A Sysmex Group Company

CytoCell

Mode d'emploi

RÉF : CE-LPH 011-S / CE-LPH 011

ATM Deletion Probe

CE IVD
2797

RÉSERVÉ À UN USAGE PROFESSIONNEL

ogt.com/IFU

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

Usage prévu
CytoCell® ATM Deletion Probe est un test qualitatif non automatisé d'hybridation *in situ* par fluorescence (FISH) utilisé pour détecter les délétions chromosomiques de la région 11q22.3 sur le chromosome 11 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 lymphocytaire chronique (LLC) 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 le statut de la délétion d'*ATM* pour la prise en charge clinique.

Limitations
Ce dispositif est conçu pour détecter les pertes génomiques plus importantes que la région couverte par le clone rouge de cet ensemble de sondes, qui comprend la région *ATM* . 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 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 « 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 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 réservé à une utilisation professionnelle en laboratoire.
Le non-respect du protocole peut affecter les performances du produit et entraîner des faux positifs/négatifs.

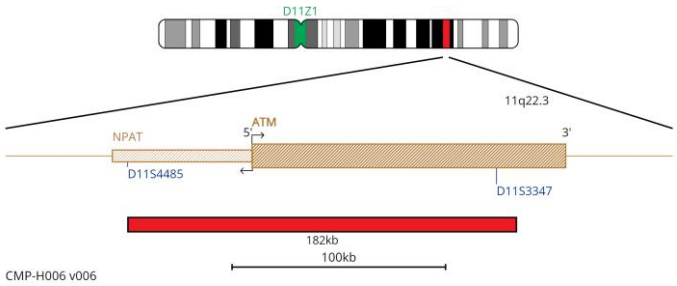
Principes du test
L'hybridation *in situ* par fluorescence (FISH) permet de détecter des séquences d'ADN sur des chromosomes en métaphase ou dans les noyaux interphasiques d'échantillons cytogénétiques fixés. Cette technique utilise des sondes ADN qui s'hybrident à des chromosomes entiers ou à des séquences 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'annelage 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 de la protéine kinase *ATM* (*ATM sérine/thréonine kinase*) situé sur 11q22.3, est souvent supprimé dans les cas de leucémie lymphocytaire chronique (LLC) à lymphocytes B. *ATM* est un gène de contrôle important impliqué dans la gestion des lésions cellulaires. Sa fonction est d'évaluer le niveau de lésion de l'ADN dans la cellule et de tenter de le réparer par phosphorylation des substrats importants impliqués dans les voies de réponse aux lésions de l'ADN[1].

La LLC-B est la leucémie de l'adulte la plus fréquente. Elle peut être très indolente ou peut progresser rapidement. En raison de la faible activité mitotique des cellules leucémiques *in vitro*, les anomalies chromosomiques clonales sont détectées dans 40 à 50 %[2] des cas par des méthodes cytogénétiques conventionnelles utilisant des mitogènes des lymphocytes B, alors que l'analyse FISH identifie les aberrations chromosomiques dans environ 80 %[2] des cas de LLC-B. Le dépistage des délétions d'*ATM* et/ou de *TP53* est vital pour formuler des choix de traitement informés pour les patients atteints de LLC-B, car les délétions de *TP53* et d'*ATM* sont associées à un pronostic plus défavorable pour cette pathologie[4]. En conséquence, la FISH s'est révélée très utile pour le diagnostic comme pour la prise en charge des patients atteints de LLC-B[2,3,4].

L'analyse de l'interaction *ATM/TP53* dans la LLC-B a montré que *TP53* et *ATM* jouent un rôle important dans la prolifération du cancer lymphoïde[1]. Il a été démontré qu'*ATM* améliore la phosphorylation de *TP53*, si l'importance de la lésion nécessite la destruction de la cellule par apoptose (médiée par *TP53*). La délétion d'*ATM* supprime cette activité de contrôle, et donc l'activation de *TP53*. En conséquence, aucune tentative de réparation n'intervient, ni aucune apoptose des cellules endommagées, malgré la présence de *TP53*. En l'absence d'*ATM*, les cellules endommagées peuvent continuer de proliférer[5].

Caractéristiques des sondes
ATM, 11q22.3, Rouge
D11Z1, 11p11.11-q11, Vert



La sonde ATM correspond à 182 kb. Elle est marquée en rouge et couvre l'extrémité télomérique du gène *NPAT* et l'extrémité centromérique du gène *ATM* juste au-delà du marqueur D11S3347. Le mélange de sondes contient également une sonde de contrôle pour le centromère 11 (D11Z1) marqué en vert.

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
1. Utilisation réservée au diagnostic *in vitro*. Exclusivement réservé à une utilisation professionnelle en laboratoire.
2. 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.
3. Le DAPI doit être manipulé avec précaution ; le port de gants et d'une blouse de laboratoire est obligatoire.
4. Ne pas utiliser si les flacons sont endommagés ou si leur contenu est altéré de quelque manière que ce soit.
5. 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 endommagé du kit de test.
6. Éliminez 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.
7. Les opérateurs doivent pouvoir distinguer les couleurs rouge, bleue et verte.
8. Le non-respect du protocole spécifié et des instructions relatives aux réactifs peut affecter les performances du produit et entraîner des faux positifs/négatifs.
9. La sonde ne doit pas être diluée ou mélangée avec d'autres sondes.
10. La non-utilisation de 10 µl de sonde durant l'étape de pré-dénaturation du protocole peut affecter les performances et entraîner des faux positifs/négatifs.
11. 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 replacement 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 :

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

Équipement en option non fourni

1. Chambre de séchage cytogénétique

Réactifs nécessaires, mais non fournis

1. Solution saline de citrate de sodium (SSC) x20
2. Éthanol à 100 %
3. Tween-20
4. Hydroxyde de sodium (NaOH) 1 M
5. Acide chlorhydrique (HCl) 1 M
6. 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]
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 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 auto-fluorescence 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

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[6].

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 volumes d'eau purifiée

Les solutions peuvent être conservées jusqu'à 6 mois à température ambiante dans un contenant hermétique.

2 x solution SSC

Diluer un volume de solution 20xSSC 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.

0,4 x solution SSC

Diluer un volume de solution 20xSSC 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.

2 x SSC, solution Tween-20 à 0,05 %

Diluer un volume de solution 20xSSC 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

1. 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.)
2. Immerger la lame dans 2xSSC pendant 2 minutes à température ambiante (TA) sans agitation.
3. Déshydrater par une série de bains d'éthanol (70 %, 85 % et 100 %), pendant 2 minutes à TA à chaque fois.
4. Laisser sécher.

Pré-dénaturation

5. Retirer la sonde du congélateur et la laisser se réchauffer à TA. Centrifuger rapidement les tubes avant utilisation.
6. 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 au 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 SSC x0,4 (pH 7,0) à 72 °C (+/- 1 °C) pendant 2 minutes sans agitation.
15. Vider la lame et l'immerger dans SSC x2 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. Appliquer une lamelle couvre-objet, éliminer les bulles d'air et laisser la couleur se développer dans le noir pendant 10 minutes.
18. Observer avec un microscope à fluorescence (voir **Recommandations relatives à la microscopie à fluorescence**).

Recommandations sur les procédures

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. 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.
4. 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.
5. Une dénaturation incomplète peut entraîner une perte de signal et une dénaturation excessive peut également entraîner une liaison non spécifique.
6. L'hybridation excessive peut entraîner des signaux supplémentaires ou inattendus.
7. Les utilisateurs doivent optimiser le protocole pour leurs propres échantillons avant d'utiliser le test à des fins diagnostiques.
8. 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

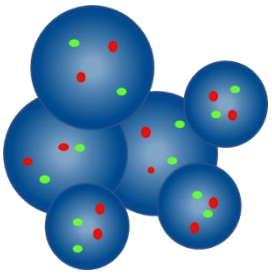
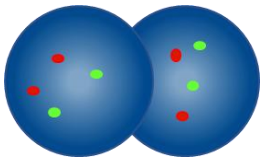
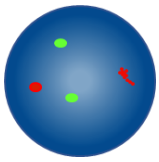
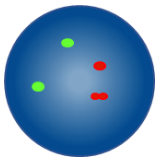
Évaluation de la qualité des lames

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.

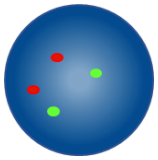
Directives d'analyse

- 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 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
- Lors de l'analyse de sondes de séparation bicolores, en cas d'espace entre les signaux rouge et vert inférieur ou égal à la largeur de 2 signaux, compter comme un signal non réorganisé/fusionné
- Lors de l'analyse de sondes de séparation tricolores, en cas d'espace entre l'un des 3 signaux (rouge, vert, bleu) inférieur ou égal à la largeur de 2 signaux, compter comme un signal non réorganisé/fusionné
- 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 et deux signaux verts, si l'un des deux signaux rouges est diffus
	Compter comme deux signaux rouges et deux signaux verts, si l'espace d'un signal rouge est inférieur à la largeur de deux signaux.

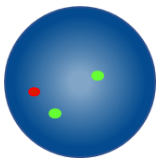
Résultats attendus

Séquence de signaux normaux attendue



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

Séquence de signaux anormaux attendue



Dans une cellule présentant une délétion d'ATM, un signal rouge et deux signaux verts (1R2V) sont attendus.

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

Interférences/substances interférentes connues

Aucune interférence/substance interférente connue.

Réactivité croisée connue

La sonde verte D11Z1 peut montrer des signaux d'hybridation croisée avec 1c, Xc et 17c.

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, veuillez le signaler au fabricant et à l'autorité nationale compétente.
Pour les incidents graves survenus dans d'autres pays, veuillez 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, vous trouverez une liste des interlocuteurs pour les questions de vigilance 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. Quatre loci chromosomiques dans chacune des vingt cellules en métaphase provenant de cinq échantillons ont été analysés, pour obtenir 400 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 d'ATM Deletion Probe

Cible	Nombre de chromosomes en métaphases hybridés	Nombre de locus correctement hybridés	Spécificité analytique	Intervalle de confiance de 95 %
11q22.3	200	200	100 %	98,12 % – 100 %
11p11.11-11q11	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. Un minimum de 100 cellules en interphase ont été analysées pour chacune des 25 suspensions cellulaires fixées provenant de la moelle osseuse et des 25 suspensions cellulaires fixées provenant de sang périphérique, donnant un minimum de 2 500 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 d'ATM Deletion Probe

Type d'échantillon	Critères de sensibilité	Résultat de sensibilité
Moelle osseuse	> 95 %	97,48 % (96,58 % à - 98,38 %)
Sang périphérique	> 95 %	96,88 % (95,60 % à - 98,16 %)

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 100 cellules en interphase ont été analysées pour chacune des 25 suspensions cellulaires fixées provenant de la moelle osseuse et des 25 suspensions cellulaires fixées provenant de sang périphérique, donnant un minimum de 2 500 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 d'ATM Deletion Probe

Type d'échantillon	Résultat seuil
Moelle osseuse	9,77 %
Sang périphérique	10,58 %

Les laboratoires doivent vérifier les valeurs seuils à partir de leurs propres données[7,8].

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).

Deux échantillons ont été utilisés pour évaluer la précision de ce produit : un échantillon négatif de moelle osseuse et un faiblement positif de moelle osseuse reconstituée créé pour tester le produit autour du seuil établi.

Pour établir la précision inter-journalière et intra-journalière, les échantillons ont été évalués sur 10 dates non consécutives, et pour établir la précision d'un lot à l'autre, trois lots du produit ont été évalués sur trois 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 d'ATM Deletion Probe

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

Performances cliniques

Pour s'assurer que le produit détecte les réorganisations prévues, les performances cliniques ont été établies à partir de trois études portant sur des échantillons représentatifs de la population à laquelle le produit est destiné : matériau fixé 3:1 méthanol / acide acétique provenant de spécimens d'origine hématologique. La taille d'échantillon de l'étude était de 27 spécimens, avec la population cible de 13 spécimens positifs et de 14 spécimens négatifs, composée de 11 échantillons de moelle osseuse négatifs, de 3 échantillons de sang périphérique négatifs, de 10 échantillons de moelle osseuse positifs et de 3 échantillons de sang périphérique positifs. La sonde a correctement identifié l'état des échantillons dans tous les cas.

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 d'ATM Deletion Probe

Variable	Résultat
Sensibilité clinique (taux de vrais positifs, TVP)	100,00 %
Spécificité clinique (taux de vrais négatifs, TVN)	100,00 %
Taux de faux positifs (TFP) = 1 – Spécificité	0,00 %

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 européennes pour 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 : 50558449LPH011J4

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, contactez le service d'assistance technique de CytoCell.
Tél. : +44 (0) 1223 294048
Courriel : techsupport@cytocell.com
Site Web : www.ogt.com

Références

1. Stankovic, *et al*. Blood. 2004;103(1):291-300.
2. Dohner, *et al*. N Eng J Med. 2000;343:1910-1916.
3. Zent, *et al*. Blood. 2010;115(21):4154-4155.
4. Rossi, *et al*. Blood. 2013;121(8):1403-1412.
5. Khanna, *et al*. Nature Genetics. 1998;20(4):398-400.
6. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
7. Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
8. Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16–23.

Glossaire des symboles

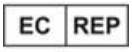
EN ISO 15223-1:2021 – « Dispositifs médicaux – Symboles à utiliser avec les informations à fournir par le fabricant – Partie 1 : Exigences générales » (© International Organization for Standardization)		
Symbole	**Titre**	**Numéro(s) de référence**
	**fr :** Fabricant	5.1.1
	**fr :** Représentant autorisé 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
 ogt.com/IFU	**fr :** Consulter les instructions électroniques	5.4.3
	**fr :** Mise en garde	5.4.4
	**fr :** Dispositif médical de diagnostic *in vitro*	5.5.1
	**fr :** Quantité suffisante pour <n> tests	5.5.5
	**fr :** Identifiant unique d'appareil	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	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 2026-10-29: Nouveau mode d'emploi pour le règlement (UE) 2017/746