisés
	Séquence de signaux normaux (2R2V) : un des deux signaux rouges est diffus
	Séquence de signaux normaux (2R2V) : l'espace d'un signal rouge est inférieur à la largeur de deux sondes
	Séquence de signaux normaux (2R2V) : un signal rouge et un signal vert colocalisés
	Séquence de signaux anormaux attendue (1R1V2F) : les signaux de fusion rouges et verts sont proportionnellement plus petits
	Séquence de signaux anormaux attendue (1R1V2F) : signaux de fusion colocalisés
	Séquence de signaux anormaux attendue (1R1V2F) : signaux de fusion colocalisés
	Séquence de signaux anormaux attendue (1R1V2F) : deux signaux de fusion côte à côte

	Compter comme un signal rouge, un signal vert et deux signaux de fusion si l'un des signaux de fusion est diffus
	Compter comme un signal rouge, un signal vert et deux signaux de fusion : l'espace entre le signal rouge et le signal vert dans les fusions est inférieur à la largeur de deux sondes et les signaux de fusion rouges et verts sont proportionnellement plus petits

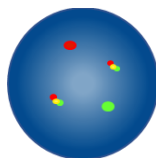
Résultats attendus

Séquence de signaux normaux attendue



Pour une cellule normale, deux signaux rouges et deux signaux verts (2R2V) sont attendus

Séquences de signaux anormaux attendues



Dans une cellule présentant une inv(16)(p13.1;q22) ou une t(16;16)(p13.1;q22), la séquence de signaux attendue correspondra à un signal rouge, un signal vert et deux fusions (1R1V2F).

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

Interférences/substances interférentes connues

Aucune interférence/substance interférente connue.

Réactivité croisée connue

Aucune réactivité croisée connue.

Signalement d'incident grave

Pour les patients/utilisateurs/tiers de l'Union européenne et de pays disposant d'un régime réglementaire identique (Règlement [UE] 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*) ; si, pendant l'utilisation de ce dispositif ou à la suite de son utilisation, un incident grave s'est produit, le signaler au fabricant et à l'autorité nationale compétente.

Pour les incidents graves survenus dans d'autres pays, les signaler au fabricant et, s'il y a lieu, à l'autorité nationale compétente.

Contact du fabricant pour les questions de vigilance : vigilance@ogt.com

Pour les autorités nationales compétentes de l'Union européenne, une liste des interlocuteurs pour les questions de vigilance est disponible à l'adresse :

https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

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. Deux loci chromosomiques dans chacune des vingt cellules en métaphase provenant de cinq échantillons ont été analysés, pour obtenir 200 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 produit 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 de CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Cible	Nombre de chromosomes en métaphases hybridés	Nombre de locus correctement hybridés	Spécificité analytique	Intervalle de confiance de 95 %
16q22	200	200	100 %	98,12 % à 100 %
16p13.1	200	200	100 %	98,12 % à 100 %

Sensibilité analytique

La sensibilité analytique correspond au pourcentage de cellules en interphase évaluables dans la séquence de signaux normaux attendue. Un minimum de 200 cellules en interphase ont été analysées pour chacun des 25 échantillons de moelle osseuse, donnant un minimum de 5 000 noyaux 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 de CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Type d'échantillon	Critères de sensibilité	Résultat de sensibilité
Moelle osseuse	> 95 %	98,94 % (98,59 % à 99,29 %)

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. Un minimum de 200 cellules en interphase ont été analysées pour chacun des 1 300 échantillons de moelle osseuse donnant un minimum de 260 000 noyaux 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 de CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Type d'échantillon	Résultat seuil
Moelle osseuse	2,3 %

Les laboratoires doivent vérifier les valeurs seuils à partir de leurs propres données^{4,5}.

Reproductibilité

Des études de reproductibilité ont été menées pour établir :

- la reproductibilité intra-journalière sur 3 sites (d'un échantillon à l'autre) ;
- la reproductibilité inter-journalière sur 3 sites (d'un jour à l'autre) ;
- la reproductibilité inter-site sur 3 sites (d'un site à l'autre) ;
- la reproductibilité inter-lot sur un seul site (d'un lot à l'autre).

La reproductibilité a été établie par trois laboratoires individuels ayant testé six échantillons en aveugle (deux négatifs pour la réorganisation, deux faiblement positifs correspondant à 1 à 3 fois la valeur seuil et deux fortement positifs qui contenaient plus de 45 % de cellules positives pour la réorganisation). L'analyse a été menée à l'aide de deux répliqués de chaque échantillon, sur cinq jours non consécutifs.

Les trois sites ont effectué des analyses intra-journalières, inter-journalières et inter-sites à l'aide du même lot de sonde, et l'un des sites a également effectué une analyse de reproductibilité inter-lot en utilisant trois lots de sonde différents.

Les résultats ont été présentés comme la concordance globale avec la classe négative prévue (pour les échantillons négatifs) et la classe positive prévue (pour les échantillons positifs).

Tableau 4a. Reproductibilité et précision de CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variable	Type d'échantillon	Concordance
Reproductibilité intra-journalière (d'un échantillon à l'autre), inter-journalière (d'un jour à l'autre) et inter-site (d'un site à l'autre)	Négatif de moelle osseuse	100 %
	Faiblement positif de moelle osseuse	35 %
	Fortement positif de moelle osseuse	100 %
Reproductibilité d'un lot à l'autre	Négatif de moelle osseuse	100 %
	Faiblement positif de moelle osseuse	33 %
	Fortement positif de moelle osseuse	100 %

Une étude de reproductibilité supplémentaire a été effectuée pour compléter les résultats faiblement positifs en utilisant deux échantillons avec différents niveaux de faible positivité (valeur seuil 2x et 4x) et deux échantillons négatifs pour établir :

- la reproductibilité intra-journalière sur un seul site (d'un échantillon à l'autre) ;
- la reproductibilité inter-journalière sur un seul site (d'un jour à l'autre) ;
- la reproductibilité inter-opérateur sur un seul site (d'un opérateur à l'autre).

La reproductibilité a été établie à l'aide d'un lot de sonde, évalué sur deux réplicats de chaque échantillon, testé pendant cinq jours non consécutifs par deux opérateurs différents.

Les résultats ont été présentés comme la concordance globale avec la classe positive prévue (pour les échantillons positifs).

Tableau 4b. Données supplémentaires à l'appui pour la reproductibilité et la précision de CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variable	Type d'échantillon	Concordance
Reproductibilité intra-journalière (d'un échantillon à l'autre), inter-journalière (d'un jour à l'autre) et inter-opérateur (d'un opérateur à l'autre)	Faiblement positif de moelle osseuse (seuil 2x)	100 %
	Faiblement positif de moelle osseuse (seuil 4x)	100 %

Performances cliniques

Pour vérifier que CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe détecte les réorganisations prévues, les performances cliniques ont été établies dans le cadre de quatre (4) études sur des échantillons représentatifs de la population à laquelle le produit est destiné : matériau résiduel fixé à l'acide 3:1 méthanol / acide acétique. Ces études présentaient une taille d'échantillon combinée de trois cent quatre-vingt-treize (393) spécimens, avec un total de vingt-huit (28) spécimens positifs et de trois cent soixante-cinq (365) spécimens négatifs. Les résultats ont été comparés à l'état connu de l'échantillon. Il a été démontré que la concordance/discordance des résultats répondait aux critères d'acceptation de cette étude. 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 (FPR) pour les signaux positifs, en utilisant une approche unidimensionnelle.

Tableau 5. Performances cliniques de CBFβ (CBFB)/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe

Variable	Résultat
Sensibilité clinique (taux de vrais positifs, TVP)*	98,76 %
Spécificité clinique (taux de vrais négatifs, TVN)*	99,52 %
Taux de faux positifs (TFP) = 1 – Spécificité*	0,48 %

Résumé de la sécurité et des performances (RSP)

Le RSP doit être mis à la disposition du public par le biais de la base de données européenne sur les dispositifs médicaux (Eudamed), où il est lié à l'IUD-ID de base. URL Eudamed : <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>
IUD-ID de base : 50558449LPH022J9

Si l'Eudamed n'est pas totalement fonctionnel, le RSP doit être mis à la disposition du public sur demande par e-mail à l'adresse SSP@ogt.com.

Informations complémentaires

Pour plus d'informations sur le produit, contacter le service d'assistance technique de CytoCell.
Tél. : +44 (0)1223 294048
Courriel : techsupport@cytoCELL.com
Site Web : www.ogt.com

Références

1. 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>

2. Döhner, et al. Blood. 2022;140(122):1345-1377.

3. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) The AGT Cytogenetics Laboratory Manual. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.

4. 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.

5. 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.

Glossaire des symboles

EN ISO 15223-1:2021 – « Dispositifs médicaux – Symboles à utiliser avec les informations à fournir par le fabricant – Partie 1 : Exigences générales » (© International Organization for Standardization)		
Symbole	Titre	Numéro(s) de référence
	fr : Fabricant	5.1.1
	fr : Représentant autorisé de la Communauté européenne / l'Union 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 : Consulter le mode d'emploi électronique ogt.com/IFU	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
	fr : Identifiant unique de dispositif	5.7.10
Symboles EDMA pour les réactifs et les composants de DIV, révision d'octobre 2009		
Symbole	Titre	Numéro(s) de référence
	fr : Contenu (ou contient)	S.O.

Brevets et marques déposées

CytoCell est une marque déposée de CytoCell Limited.



CytoCell Limited

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

Tél. : +44 (0)1223 294048

Courriel : probes@cytoCell.com

Site Web : www.ogt.com



Sysmex Europe SE

Deelböge 19 D
22297 Hamburg
ALLEMAGNE

Site Web : www.sysmex-europe.com

Historique des versions du mode d'emploi

V001 2023-10-09 : Nouveau mode d'emploi pour le règlement (UE) 2017/746

V002 2025-08-29: Suppression de la marque UKCA

V003 2025-09-09: Mise à jour de l'adresse du représentant autorisé de l'UE.

Suppression du numéro de téléphone du représentant autorisé de l'UE.

Suppression du numéro de fax d'OGT.