

LPA003

Probekomponenten LPA003 er en blanding av grønne og oransje direktemerkede fluorescerende DNA-prober som inneholder unike sekvenser:

- Den grønne probemiksen inneholder en 124 kb-probe og en 416 kb-probe ved 13q14.2 som dekker genene ITM2B, RB1 og RCBTB2, inkludert markørene D13S1195, D13S1155, D13S153 og D13S1218.
- Den oransje probemiksen inneholder en 348 kb-probe, en 288 kb-probe og en 106 kb-probe på 21q22.13 som strekker seg over genene DYRK1A, KCNJ6, DSCR4 og DSCR8, inkludert markørene D21S270, D21S337, D21S1238, D21S1917 og D21S341.

Medfølgende materiell

Probe: 50 µL per ampull i sett med 5 tester, 100 µL per ampull i sett med 10 tester, 300 µL per ampull i sett med 30 tester, 500 µL per ampull i sett med 50 tester.

Probekomponentene leveres forhåndsblendet i hybridiseringsløsning (<65 % formamid; <20 mg dekstranulfat; <10 % av 20x natriumklorid/natriumsitrat-oppløsning (SSC)) og er klare til bruk.

Kontrafarge: 150 µL per ampull i sett med 5 tester, 500 µL per ampull i sett med 10 tester, 1000 µL per ampull i sett med 30 tester eller 1200 µL per ampull i sett med 50 tester.

Kontrafargen er DAPI Antifade ES (0,125 µg/mL DAPI (4,6-diamidino-2-fenylindol) i glyserolbasert monteringsmedium).

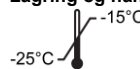
Advarsler og forsiktighetsregler

- Til in vitro-diagnostisk bruk. Kun til profesjonell laboratoriebruk.
- Operatører må sørge for at de korrekte og mest oppdaterte bruksanvisningene konsulteres og følges til enhver tid.
- Probeblandingene inneholder formamid, som er teratogent; ikke innånd damp, og unngå hudkontakt. Håndter forsiktig; bruk hansker og labfrakk.
- Håndter DAPI forsiktig; bruk hansker og labfrakk.
- Ikke bruk hvis ampullen(e) er skadet, eller hvis innholdet i ampullen er uheldig påvirket på noen måte.
- Følg lokale avfallsbestemmelser som gjelder for ditt sted, samt anbefalingene i sikkerhetsdatabladet for å bestemme sikker avfallshåndtering av dette produktet. Dette gjelder også innhold i skadde testsett.
- Alle brukte reagenser og alle andre kontaminerte engangsmaterialer skal kastes ved å følge prosedyrer for smittefarlig eller potensielt smittefarlig avfall. Det er ansvaret til ethvert laboratorium å håndtere fast og flytende avfall i henhold til deres art og farlighetsgrad og å behandle og kassere dem (eller få dem behandlet og kassert) i samsvar med gjeldende forskrifter.
- Brukerne må være i stand til å skille mellom fargene akvamarin, oransje, og grønn.
- Dersom de angitte protokollene ikke benyttes, kan utstyret og reagensene påvirke testen og føre til falske positive/negative resultater.
- Proben skal ikke fortynnes eller blandes med andre prober.
- Dersom det ikke brukes 10 µL av proben under protokolltrinnet med pre-denaturering, kan det påvirke testen og føre til falske positive/negative resultater.
- Alle produkter bør valideres før bruk.
- Internkontroll bør utføres ved å bruke upåvirkede cellepopulasjoner i testprøver.
- Det bør tas forholdsregler for å forhindre kontaminering mellom ampuller som inneholder LPA002 og LPA003.

Temperaturdefinisjoner

- 20°C / Frosset / I fryseren: -25°C til -15°C
- 37°C: +37°C ± 1°C
- 72°C: +72°C ± 1°C
- 75°C: +75°C ± 1°C
- Romtemperatur (RT): +15°C til +25°C

Lagring og håndtering:

 Settet skal oppbevares mellom -25 °C og -15 °C i fryser og kan oppbevares inntil utløpsdatoen oppgitt på settets etikett. Ampullene med probe og kontrafarge må oppbevares mørkt.

 FISH-proben, DAPI Antifade ES-motfargingen og hybridiseringsløsningen forblir stabile gjennom fryse-tine-syklusene som opplever ved normal bruk (hvor én syklus innebærer at ampullen tas ut av fryseren og settes tilbake i fryseren). **FISH-prober:** 5 sykluser for settet med 5 tester, 10 sykluser for settet med 10 tester, 30 sykluser for settet med 30 tester, 50 sykluser for settet med 50 tester. **Kontrafarge:** 10 sykluser for settet med 5 tester, 20 sykluser for settet med 10 tester, 60 sykluser for settet med 30 tester og 100 sykluser for settet med 50 tester. Eksponering for lys bør minimeres og unngås der det er mulig. Oppbevar komponentene i den lysbestandige beholderen som følger med. Komponenter som brukes og lagres under andre forhold enn de som er angitt på etiketten, fungerer kanskje ikke som forventet og kan påvirke analyseresultatene negativt. Eksponering for lys og temperaturforandringer må begrenses i størst mulig grad.

Nødvendig utstyr og materiell som ikke medfølger

Det må benyttes kalibrert utstyr:

- Varmeplate (med fast plate og nøyaktig temperaturkontroll opptil 80 °C)
- Kalibrerte mikropipetter med forskjellige tupper og for forskjellige volum i området 1–200 µL
- Vannbad med nøyaktig temperaturkontroll ved 37 °C og 72 °C
- Mikrosentrifugerør (0,5 mL)
- Fluorescensmikroskop (se avsnittet Anbefalinger for fluorescensmikroskopering)
- Fasekontrastmikroskop
- Rene Coplin-krukker av plast, keramikk eller varmeresistent glass
- Pinsett

- Kalibrert pH-måler (eller strips med pH-indikator som måler pH 6,5–8,0)
- Fuktekammer
- Immersjonsolje for fluorescensmikroskopering
- Benksentrifuge
- Objektglass
- 24x24 mm-dekkglass
- Tidtaker
- 37 °C-inkubator
- Lim (gummioppløsning)
- Vortex-blander
- Graderte sylinderglass
- Magnetrorer
- Kalibrert termometer

Valgfritt utstyr som ikke medfølger

- Cytogenetisk tørkekammer

Nødvendige reagenser som ikke medfølger

- 20x natriumklorid/natriumsitrat-oppløsning (SSC)
- 100 % etanol
- Tween-20
- 1M natriumhydroksid (NaOH)
- 1M saltsyre (HCl)
- Renset vann

Anbefalinger for fluorescensmikroskopering

Bruk en 100-watts kvikksølvlampe eller tilsvarende samt planslippede, apokromatiske objektglass 60/63x eller 100x for oljeimmersjon og optimal visualisering. Fluoroforene som benyttes i dette probesettet, eksiterer og emitterer ved følgende bølgelengder:

Fluorofor	Eksitasjon _{max} [nm]	Emisjon _{max} [nm]
Akvamarin	418	467
Grønn	495	521
Oransje	551	572

Sørg for at mikroskopet har egnede eksitasjons- og emisjonsfiltre som dekker bølgelengdespekteret angitt ovenfor.

Det tredoble båndpassfilteret DAPI/FITC/TRITC er optimalt for å se de grønne og oransje fluoroforene samt kontrafarging samtidig. Den akvamarine fluoroforen har spesifisitet for det akvamarine og DEAC-spekteret (enkeltbåndpass akvamarint eller DEAC-filter er nødvendig).

Sjekk at fluorescensmikroskopet fungerer som det skal, før det brukes. Bruk immersjonsolje som er egnet for fluorescensmikroskopering, og som er formulert for svak autofluorescens. Unngå å blande DAPI antifade i immersjonsoljen. Det gjør signalene utydelige. Følg produsentens anbefalinger når det gjelder lampens og filterenes levetid.

Prøvepreparering

Settet er designet for bruk på Carnoys løsning (3:1 metanol/eddiksyre) fikserte celler avledet fra fostervannsprøver, i opptelling av kromosom X, Y, 13, 18 og 21 i høyrisikosvangerskap der det er mistanke om Downs, Turner, Edwards eller Patau syndrom, og som er preparert iht. laboratoriets eller institusjonens retningslinjer. Innsamling av fostervannsprøver bør utføres i henhold til laboratoriets eller institusjonens retningslinjer. Prøver som virker blodige eller brune bør ikke brukes, siden de kan inneholde mors blod og kan føre til falske resultater. Forbered lufttørkede prøver på objektglass i henhold til standard cytogenetiske prosedyrer. AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* inneholder anbefalinger for prøvetaking, dyrking, høsting og prøvepreparering.¹²

Tilberedning av oppløsninger

Etanoloppløsninger

Fortynn 100 % etanol med rensset vann i følgende forhold, og bland godt:

- 70 % etanol – 7 deler 100 % etanol og 3 deler rensset vann
- 85 % etanol – 8,5 deler 100 % etanol og 1,5 deler rensset vann

Oppløsningene kan oppbevares i opptil 6 måneder ved romtemperatur i en lufttett beholder.

2xSSC-oppløsning

Fortynn 1 del 20xSSC-oppløsning med 9 deler rensset vann, og bland godt. Sjekk pH, og juster til pH 7,0 ved bruk av NaOH eller HCl etter behov. Oppløsningen kan oppbevares i opptil 4 uker ved romtemperatur i en lufttett beholder.

0,4xSSC-oppløsning

Fortynn 1 del 20xSSC-oppløsning med 49 deler rensset vann, og bland godt. Sjekk pH, og juster til pH 7,0 ved bruk av NaOH eller HCl etter behov. Oppløsningen kan oppbevares i opptil 4 uker ved romtemperatur i en lufttett beholder.

2xSSC, 0,05 % Tween-20-oppløsning

Fortynn 1 del 20xSSC-oppløsning med 9 deler rensset vann. Tilsett 5 µL Tween-20 per 10 mL, og bland godt. Sjekk pH, og juster til pH 7,0 ved bruk av NaOH eller HCl etter behov. Oppløsningen kan oppbevares i opptil 4 uker ved romtemperatur i en lufttett beholder.

FISH-protokoll

(Merk: Pass alltid på at proben og kontrafargen eksponeres minst mulig for laboratoriebelysning).

Preparering av objektglass

- 1. Legg celleprøven på et objektglass av glass. La tørke. (Valgfritt, hvis du bruker et cytogenetisk tørkekammer: For optimal celleprøvepreparering skal kammeret holde omtrent 25 °C og 50 % fuktighet. Dersom et cytogenetisk tørkekammer ikke er tilgjengelig, kan en avtrekkshette være et alternativ).
- 2. Legg objektglasset i 2xSSC i 2 minutter ved romtemperatur (RT) uten omrøring.
- 3. Dehydrer i flere etanoloppløsninger (70 %, 85 % og 100 %) ved RT, 2 minutter i hver oppløsning.
- 4. La tørke.

Pre-denaturering

- 5. Ta proben ut av fryseren, og la den nå romtemperatur. Sentrifuger rørene lett før bruk.
- 6. Bland probeløsningen med en pipette så den blir homogen.
- 7. Ta ut 10 µL av probe per test, og overfør volumet til et mikrosentrifugerør. Sett straks resterende probe tilbake i fryseren.
- 8. Forhåndsvarm proben og prøvepreparatet til 37 °C (+/- 1 °C) på en varmeplate i 5 minutter.
- 9. Legg 10 µL av probeblandingen på celleprøven, og legg et dekkglass forsiktig på. Forsegl med lim (gummioppløsning), og la limet tørke helt.

Denaturering

- 10. Denaturer prøven og proben samtidig ved å varme objektglasset på en varmeplate ved 75 °C (+/- 1 °C) i 2 minutter.

Hybridisering

- 11. Oppbevar objektglasset i en fuktig, lystett beholder ved 37 °C (+/- 1 °C) over natten.

Vasking etter hybridisering

- 12. Ta DAPI ut fra fryseren, og la den nå RT.
- 13. Fjern forsiktig dekkglasset og alle limrester.
- 14. Legg objektglasset i 0,4xSSC (pH 7,0) ved 72 °C (+/- 1 °C) i 2 minutter uten omrøring.
- 15. La oppløsningen renne av, og legg objektglasset i 2xSSC, 0,05 % Tween-20 ved RT (pH 7,0) i 30 sekunder uten omrøring.
- 16. La oppløsningen renne av, og legg 10 µL DAPI antifade på hver prøve.
- 17. Legg på et dekkglass, fjern eventuelle bobler og la fargen utvikles i mørke i 10 minutter.
- 18. Se på prøven i et fluorescensmikroskop (se **Anbefalinger for fluorescensmikroskopering**).

Prosedyreanbefalinger

- 1. Uttørkede eller gamle prøver kan gi redusert signalfluorescens.
- 2. Hybridiseringsforholdene kan bli negativt påvirket dersom det brukes andre reagenser enn de som følger med eller anbefales av Cytocell Ltd.
- 3. Bruk et kalibrert termometer til måling av temperaturen i oppløsninger, vannbad og inkubatorer siden disse temperaturene er viktige for optimal ytelse.
- 4. Konsentrasjoner, pH-verdier og temperaturer er viktige siden lav stringens kan føre til uspesifikk binding av proben og for høy stringens kan føre til manglende signal.
- 5. Ufullstendig denaturering kan føre til manglende signal og overdenaturering kan også føre til uspesifikk binding.
- 6. Overhybridisering kan føre til ekstrasingnaler eller uventede signaler.
- 7. Brukerne bør optimalisere protokollen for egne prøver før de bruker testen til diagnostiske formål.
- 8. Suboptimale forhold kan føre til uspesifikk binding som kan bli feiltolket som et probesignal.

Talking av resultater

Vurdering av objektglassets kvalitet

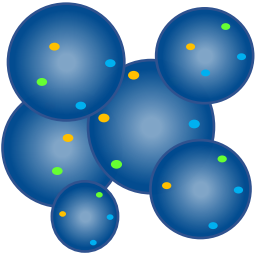
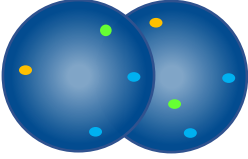
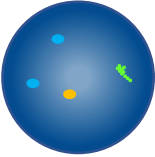
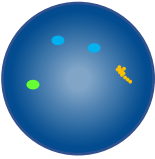
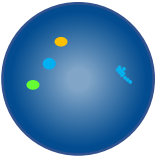
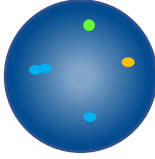
Objektglasset skal ikke analyseres dersom:

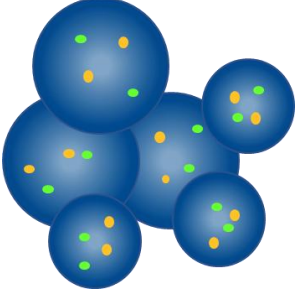
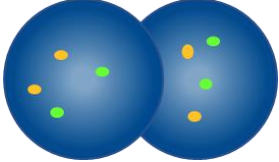
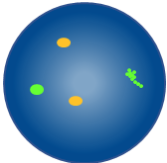
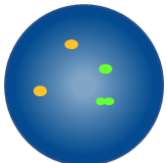
- Signalene er for svake for analysering i enkle filtre. For å kunne brukes i analyse skal signalene være klare, distinkte og enkle å evaluere
- Det er mange sammenklumpede/overlappende celler som forstyrrer analysen
- >50 % av cellene ikke er hybridisert
- Det er et overskudd av fluorescerende partikler mellom celler og/eller en fluorescerende tåke som interfererer med signalene – på optimale prøvepreparater bør bakgrunnen være jevn, og mørk eller svart
- Grensen til cellekjernen ikke kan skjelnes eller ikke er intakt

Retningslinjer for analyse

- To analytikere skal analysere og tolke hver prøve. Ved eventuell uoverensstemmelse skal det foretas en vurdering av en tredje analytiker
- Alle analytikere skal være tilstrekkelig kvalifisert i henhold til anerkjente nasjonale standarder
- Hver analytiker bør uavhengig evaluere tilstrekkelig med kjerner fra hver prøve slik at kombinerte analytikers evalueringsresultat oppfyller minimumskriteriene som spesifisert av institusjonelle, regionale eller nasjonale retningslinjer. Første analytiker bør starte analysen fra venstre side av prøven og andre analytiker fra høyre side.
- Begge analytikere skal dokumentere resultatene sine i separate dokumenter
- Analyser bare intakte kjerner, ikke analyser overlappende eller sammenklumpede kjerner eller kjerner som er dekket av cytoplasmarester eller som har høy grad av autofluorescens
- Unngå områder med mye cytoplasmarester eller uspesifikk hybridisering

- Signalintensiteten kan variere, også innenfor en enkelt kerne. I slike tilfeller skal det brukes enkeltfiltre og/eller det fokale planet skal justeres
- Ved suboptimale forhold kan signalene bli diffuse. Dersom to signaler med samme farge er i kontakt med hverandre, eller avstanden mellom dem ikke er større enn to signalbredder, eller når en svak tråd sammenkobler de to signalene, skal de regnes som ett signal
- Ved tvil om hvorvidt en celle er analyserbar eller ikke, skal den ikke analyseres

Retningslinjer for analyse – LPA002	
	Skal ikke telles – kjernene er for nære hverandre til at grensene kan bestemmes
	Overlappende kjerner skal ikke telles – ikke alle områder på de to kjernene er synlige
	Tell som ett grønt signal, ett oransje signal og to akvamarine signaler – det grønne signalet er diffust
	Tell som ett grønt signal, ett oransje signal og to akvamarine signaler – det oransje signalet er diffust
	Tell som ett grønt signal, ett oransje signal og to akvamarine signaler – ett av de to akvamarine signalene er diffust
	Tell som ett grønt signal, ett oransje signal og to akvamarine signaler – gapet i det akvamarine signalet er mindre enn to probebredder

Retningslinjer for analyse - LPA003	
	Skal ikke telles – kjernene er for nære hverandre til at grensene kan bestemmes
	Overlappende kjerner skal ikke telles – ikke alle områder på de to kjernene er synlige
	Telles som to oransje og to grønne signaler – ett av de to grønne signalene er diffuse
	Telles som to oransje og to grønne signaler – mellomrommet i ett grønt signal er mindre enn to signallbredder

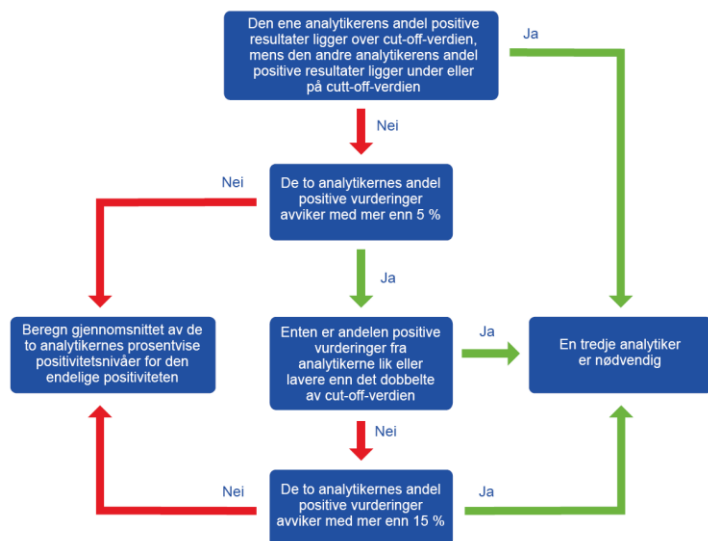
Krav til tredje analytiker

Avhengig av hvor mange unormale kjerner hver enkelt analytiker har observert, kan det være nødvendig å trekke inn en tredje analytiker. Den tredje analytikeren vil analysere det samme antallet kjerner som de to første analytikerne, som spesifisert av institusjonelle, regionale eller nasjonale retningslinjer. Retningslinjene for en tredje analytiker er skissert i teksten og flytskjemaet nedenfor.

En tredje analytiker er nødvendig hvis:

- Den ene analytikerens andel positive vurderinger ligger over cut-off, mens den andre analytikerens andel positive vurderinger ligger under eller på cut-off.
- De to analytikernes andel positive resultater avviker med mer enn 5 %, og andelen positive resultater for begge analytikerne er lik eller lavere enn det dobbelte av cut-off.
- De to analytikernes prosentvise positivitetsvurderinger skiller seg med mer enn 15 %.

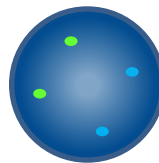
Av de tre oppnådde poengsummene, vil de to nærmeste positive prosentverdiene bli gjennomsnittet for den endelige positiviteten. Dersom de 3 verdiene er like langt fra hverandre, skal den positive medianverdien brukes.



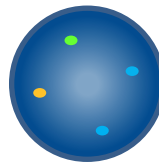
Forventede resultater

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Forventet mønster av normale signaler

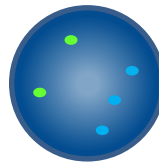


I en normal kvinnelig celle forventes to grønne og to akvamarine signaler (2G2A).

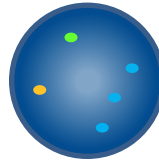


I en normal mannlig celle forventes ett grønt, ett oransje og to akvamarine signaler (1G1O2A).

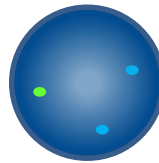
Forventet mønster av unormale signaler



I en kvinnelig celle med trisomi 18 vil det forventede signalmønsteret være to grønne signaler og tre akvamarine signaler (2G3A).



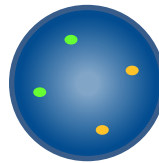
I en hanncelle med trisomi 18 vil det forventede signalmønsteret være ett grønt signal, ett oransje signal og tre akvamarine signaler (1G1O3A).



I en celle med Turners syndrom vil det forventede signalmønsteret være ett grønt signal og to akvamarine signaler (1G2A).

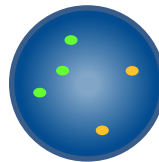
LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Forventet mønster av normale signaler

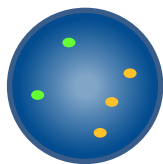


I en normal celle forventes to grønne og to oransje signaler (2G2O).

Forventet mønster av unormale signaler



I en celle med trisomi 13 vil det forventes tre grønne og to oransje signaler (3G2O).



I en celle med trisomi 21 vil det forventes to grønne og tre oransje signaler (2G3O).

Andre signalmønstre er mulige for aneuploide/ubalanserte prøver.

Kjente relevante interferenser / interfererende stoffer

Ingen kjente relevante interferenser / interfererende stoffer.

Kjente kryssreaksjoner

DXZ1-proben kan vise krysshybridisering til sentromerene til kromosomene 1, 11, 17 og Y.

DYZ3-proben kan vise krysshybridisering til centromerene til kromosom 13, 14, 15, 20, 21, 22 og X.

D18Z1-proben kan vise krysshybridisering til sentromerene i kromosomene 2, 4, 8, 9, 13, 14, 15, 20, 21 og 22.

Rapportering av alvorlige hendelser

Hvis pasienten/brukeren/tredjeparten er etablert i EU og i land med identisk reguleringsregime (forordning (EU) 2017/746 om in vitro diagnostisk medisinsk utstyr) og det oppstår en alvorlig hendelse under bruken av dette utstyret eller som følge av dets bruk, skal dette rapporteres til produsenten og til din nasjonale kompetente myndighet.

For alvorlige hendelser i andre land, vennligst rapporter det til produsenten og, hvis aktuelt, til din nasjonale kompetente myndighet.

Produsentkontakt: vigilance@ogt.com

Det finnes en liste over kontaktpunkter til nasjonale kompetente myndigheter i EU på:

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

Spesifikke analysekarakteristika

Analytisk spesifisitet

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Analytisk spesifisitet er definert som prosentandelen signaler som viser hybridisering til korrekt locus og ingen annen lokasjon. Det ble analysert 4 kromosomale lokuser i hver av 20 metafaseceller fra 5 prøver, noe som ga 100 datapunkter for både kromosom X og Y og 200 datapunkter for kromosom 18. Plasseringen av hver hybridisert probe ble kartlagt, og antall FISH-signaler fra kromosomer i metafase som hybridiserte til riktig locus ble registrert.

Den analytiske spesifisiteten til hver probe i settet ble beregnet som antall FISH-signaler fra kromosomer i metafase hybridisert til riktig locus delt på det totale antallet FISH-signaler fra hybridiserte kromosomer i metafase. Dette resultatet ble uttrykt som en prosentandel med et 95 % konfidensintervall.

Tabell 1. Analytisk spesifisitet for LPA002 Prenatal X, Y, and 18 Enumeration Probe

Mål	Antall hybridiserte metafasekromosomer	Antall korrekt hybridiserte loci	Analytisk spesifisitet	95 % konfidensintervall
Xp11.1-q11.1	100	100	100 %	96,30 - 100 %
Yp11.1-q11.1	100	100	100 %	96,30 - 100 %
18p11.1-q11.1	200	200	100 %	98,12 - 100 %

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Analytisk spesifisitet er definert som prosentandelen signaler som viser hybridisering til korrekt locus og ingen annen lokasjon. I 20 metafaseceller fra 5 prøver ble det analysert 4 kromosomloci i hver celle, hvilket tilsvarer 200 datapunkter hver for kromosom 13 og 21. Plasseringen av hver hybridisert probe ble kartlagt, og antall FISH-signaler fra kromosomer i metafase som hybridiserte til riktig locus ble registrert.

Den analytiske spesifisiteten til hver probe i settet ble beregnet som antall FISH-signaler fra kromosomer i metafase hybridisert til riktig locus delt på det totale antallet FISH-signaler fra hybridiserte kromosomer i metafase. Dette resultatet ble uttrykt som en prosentandel med et 95 % konfidensintervall.

Tabell 2. Analytisk spesifisitet for LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Mål	Antall hybridiserte metafasekromosomer	Antall korrekt hybridiserte loci	Analytisk spesifisitet	95 % konfidensintervall
13q14.2	200	200	100 %	98,12 - 100 %
21q22.1	200	200	100 %	98,12 - 100 %

Analytisk sensitivitet

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Analytisk sensitivitet er prosentandelen interfase-celler som kan gis en score og som har det forventede normale signalmønsteret. Det ble analysert minst 50 celler i interfase for hver av de 25 fiksert cellessuspensjonene fra fostervannsprøver fra menn med normal karyotype og 25 kvinner med normal karyotype som ble ansett å ha et normalt antall kromosom 18, noe som resulterte i at det totalt ble vurdert minst 2500 kjerner. Sensitivitetsdataene ble analysert på bakgrunn av prosentandelen celler som viste et normalt forventet signalmønster, og ble uttrykt som en prosentandel med 95 % konfidensintervall.

Tabell 3. Analytisk sensitivitet for LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Prøvetype	Sensitivitetskriterier	Sensitivitetsresultater
Fostervann	>95 %	95,99 % (95,15–96,69 %)

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Analytisk sensitivitet er prosentandelen interfase-celler som kan gis en score og som har det forventede normale signalmønsteret. Det ble analysert minst 50 celler i interfase for hver av de 25 fiksert cellessuspensjonene fra fostervannsprøver fra menn eller kvinner med normal karyotype, som ble ansett å ha et normalt antall kromosomer 13 og 21, noe som resulterte i at minst 1250 kjerner ble vurdert for hver prøvetype. Sensitivitetsdataene ble analysert på bakgrunn av prosentandelen celler som viste et normalt forventet signalmønster, og ble uttrykt som en prosentandel med 95 % konfidensintervall.

Tabell 4. Analytisk sensitivitet for LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Prøvetype	Sensitivitetskriterier	Sensitivitetsresultater
Fostervann	>95 %	96,24 % (94,84 %–97,64 %)

Karakterisering av normale cut-off-verdier

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Normal cut-off er definert som prosentandelen celler som viser et falskt positivt signalmønster som hos et individ ville betraktes som normalt og ikke i samsvar med en klinisk diagnose. Det ble analysert minst 50 celler i interfase for hver av de 25 fiksert cellessuspensjonene fra fostervannsprøver fra menn med normal karyotype og 25 kvinner med normal karyotype som ble ansett å ha et normalt antall kromosom 18, noe som resulterte i at det totalt ble vurdert minst 2500 kjerner.

Cut-off-verdien ble bestemt ved hjelp av den β -inverte (BETAINV)-funksjonen i MS Excel. Den ble beregnet som prosentandelen interfaseceller som viser et falskt positivt signalmønster, ved bruk av øvre grense av et ensidig 95 % konfidensintervall for den binomiske fordelingen i en normal prøve fra en pasient.

Tabell 5. Karakterisering av normale cut-off-verdier for LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Prøvetype	Signalmønster	Cut-off-resultat
Fostervann	1G1O3A	11,62 %
	2G3A	8,97 %
	1G2A	13,98 %

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Normal cut-off er definert som prosentandelen celler som viser et falskt positivt signalmønster som hos et individ ville betraktes som normalt og ikke i samsvar med en klinisk diagnose. Det ble analysert minst 50 celler i interfase for hver av fostervannssuspensjonene fra 25 menn eller kvinner med normal karyotype, noe som resulterte i at minst 1250 kjerner ble vurdert for hver prøvetype.

Cut-off-verdien ble bestemt ved hjelp av den β -inverte (BETAINV)-funksjonen i MS Excel. Den ble beregnet som prosentandelen interfaseceller som viser et falskt positivt signalmønster, ved bruk av øvre grense av et ensidig 95 % konfidensintervall for den binomiske fordelingen i en normal prøve fra en pasient.

Tabell 6. Karakterisering av normale cut-off-verdier for LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Prøvetype	Signalmønster	Cut-off-resultat
Fostervann	2G3O	8,97 %
	3G2O	

Laboratorier må verifisere cut-off-verdier ved bruk av egne data.^{13,14}

Presisjon

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Presisjonen til dette produktet ble målt som presisjon samme dag (prøve-til-prøve), presisjon mellom dager (dag-til-dag) og presisjon mellom batcher på samme sted (batch-til-batch).

Tre (3) prøver ble brukt for å vurdere nøyaktigheten til dette produktet: 1 normal mannlig fostervannsprøve ansett som XY og med et normalt komplement av kromosom 18, 1 normal kvinnelig fostervannsprøve ansett som XX og med et normalt komplement av kromosom 18, og 1 lavt positivt kvinnelig trisomi 18 fostervannsprøve.

Presisjon mellom dager og intradag ble evaluert ved å teste prøver i triplikat over 10 ikke-påfølgende dager. Presisjon fra batch til batch ble evaluert ved å teste tre

uavhengige produktbatcher i triplikat med de samme prøvene. Resultatene ble uttrykt som generell samsvar med den forventede klassifiseringen (positiv eller negativ).

Tabell 7. Reproduserbarhet og presisjon for LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Variabel	Prøvetype	Samsvar
Intradag	Negativt kvinnelig i fostervann	100,0 %
	Kvinnelig trisomi 18 i fostervann	90,0 %
Inter-dag	Negativt kvinnelig i fostervann	100,0 %
	Kvinnelig trisomi 18 i fostervann	90,0 %
	Negativt mannlig i fostervann	100,0 %
Forskjellige batcher	Negativt kvinnelig i fostervann	100,0 %
	Kvinnelig trisomi 18 i fostervann	100,0 %
	Negativt mannlig i fostervann	100,0 %

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Presisjonen til dette produktet ble målt som presisjon samme dag (prøve-til-prøve), presisjon mellom dager (dag-til-dag) og presisjon mellom batcher på samme sted (batch-til-batch).

Tre (3) prøver ble brukt for å vurdere nøyaktigheten til dette produktet: 1 normal fostervannsprøve som ble vurdert å ha et normalt kromosomsett for kromosom 13 og 21, 1 fostervannsprøve med lavt positivt resultat for trisomi 13 og 1 fostervannsprøve med lavt positivt resultat for trisomi 21.

Presisjon mellom dager og intradag ble evaluert ved å teste prøver i triplikat over 10 ikke-påfølgende dager. Presisjon fra batch til batch ble evaluert ved å teste tre uavhengige produktbatcher i triplikat med de samme prøvene. Resultatene ble uttrykt som generell samsvar med den forventede klassifiseringen (positiv eller negativ).

Tabell 8. Reproduserbarhet og presisjon for LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Variabel	Prøvetype	Samsvar
Fra prøve til prøve («intra-day») og fra dag til dag («inter-day»)	Negativ fostervann	100,0 %
	Fostervann svakt positiv trisomi 13	100,0 %
	Fostervann svakt positiv trisomi 21	96,7 %
Forskjellige batcher	Negativ fostervann	88,9 %
	Fostervann svakt positiv trisomi 13	100,0 %
	Fostervann svakt positiv trisomi 21	100,0 %

Klinisk ytelse

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

For å sikre at Prenatal X, Y og 18 Enumeration Probe oppdager de tiltenkte omorganiseringene, ble den kliniske ytelsen fastslått gjennom én studie på representative prøver fra målgruppen for produktet: Resterende 3:1 metanol/eddiaksyrefiksert materiale fra prenatale fostervannsprøver. Utvalgsstørrelsen for studien var 71 prøver, med en populasjon på 3 positive prøver med trisomi 18, 2 positive prøver med monosomi X og 66 negative prøver. Alle prøvene ble anonymisert og randomisert for å unngå skjevheter i analysen. Resultatene ble deretter sammenlignet med prøvens kjente status. Proben identifiserte prøvenes status korrekt i alle tilfeller.

Resultatene av disse testene ble analysert for å bestemme verdier for klinisk sensitivitet, klinisk spesifisitet og falskt positiv-rate (FPR) for positive signaler, ved bruk av en endimensjonal metode.

Tabell 9. Klinisk ytelse for Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Variabel	Resultat
Klinisk sensitivitet (sann positiv rate, TPR)	100,0 %
Klinisk spesifisitet (sann negativ rate, TNR)	100,0 %
Falsk positiv rate (FPR) = 1 – Spesifisitet	0,0 %

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

2:For å sikre at Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe påviser de korrekte omgrupperingene, ble den kliniske ytelsen bestemt over tre studier ved bruk av representative prøver fra den tiltenkte populasjonen for produktet: Resterende 3:1 metanol/eddiaksyrefiksert materiale fra prenatale fostervannsprøver. Prøvestørrelsen for studien var 172 prøver, med en populasjon på 15 trisomi 13 positive og 157 trisomi 13 negative prøver, og totalt 109 trisomi 21 positive og 63 trisomi 21 negative prøver. Resultatene ble deretter sammenlignet med prøvens kjente status. Proben identifiserte prøvenes status korrekt i alle tilfeller.

Resultatene av disse testene ble analysert for å bestemme verdier for klinisk sensitivitet, klinisk spesifisitet og falskt positiv-rate (FPR) for positive signaler, ved bruk av en endimensjonal metode.

Tabell 10. Klinisk ytelse for Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Variabel	Resultat
Klinisk sensitivitet (sann positiv rate, TPR)	100,0 %
Klinisk spesifisitet (sann negativ rate, TNR)	100,0 %
Falsk positiv rate (FPR) = 1 – Spesifisitet	0,0 %

Sammendrag av sikkerhet og ytelse (SSP)

SSP skal gjøres tilgjengelig for allmennheten via den europeiske databasen for medisinsk utstyr (Eudamed), der SSP-en er knyttet til den grunnleggende UDI-DI. Eudamed URL: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> Grunnleggende UDI-DI: 50558449LPA001GG

Hvis Eudamed ikke er fullt ut funksjonell, skal SSP gjøres tilgjengelig for allmennheten på forespørsel ved å sende e-post til SSP@ogt.com.

Ytterligere informasjon

Ytterligere produktinformasjon kan fås ved å kontakte CytoCell Technical Support Department.
T: +44 (0)1223 294048
E: techsupport@cytoCELL.com
W: www.ogt.com

Referanser

- Alliance G, (2010). Chromosomal Abnormalities [Internet]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK132134/>.
- Dey M, et al., (2013). Prenatal screening methods for aneuploidies. North American Journal of Medical Sciences .
- Antonarakis SE, Strydom A., (2020). Down Syndrome. Nature Reviews Disease Primers. .
- Orphanet: Down syndrome [Internet]. www.orpha.net. Tilgjengelig fra: <https://www.orpha.net/en/disease/detail/870>.
- Orphanet: Trisomy 13 [Internet]. www.orpha.net. Tilgjengelig fra: <https://www.orpha.net/en/disease/detail/3378>.
- Pyle AK, et al. (2025) Guidance for Caring for Infants and Children With Trisomy 13 and Trisomy 18: Clinical Report. PEDIATRICS. .
- Balasundaram P, et al. (2023). Edwards syndrome. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan–. Oppdatert 15. februar 2025. Tilgjengelig fra: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570597/>.
- Shankar Kikkeri N, et al. (2023). Turners Syndrome; Tilgjengelig fra: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554621/>.
- Best Practice Guidelines (2024). The Association for Clinical Genomic Science (ACGS). Cytogenetics Constitutional Guidelines.
- NHS England - National genomic test directory for rare and inherited disease. Tilgjengelig fra: <https://www.england.nhs.uk/publication/national-genomic-test-directories/>
- Silva M. et al. (2019) European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. European Journal of Human Genetics.
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc. References
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Dyke 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.

NS-EN ISO 15223-1:2021 – «Medisinsk utstyr – Symboler til bruk med informasjon som skal leveres av produsenten – Del 1: Generelle krav» (© International Organization for Standardization)		
Symbol	Tittel	Referansenummer
	no: Produsent	5.1.1
	no: Autorisert representant i Det europeiske fellesskap / Den europeiske union	5.1.2
	no: Brukes innen- dato	5.1.4
	no: Batchkode	5.1.5
	no: Katalognummer	5.1.6
	no: Oppbevares beskyttet mot sollys	5.3.2
	no: Temperaturgrense	5.3.7
	no: Les bruksanvisningen	5.4.3
 ogt.com/IFU	no: Les den elektroniske bruksanvisningen	5.4.3
	no: Forsiktig	5.4.4
	no: Medisinsk utstyr til in vitro-diagnostikk	5.5.1
	no: Innholdet rekker til <n> tester	5.5.5
	no: Unik enhetsidentifikator	5.7.10
EDMA-symboler for IVD-reagenser og -komponenter, revisjon oktober 2009		
Symbol	Tittel	Referansenummer
	no: Innhold (eller inneholder)	N/A

Patenter og varemerker

CytoCell er et registrert varemerke for CytoCell Limited.



Cytocell Limited
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
STORBRITANNIA

T: +44 (0)1223 294048
E: probes@cytoCell.com
W: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Deelböge 19 D
22297 Hamburg
TYSKLAND

Nettsted: www.sysmex-europe.com

IFU versjonshistorikk

V001 2026-03-09: Ny bruksanvisning for forordning (EU) 2017/746