



A Sysmex Group Company



Mode d'emploi

RÉF : LPH 089 / LPH 089-S

CBFB Breakpart Probe



RÉSERVÉ À UNE UTILISATION PROFESSIONNELLE



www.cytocell.com

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

Utilisation prévue

CytoCell® CBFB Breakpart Probe est un test qualitatif non automatisé d'hybridation *in situ* par fluorescence (FISH) utilisé pour détecter les réorganisations chromosomiques de la région 16q22 sur le 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'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 réorganisation de *CBFB* pour la prise en charge clinique.

Limitations

Ce dispositif est conçu pour détecter les réorganisations avec points de cassure dans la région liée par les clones rouges et verts de l'ensemble de sondes, qui comprend le gène *CBFB*. 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 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'anneauage 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

Le gène *CBFB* (sous-unité du facteur de liaison principal bêta) est situé sur 16q22, il est le plus souvent réorganisé en raison de l'inversion *inv(16)(p13.1;q22.1)* ou de la translocation *t(16;16)(p13.1;q22.1)*. Rarement, des translocations de 16q22

avec divers autres gènes partenaires ont été signalées, tandis que la suppression de la bande 16q22 a également été signalée¹.

Les leucémies myéloïdes aiguës avec *inv(16)(p13.1;q22.1)* ou *t(16;16)(p13.1;q22.1)* forment une entité pathologique reconnue selon la classification de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) des néoplasmes myéloïdes et des leucémies aiguës². Ces réorganisations sont fréquemment observées chez les patients atteints d'un sous-type myélomonocytaire avec élévation des éosinophiles de la moelle osseuse, auparavant appelées LMA de type M4Eo selon la FAB, (classification française, américaine et britannique), et on les retrouve dans 5 à 8 %² de toutes les LMA. Les cas de LMA iatrogène peuvent également présenter cette réorganisation^{2,3}.

L'inversion *inv(16)(p13.1;q22.1)* ou la translocation *t(16;16)(p13.1;q22.1)* produisent des réorganisations du gène *CBFB-MYH11* et sont classées comme groupe à risque cytogénétique favorable chez les patients atteints de LMA^{4,5,6}.

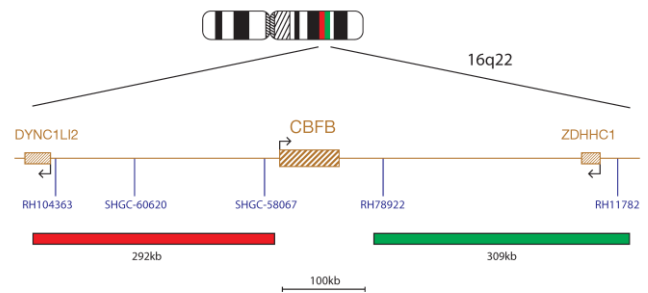
Pour l'inversion *inv(16)(p13.1;q22.1)* ou la translocation *t(16;16)(p13.1;q22.1)*, les points de cassure se produisent à l'intron 5 de *CBFB* et à l'intron 5 de *MYH11*. L'extrémité N-terminale de *CBFB* fusionne avec l'extrémité C-terminale de *MYH11* avec son domaine de multimérisation. La protéine chimérique ainsi obtenue réduit la quantité du CBF actif. Une accumulation des multimères *CBFB-MYH11/CBFA* se produit également dans le noyau. *CBFB* régule l'expression de certains facteurs d'ADP-ribosylation (ARF) et d'autres gènes suppresseurs de tumeur (GST), en conséquence, on pense que la protéine fusionnée empêche l'expression d'un GST⁴. Cette protéine de fusion s'est révélée nécessaire, mais pas exclusivement suffisante pour entraîner une leucémie, et la recherche se poursuit pour déterminer le fonctionnement de la protéine en collaboration avec *RUNX1* pour médier le signal prolifératif et le bloc de différenciation cellulaire requis pour le développement de la leucémie^{7,8}.

Caractéristiques des sondes

CBFB, 16q22, rouge

CBFB, 16q22, vert

CMP-H098 v001.00



Le mélange de sondes CBFB Breakpart Probe se compose de deux sondes distinctes. La sonde rouge (292kb) est centromérique au gène *CBFB* et s'étend au-delà du marqueur RH104363 pour couvrir une partie du gène *DYNC1L12* et comprend les marqueurs SHGC-60620 et SHGC-58067. La sonde verte (309kb) est télomérique au gène *CBFB* et s'étend à travers le marqueur RH78922 au-delà du gène *ZDHHC1* jusqu'à une région télomérique au marqueur RH11782.

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 (SSC)) 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

1. Utilisation réservée au diagnostic *in vitro*. Exclusivement réservé à un usage en laboratoire professionnel.
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 est potentiellement cancérigène. Ce produit doit être manipulé avec précaution : le port de gants et d'une blouse de laboratoire est obligatoire.
4. 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.
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 du kit de test endommagé.
6. 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.
7. Les opérateurs doivent pouvoir distinguer les couleurs rouge, bleue et verte.
8. 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.
9. La sonde ne doit pas être diluée ou mélangée avec d'autres sondes.

DS304/CE-fr v001.00/2021-10-01 (H098 v1)

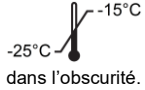
Page 1 sur 5

- 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]
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 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 lames⁹.

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 SCS 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.
- 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.
- 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 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

- 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 0,4 x SSC (pH 7,0) à 72 °C (+/- 1 °C) pendant 2 minutes sans agitation.
- Vider la lame et l'immerger dans 2 x SSC 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 de procédure

- 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 suboptimales peuvent entraîner une liaison non spécifique qui peut être interprétée de façon erronée comme un signal de la sonde.

Interprétation des résultats

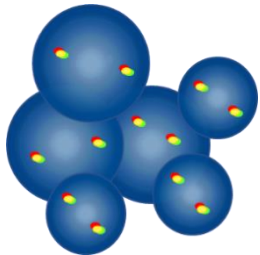
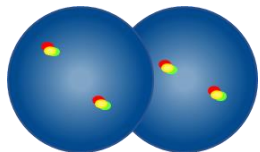
Évaluation de la qualité des lames

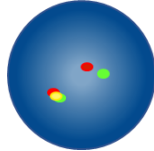
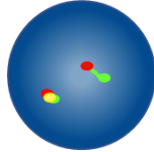
La lame ne doit pas être analysée dans les cas suivants :

- 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

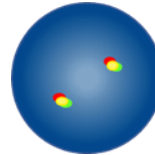
- Chaque échantillon doit être analysé et interprété par deux analystes. Toute différence doit être évaluée par un troisième analyste.
- Chaque analyste doit être qualifié conformément aux normes nationales reconnues.
- Chaque analyste doit évaluer indépendamment 100 noyaux pour chaque échantillon. Le 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 tenu 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 rouges et verts inférieure 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 deux des 3 signaux (rouge, vert, bleu) inférieure 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 fusionnés si l'espace entre les signaux rouges et verts est inférieur à la largeur de deux sondes.
	Compter comme deux signaux fusionnés si l'un des signaux de fusion est diffus.

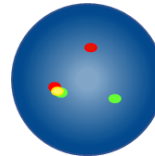
Résultats attendus

Séquence de signaux normaux attendue



Pour une cellule normale, deux signaux de fusion rouge/vert (2F) sont attendus.

Séquence de signaux anormaux attendue



Dans une cellule présentant une réorganisation CBBF, la séquence de signaux attendue correspondra à un signal de fusion, un signal rouge et un signal vert (1F1R1V).

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

Interférences/substances interférentes connus

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@oqt.com

Pour les autorités nationales compétentes en UE, une liste des points de contact de vigilance 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. 4 loci chromosomiques dans chacune des 20 cellules en métaphase provenant de 5 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 du CFBF Breakapart Probe

Cible	Nombre de chromosomes en métaphases hybridés	Nombre de locus correctement hybridés	Spécificité analytique	Intervalle de confiance de 95 %
16q22 Texas Red	200	200	100 %	98,12–100 %
16q22 FITC	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 d'échantillons 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 CFBF Breakapart Probe

Type d'échantillon	Critères de sensibilité	Résultat de sensibilité
Moelle osseuse	> 95 %	97,92 % (97,59–98,25 %)

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 d'échantillons 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 de CFBF Breakapart Probe

Type d'échantillon	Résultat seuil
Moelle osseuse	3,08 %

Les laboratoires doivent vérifier les valeurs seuils à partir de leurs propres données^{10,11}.

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).

2 échantillons ont été utilisés pour évaluer la précision de ce produit : 1 moelle osseuse négative et 1 échantillon de moelle osseuse faiblement positive.

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 CFBF Breakapart Probe

Variable	Type d'échantillon	Concordance
Reproductibilité intra-journalière (échantillon vs échantillon) et inter-journalière (jour vs jour)	Moelle osseuse négative	100 %
	Moelle osseuse faiblement positive	100 %
Reproductibilité d'un lot à un autre	Moelle osseuse négative	100 %
	Moelle osseuse faiblement positive	100 %

Performance clinique

Pour s'assurer que le produit détecte les réorganisations prévues, les performances cliniques ont été établies sur deux études rétrospectives menées sur des sites d'essais externes et sur des échantillons représentatifs de la population prévue pour le produit, en utilisant du méthanol/acide acétique 3:1 provenant d'échantillons d'origine hématologique. La taille combinée des échantillons pour les études était de 113 spécimens, dont 20 spécimens positifs et 93 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 CFBF Breakapart Probe

Variable	Résultat
Sensibilité clinique (taux de vrais positifs, TVP)	99,42 %
Spécificité clinique (taux de vrais négatifs, TVN)	99,84 %
Taux de faux positifs (TFP = 1-Spécificité)	0,16 %

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@cytozell.com

Site web : www.oqt.com

Références

- Huret JL. Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. 1999; 3(3):147-149.
- Swerdlow, et al. (eds.) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, France, 4th edition, IARC, 2017
- Hernández JM, et al. Haematologica. 2000; 85(5):481-5.
- Moreno-Miralles I, et al. J Biol Chem. 2005;280(48):40097-103.
- Grimwade D, et al. Blood. 2010;116(3):354-365.
- Litzow MR. Haematologica. 2020;105(6):1475-77.
- Rao S. Blood. 2020;136(21):2361-2362.
- Zhen T, et al. Blood. 2020;136(21):2373-2385.
- 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

**Systemex Europe GmbH**

Bornbarch 1
22848 Norderstedt
ALLEMAGNE

Tél. : +49 40 527260

Site Web : www.systemex-europe.com

Historique des versions du mode d'emploi

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