



A Sysmex Group Company



Gebruiksaanwijzing

REF: CE-LPA 003-S / CE-LPA 003

Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit



ALLEEN VOOR PROFESSIONEEL GEBRUIK



Meer informatie en andere talen zijn beschikbaar via ogt.com/IFU

Gebruiksdoel

De CytoCell® Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit is een kwalitatieve, niet-geautomatiseerde, fluorescentie-*in-situ*hybridisatietest (FISH) die wordt gebruikt voor het detecteren van het chromosoomgebied 13q14.2 en chromosoomgebied 21q22.1 in cellen gefixeerd in Carnoy's oplossing (3:1 methanol/azijnzuur) en verkregen uit vruchtwatermonsters, in enumeratiechromosomen 13 en 21 bij zwangerschappen met een hoog risico en een vermoeden op Syndroom van Down of Patau.

Gebruiksaanwijzing

Dit product is ontworpen als aanvulling op andere klinische en laboratoriumtests in erkende diagnostische en klinische zorgtrajecten, zoals echoscopische screening en biochemische tests, waarbij het voor de klinische behandeling van belang is om de status van het kopienummer van chromosoomgebied 13q14.2 en chromosoomgebied 21q22.1 te weten.

Beperkingen

Dit hulpmiddel is ontworpen om chromosomaal materiaal te detecteren, waaronder chromosoomgebieden 13q14.2 en 21q22.1, die worden beslaan door respectievelijk de groene en oranje klonen in deze sondeset. Genoomgains of -verliezen buiten deze gebieden, of gedeeltelijke gains of verliezen van deze gebieden worden mogelijk niet gedetecteerd door dit hulpmiddel.

Dit hulpmiddel is niet bedoeld voor: gebruik als enig of aanvullend diagnostisch criterium, populatiegebaseerde screening, 'near patient' tests of zelftests en is niet gevalideerd voor monstertypes, ziektypen of doeleinden die niet worden gespecificeerd in het gebruiksdoel.

Dit hulpmiddel is bedoeld als aanvulling op andere diagnostische laboratoriumtests en er mag geen therapeutische actie worden ondernomen op basis van enkel het FISH-resultaat.

De rapportage en interpretatie van FISH-resultaten moet worden uitgevoerd door gekwalificeerd personeel, consistent zijn met professionele praktijknormen en er moet rekening worden gehouden met andere relevante testresultaten en klinische en diagnostische informatie.

Dit hulpmiddel is alleen voor professioneel gebruik in laboratoria

De prestaties van het hulpmiddel worden mogelijk beïnvloed als het protocol niet wordt opgevolgd. Dit kan ook leiden tot fout-positieve/negatieve resultaten.

Testprincipes

Fluorescentie-*in-situ*hybridisatie (FISH) is een techniek waarmee DNA-sequenties kunnen worden gedetecteerd op metafase chromosomen of in interfase nuclei van gefixeerde cytogenetische monsters. De techniek maakt gebruik van DNA-sondes die hybridiseren tot gehele chromosomen of enkele unieke sequenties en is een krachtige aanvulling op cytogenetische analyse met G-banding. Deze techniek kan nu worden toegepast als essentieel onderzoekshulpmiddel voor prenatale en hematologische chromosoomanalyse en chromosoomanalyse van solide tumoren. Doel-DNA is, na fixatie en denaturatie, beschikbaar voor vasthechting aan een soortgelijk gedenatureerde en fluorescent gelabelde DNA-sonde, die een

complementaire sequentie bevat. Na de hybridisatie worden niet-gebonden en niet-specifiek gebonden DNA-sondes verwijderd en wordt het DNA tegengekleurd ter visualisatie. Fluorescentiemicroscopie maakt vervolgens de visualisatie van de gehybridiseerde sonde op het doelmateriaal mogelijk.

Sonde-informatie

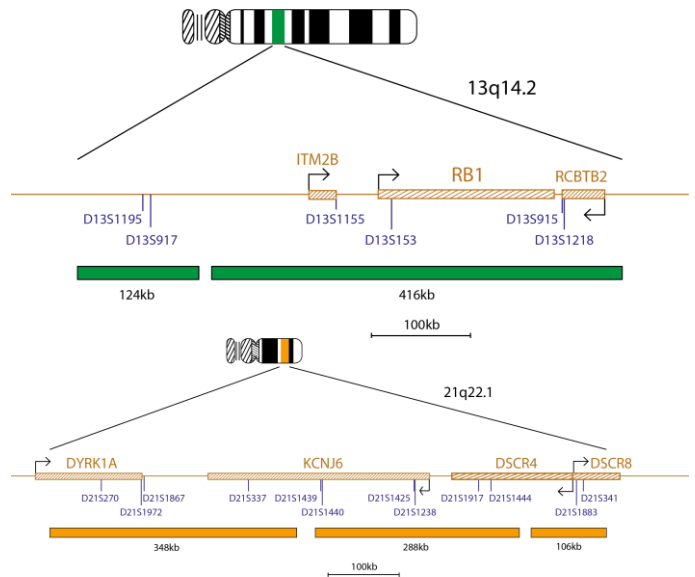
Down Syndroom (DS) is een autosomale trisomie veroorzaakt door de aanwezigheid van een derde (gehele of gedeeltelijke) kopie van chromosoom 21 en gaat gepaard met variabele intellectuele beperking, musculaire hypotonie en gewrichtsluxatie, en wordt vaak in verband gebracht met karakteristieke gezichts-dysmorfie en verschillende afwijkingen zoals hart-, gastro-intestinale, neurosensorische of endocriene defecten^{1,2}. DS is wereldwijd een van de belangrijkste oorzaken van intellectuele beperking. Daarnaast hebben deze patiënten te maken met verschillende gezondheidsproblemen waaronder leer- en geheugenproblematiek, aangeboren hartziekten (CHD), de ziekte van Alzheimer (AD), leukemie, kanker en de ziekte van Hirschsprung (HD)¹. DS heeft een hoge genetische complexiteit en fenotype variabiliteit¹. Bij een zwangerschap van 16 weken heeft 1 op de 1050 moeders van 20 jaar, 1 op 620 moeders van 30 jaar en 1 op 70 moeders van 40 jaar te maken met DS³.

Het Patau-syndroom (PS) is een chromosomale afwijking veroorzaakt door de aanwezigheid van een extra chromosoom 13 en wordt gekenmerkt door misvormingen in de hersenen (holoprosencephalie), gezichts-dysmorfie, oculaire anomalieën, postaxiale polydactylie, viscerale misvormingen (cardiopathie) en ernstige psychomotorische retardatie². PS wordt in verband gebracht met fenotypische holoprosencephalie en afwijkingen van de middellijnfusie als gevolg van een gebrekkige fusie van het prechordale mesoderm in de embryonale fase⁴. Bij een zwangerschap van 16 weken heeft 1 op de 11.000 moeders van 20 jaar, 1 op 6500 moeders van 30 jaar en 1 op de 700 moeders van 40 jaar te maken met PS³.

Sondespecificatie

13 unieke sequentie, 13q14.2 groen

21 unieke sequentie, 21q22.1 oranje



De groene sondemix bevat een 124kb-sonde en een 416kb-sonde die de *ITM2B*, *RB1* en *RCBTB2*-genen beslaat. De oranje sondemix beslaat een gebied op 21q22.1 van het *DYRK1A*-gen tot het *DSCR8*-gen.

Geleverde materialen

Sonde: 50 µl per buisje (5 tests) of 100 µl per buisje (10 tests).

De sondes worden gemengd geleverd in een hybridisatieoplossing (< 65% formamide; < 20 mg dextraansulfaat; < 10% van 20x zout-natriumcitraat (SSC)) en zijn klaar voor gebruik.

Tegenkleuring: 150 µl per buisje (15 tests)

De tegenkleuring is DAPI Antifade ES (0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenylindool) in een inbedmiddel op basis van glycerol).

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

1. Voor *in-vitro*diagnostiek. Alleen voor professioneel gebruik in laboratoria.
2. De sondemengsels bevatten formamide. Dit is een teratogeen; vermijd het inademen van de dampen en huidcontact. Wees voorzichtig; draag handschoenen en een labjas.
3. Voorzichtigheid is geboden met de DAPI; draag handschoenen en een labjas.
4. Niet gebruiken als de buisjes zijn beschadigd of als de inhoud van de buisjes op wat voor manier dan ook is aangetast.
5. Houd u aan uw lokale regelgeving en raadpleeg de aanbevelingen in het veiligheidsinformatieblad om te bepalen hoe u dit product veilig kunt afvoeren. Dit geldt ook voor de inhoud van beschadigde testsets.
6. Voer alle gebruikte reagentia en alle overige besmette wegwerpmaterialen af volgens de procedures voor (mogelijk) infectieus afval. Elk laboratorium is ervoor verantwoordelijk dat vast en vloeibaar afval wordt verwerkt in overeenstemming met de desbetreffende eigenschappen en de mate van

gevaar die ze vormen en om ze te behandelen en af te (laten) voeren in overeenstemming met alle geldende wet- en regelgeving.

7. Gebruikers moeten de kleuren rood, blauw, en groen kunnen onderscheiden.
8. De prestaties van het hulpmiddel worden mogelijk beïnvloed als het beschreven protocol niet wordt opgevolgd en de voorgeschreven reagentia niet worden gebruikt. Dit kan ook leiden tot fout-positieve/negatieve resultaten.
9. De sonde moet niet worden verdund of gemengd met andere sondes.
10. De prestaties worden mogelijk beïnvloed als er geen sonde van 10 µl wordt gebruikt tijdens het pre-denaturatiestadium van het protocol. Dit kan ook leiden tot fout-positieve/negatieve resultaten.
11. Alle producten moeten voor gebruik worden gevalideerd.
12. Er dienen interne inspecties plaats te vinden met gebruik van gezonde celpopulaties in testmonsters.

Temperatuurdefinitie

- -20 °C / Bevroren / In de vriezer: -25 °C tot -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Kamertemperatuur (KT): +15 °C tot +25 °C

Opslag en beheer

De set moet worden bewaard in een vriezer bij -25 °C tot -15 °C tot de vervaldatum die is aangegeven op het setlabel. De sonde en buisjes met tegenkleuring moeten in het donker worden bewaard.



De FISH sonde, DAPI Antifade ES-tegenkleuring, en hybridisatieoplossing blijven stabiel gedurende de gehele vries-dooi-cyclus die bij normaal gebruik wordt ervaren (waarbij een cyclus bestaat uit het verwijderen van het buisje uit en vervangen in de vriezer)- 5 cycli voor het 50 µl (5 tests) buisje van de FISH sonde, 10 cycli voor het 100 µl (10 tests) buisje van de FISH sonde en 15 cycli voor het 150 µl (15 tests) buisje van tegenkleuring. Blootstelling aan licht dient zoveel mogelijk te worden vermeden. Bewaar de componenten in de bijgeleverde lichtdichte doos. Componenten die onder andere omstandigheden dan vermeld op het etiket worden gebruikt en opgeslagen, presteren mogelijk niet zoals verwacht en kunnen de testresultaten negatief beïnvloeden. Voorkom onnodige blootstelling aan licht en temperatuurschommelingen.

Benodigde maar niet meegeleverde materialen

Benodigde gekalibreerde apparatuur:

1. Verwarmingsplaat (met een vaste plaat en nauwkeurige temperatuurbediening tot maximaal 80 °C)
2. Gekalibreerde micropipetten en tips met variabel volume van 1 µl - 200 µl
3. Waterbad met nauwkeurige temperatuurbediening op 37 °C en 72 °C
4. Microcentrifugebuisjes (0,5 ml)
5. Fluorescentiemicroscop (zie de paragraaf Aanbevelingen fluorescentiemicroscop)
6. Fasecontrastmicroscop
7. Schone Coplin-potjes van plastic, keramiek of hittebestendig glas
8. Tang
9. Gekalibreerde pH-meter (of pH-indicatorstrips die pH 6,5 - 8,0 kunnen meten)
10. Bevochtigde container
11. Immersie-olie van fluorescentieniveau voor microscoplenzen
12. Werkbladcentrifuge
13. Objectglasjes
14. Afdekglasjes van 24x24 mm
15. Timer
16. 37 °C-incubator
17. Rubberen lijmplossing
18. Vortexmenger
19. Maatcilinders
20. Magneetroerder
21. Gekalibreerde thermometer

Optionele maar niet meegeleverde apparatuur

1. Cytogenetische droogkamer

Benodigde maar niet meegeleverde reagentia

1. 20x SSC-oplossing (zout-natriumcitraat)
2. 100% ethanol
3. Tween-20
4. 1M natriumhydroxide (NaOH)
5. 1M zoutzuur (HCl)
6. Gezuiverd water

Aanbevelingen fluorescentiemicroscop

Gebruik een kwiklamp van 100 W of gelijkwaardig en planapochromatische objectieven voor olie-immersie van 60/63x of 100x voor optimale visualisatie. De fluoroforen die in deze sondeset worden gebruikt, worden geëxciteerd en uitgezonden bij de volgende golf lengtes:

Fluorofoor	Excitatie _{max} [nm]	Emissie _{max} [nm]
Groen	495	521
Oranje	551	572

Zorg ervoor dat de juiste excitatie- en emissiefilters die de bovenstaande golf lengtes beslaan op de microscoop worden aangebracht. Het drievoudige bandpassfilter DAPI/FITC/TRITC is optimaal voor het gelijktijdig bekijken van de

groene en oranje fluoroforen en de tegenkleuring. Het drievoudige bandpassfilter DAPI/FITC/Texas Red kan ook worden gebruikt om beide fluoroforen en DAPI tegelijkertijd te bekijken.

Controleer de fluorescentiemicroscop voorafgaand aan gebruik op een juiste werking. Gebruik immersie-olie die geschikt is voor fluorescentiemicroscopie en is geformuleerd voor lage automatische fluorescentie. Vermijd het mengen van DAPI Antifade met microscopimmersie-olie, omdat dit signalen kan verstoren. Volg de richtlijnen van de fabrikant wat betreft de levensduur van de lamp en de filters.

Monstervoorbereiding

De set is ontworpen voor gebruik op met Carnoy's oplossing (3:1 methanol/azijnzuur) gefixeerde cellen, verkregen uit vruchtwatermonsters, in enumeratiechromosomen 13 en 21 in zwangerschappen met een hoog risico op en vermoeden van Down of Patau Syndroom, geprepareerd in overeenstemming met de richtlijnen van het laboratorium of de instelling. Het vruchtwatermonster dient afgenomen te worden in overeenstemming met de richtlijnen van het laboratorium of de instelling. Monsters die er bloederig of bruin uitzien, mogen niet worden gebruikt aangezien ze bloed van de moeder kunnen bevatten en zo tot foutieve resultaten kunnen leiden. Bereid aan de lucht gedroogde monsters voor op objectglasjes volgens standaard cytogenetische procedures. De AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* bevat aanbevelingen voor monsterverzameling, -kweken, -afname en voor het maken van objectglasjes⁵.

Oplossingsvoorbereiding

Ethanoloplossingen

Verdund 100% ethanol met gezuiverd water volgens de volgende verhoudingen en meng grondig:

- 70% ethanol - 7 delen 100% ethanol op 3 delen gezuiverd water
- 85% ethanol - 8,5 delen 100% ethanol op 1,5 delen gezuiverd water

Bewaar de oplossingen maximaal 6 maanden op kamertemperatuur in een luchtdichte container.

2xSSC-oplossing

Verdund 1 deel 20xSSC-oplossing met 9 delen gezuiverd water en meng grondig. Controleer de pH-waarde en breng deze met NaOH of HCl naar pH 7,0 indien nodig. Bewaar de oplossing maximaal 4 weken op kamertemperatuur in een luchtdichte container.

0,4xSSC-oplossing

Verdund 1 deel 20xSSC-oplossing met 49 delen gezuiverd water en meng grondig. Controleer de pH-waarde en breng deze met NaOH of HCl naar pH 7,0 indien nodig. Bewaar de oplossing maximaal 4 weken op kamertemperatuur in een luchtdichte container.

Oplossing 2xSSC; 0,05% Tween-20

Verdund 1 deel 20xSSC-oplossing met 9 delen gezuiverd water. Voeg 5 µl Tween-20 per 10 ml toe en meng grondig. Controleer de pH-waarde en breng deze met NaOH of HCl naar pH 7,0 indien nodig. Bewaar de oplossing maximaal 4 weken op kamertemperatuur in een luchtdichte container.

Aanbevolen voorbehandeling van objectglasjes⁵.

1. Dompel het objectglasje dat is geprepareerd met cellen gefixeerd in 3:1 methanol/azijnzuur en verkregen uit vruchtwatermonsters 1 uur lang bij 37 °C onder in 2xSSC.
2. Plaats het objectglasje gedurende 13 minuten bij 37 °C in een vers gemaakte pepsine-werkoplossing (5 mg pepsine toegevoegd aan 100 ml 0,01M HCl).
3. Dompel het objectglasje gedurende 5 minuten bij KT onder in fosfaatgebufferde zoutoplossing (PBS).
4. Dompel het objectglasje onder in postfixatie-oplossing (0,95% formaldehyde: 1,0 ml 37% formaldehyde, 0,18 g MgCl₂ en 39,0 ml PBS) gedurende 5 minuten bij KT.
5. Dompel het objectglasje gedurende 5 minuten bij KT onder in PBS.
6. Dompel het objectglasje bij KT onder in 70% ethanol. Laat het objectglasje 2 minuten in de ethanolspoeling staan.
7. Haal het objectglasje uit de 70% ethanol. Herhaal stap 6 met 80% ethanol gevolgd door 100% ethanol.
8. Laat het aan de lucht drogen.

FISH-protocol

(Opmerking: zorg ervoor dat de sonde en tegenkleuring zo min mogelijk worden blootgesteld aan laboratoriumlampen).

Voorbereiding van het objectglasje (sla deze stap over als het objectglasje is voorbehandeld volgens bovenstaand protocol)

1. Plaats het celmonster op een glazen objectglasje. Laat het opdrogen. (Optioneel, bij gebruik van een cytogenetische droogkamer: De kamer moet voor optimale bevestiging van het celmonster ongeveer 25 °C zijn en een luchtvochtigheid van 50% hebben. Gebruik een zuurkast als er geen cytogenetische droogkamer beschikbaar is).
2. Dompel het glaasje 2 minuten onder in 2xSSC op kamertemperatuur (KT) zonder het te bewegen.
3. Droog in een ethanolserie (70%, 85% en 100%), elk gedurende 2 minuten, op KT.
4. Laat het opdrogen.

Pre-denaturatie

5. Haal de sonde uit de vriezer en laat deze op KT komen. Centrifugeer de buisjes kort voorafgaand aan gebruik.
6. Zorg er met een pipet voor dat de sondeoplossing gelijkmatig is vermengd.
7. Verwijder 10 µl sonde per test en breng dit over naar een microcentrifugebuisje. Plaats de overgebleven sonde snel terug in de vriezer.

8. Plaats de sonde en het monsterglasje op een verwarmingsplaat van 37 °C (+/- 1 °C) gedurende 5 minuten om voor te verwarmen.
9. Plaats 10 µl sondemengsel op het celmonster en plaats voorzichtig een afdekglasje. Dicht het af met rubberen lijmplossing en laat de lijm volledig opdrogen.

Denaturatie

10. Denatureer het monster en de sonde gelijktijdig door het glasje te verwarmen op een verwarmingsplaat van 75 °C (+/-1 °C) gedurende 2 minuten.

Hybridisatie

11. Plaats het glasje gedurende de nacht in een vochtige en luchtdichte container bij 37 °C (+/-1 °C).

Post-hybridisatie spoelbeurten

12. Haal de DAPI uit de vriezer en laat deze op KT komen.
13. Verwijder het afdekglasje en alle sporen van lijm voorzichtig.
14. Dompel het glasje gedurende 2 minuten onder in 0,4xSSC (pH 7,0) bij 72 °C (+/-1 °C) zonder het te bewegen.
15. Laat het glasje afdruipe en dompel het 30 seconden onder in 2xSSC; 0,05% Tween-20 op KT (pH 7,0) zonder het te bewegen.
16. Laat het glasje afdruipe en breng 10 µl DAPI Antifade aan op ieder monster.
17. Bedek het met een afdekglasje, verwijder eventuele luchtbelletjes en laat de kleur 10 minuten in het donker ontwikkelen.
18. Bekijk met een fluorescenciemicroscop (zie **Aanbevelingen fluorescenciemicroscop**).

Proceduraanbevelingen

1. Verhitten of verouderen van de glasjes kan de signaalfluorescentie verminderen.
2. Hybridisatiecondities kunnen nadelig worden beïnvloed door het gebruik van reagentia die niet door Cytocell Ltd. worden geleverd of aanbevolen.
3. Gebruik een gekalibreerde thermometer om de temperatuur van oplossingen, waterbaden en incubators te meten, omdat deze temperaturen van cruciaal belang zijn voor optimale productprestaties.
4. De spoelingsconcentraties, pH en temperaturen zijn belangrijk, omdat te lage naleving kan leiden tot het niet-specifiek binden van de sonde en te hoge naleving er toe kan leiden dat er geen signaal aanwezig is.
5. Niet-volledige denaturatie kan ertoe leiden dat er geen signaal aanwezig is en teveel denaturatie kan ook leiden tot niet-specifiek binden.
6. Teveel hybridisatie kan leiden tot aanvullende of onverwachte signalen.
7. Gebruikers dienen het protocol te optimaliseren voor de eigen monsters alvorens de test voor diagnostische doeleinden te gebruiken.
8. Suboptimale condities kunnen leiden tot niet-specifieke binding, wat verkeerd kan worden geïnterpreteerd als een sondesignaal.

Interpretatie van resultaten

Glasjeskwaliteit beoordelen

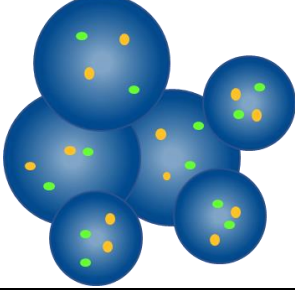
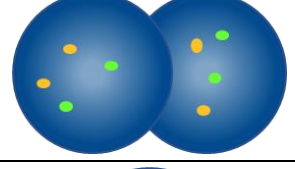
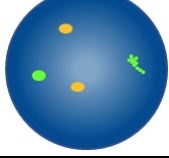
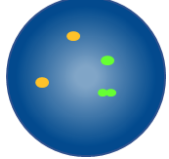
Het glasje dient niet te worden geanalyseerd indien:

- De signalen te zwak zijn om in enkelvoudige filters te worden geanalyseerd - om door te kunnen gaan met de analyse moeten signalen helder, duidelijk en eenvoudig te evalueren zijn
- De analyse wordt belemmerd door een groot aantal samengeklonterde/overlappende cellen
- > 50% van de cellen niet zijn gehybridiseerd
- Er zich te veel fluorescente deeltjes bevinden tussen cellen en/of een fluorescente waas de signalen verstoort - in ideale glasjes is de achtergrond donker of zwart en leeg
- De randen van de celkernen niet kunnen worden onderscheiden en niet intact zijn

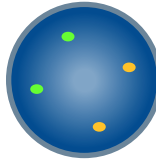
Analyserichtlijnen

- Ieder monster dient door twee analisten te worden geanalyseerd en geïnterpreteerd. Eventuele verschillen moeten worden verholpen door een beoordeling door een derde analist
- Iedere analist dient voldoende gekwalificeerd te zijn volgens de erkende nationale standaarden
- Elke analist moet onafhankelijk voldoende nucleï van elk monster scoren, zodat de gecombineerde scores van de analisten voldoen aan de minimumcriteria die in institutionele, regionale of nationale richtlijnen zijn vastgelegd. De eerste analist dient de analyse te starten vanaf de linkerzijde van het objectglasje en de tweede analist vanaf de rechterzijde
- Iedere analist dient zijn/haar resultaten vast te leggen op afzonderlijke bladen
- Analyseer alleen kernen die intact zijn en geen overlappende of opeengepakte kernen of kernen die worden bedekt door cytoplasmatisch gruis of een hoge mate van autofluorescentie
- Vermijd gebieden met een overmaat aan cytoplasmatisch gruis of niet-specifieke hybridisatie
- Signaalintensiteit kan afwijken, zelfs binnen een enkele kern. Gebruik in dergelijke gevallen enkelvoudige filters en/of pas het brandpuntsvlak aan
- In suboptimale condities kunnen signalen diffuus worden weergegeven. Tel het als één signaal als twee signalen van dezelfde kleur elkaar raken, als de afstand tussen de signalen niet groter is dan twee signaalbreedtes of als de twee signalen zijn verbonden door een vage draad
- Tel het tijdens het analyseren van breakapartsondes met twee kleuren als een niet-herschikt/gefuseerd signaal als er tussen de rode en groene signalen een gat bestaat dat niet groter is dan 2 signaalbreedtes
- Als er bij het analyseren van breakapartsondes met drie kleuren een gat optreedt tussen de 3 signalen (rood, groen, blauw) dat niet groter is dan de breedte van 2 signalen, dient dit geteld te worden als niet-herschikt/gefuseerd signaal.

- Analyseer een cel niet als u niet zeker bent of deze analyseerbaar is

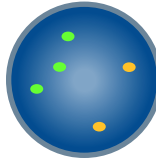
Analyserichtlijnen	
	Niet tellen – nucleï liggen te dicht bij elkaar om grenzen te kunnen bepalen
	Overlappende nucleï niet tellen – niet alle gebieden van beide nucleï zijn zichtbaar
	Tellen als twee oranje en twee groene signalen – één van de twee groene signalen is diffuus
	Tellen als twee oranje en twee groene signalen – het gat in één groen signaal is minder dan twee signaalbreedtes.

Verwacht normaal signaalpatroon

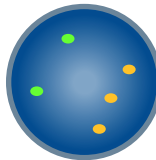


In een normale cel worden twee groene en twee Oranje (2G2O) verwacht.

Verwachte abnormale signaalpatronen



In een cel met trisomie 13 worden drie groene en twee oranje signalen (3G2O) verwacht.



In een cel met trisomie 21 worden twee groene en drie oranje signalen (2G3O) verwacht.

Er zijn andere signaalpatronen mogelijk in aneuploïde/niet-gebalanceerde monsters.

Bekende relevante interferenties / interfererende substanties

Geen relevante interferenties / interfererende substanties bekend.

Bekende kruisreactiviteit

Geen bekende kruisreactiviteit.

Melden van ernstige incidenten

Voor een patiënt/gebruiker/derde in de Europese Unie en in landen met identieke regelgeving (Verordening (EU) 2017/746 betreffende medische hulpmiddelen voor in-vitrodiagnostiek); indien zich tijdens het gebruik van dit hulpmiddel of als gevolg daarvan een ernstig incident heeft voorgedaan, dient u dit te melden aan de fabrikant en aan uw nationale bevoegde autoriteit.

Ernstige incidenten in andere landen dient u te melden aan de fabrikant en, indien van toepassing, aan uw nationale bevoegde autoriteit.

Contactpersoon van de fabrikant: vigilance@ogt.com

Voor nationale bevoegde autoriteiten binnen de EU vindt u een lijst met meldpunten op:

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

Specifieke prestatiekenmerken

Analytische specificiteit

Analytische specificiteit wordt gedefinieerd als het percentage signalen dat met de juiste locus hybridiseert en niet met andere locaties. Vier chromosomale loci van iedere 20 metafasecellen van vijf monsters worden geanalyseerd, wat 400 gegevenspunten opleverde. De locatie van iedere gehybridiseerde sonde werd in kaart gebracht en het aantal metafase chromosomale FISH-signalen dat hybridiseerde met de juiste locus werd vastgelegd.

De analytische specificiteit van iedere sonde in de set werd berekend als het aantal metafase chromosomale FISH-signalen dat hybridiseerde met de juiste locus gedeeld door het totale aantal metafase chromosomale FISH-signalen dat hybridiseerde. Dit resultaat werd met 100 vermenigvuldigd, uitgedrukt als een percentage en gegeven met een 95%-betrouwbaarheidsinterval.

Tabel 1. Analytische specificiteit voor de Prenatal 13 en 21 Enumeration Probe Kit

Doel	Aantal metafase chromosomale gehybridiseerd	Aantal juist gehybridiseerde loci	Analytische specificiteit	95% betrouwbaarheidsinterval
21q22.1	200	200	100%	98,12% - 100%
13q14.2	200	200	100%	98,12% - 100%

Analytische sensitiviteit

Analytische sensitiviteit is het percentage scoorbare interfasecellen met het verwachte normale signaalpatroon. Minimaal 50 interfasecellen werden geanalyseerd, waarvan 25 gefixeerde celsuspensies van vruchtwatermonsters van karyotypisch normale mannen of vrouwen waarvan middels FISH of het karyotype is bevestigd dat ze een normaal complement van chromosomen 13 en 21 hebben. Dit heeft geleid tot minimaal 1250 gescoorde nucleï voor elk monstertype. De sensitiviteitsgegevens werden geanalyseerd aan de hand van het percentage cellen dat een normaal verwacht signaalpatroon liet zien en uitgedrukt als een percentage met een betrouwbaarheidsinterval van 95%.

Tabel 2. Analytische sensitiviteit voor de Prenatal 13 en 21 Enumeration Probe Kit

Monstertype	Sensitiviteitscriteria	Sensitiviteitsresultaat
Vruchtwater	> 95%	96,24% (94,84 - 97,64%)

Karakterisatie van normale drempelwaarden

De normale drempelwaarde wordt gedefinieerd als het percentage cellen dat een fout-positief signaalpatroon laat zien waar een individu als normaal zou worden beschouwd en niet consistent met een klinische diagnose. Minimaal 50 interfasecellen werden geanalyseerd, waarvan 25 gefixeerde celsuspensies van vruchtwatermonsters van karyotypisch normale mannen of vrouwen waarvan middels FISH of het karyotype is bevestigd dat ze een normaal complement van chromosomen 13 en 21 hebben. Dit heeft geleid tot minimaal 1250 gescoorde nucleï voor elk monstertype.

De drempelwaarde werd bepaald aan de hand van de β -inverse (BETAINV) functie in MS Excel. De waarde werd berekend als het percentage interfasecellen dat een fout-positief signaalpatroon liet zien met behulp van de bovengrens van een eenzijdig 95%-betrouwbaarheidsinterval van de binomiale distributie bij een normaal patiëntmonster.

Tabel 3. Karakterisatie van normale drempelwaarden voor de Prenatal 13 en 21 Enumeration Probe Kit

Monstertype	Drempelresultaat
Vruchtwater	8,97%

De laboratoria moeten de drempelwaarden verifiëren aan de hand van hun eigen gegevens en in overeenstemming met alle institutionele, regionale of professionele richtlijnen voor beste praktijken die in hun diagnostische omgeving van toepassing kunnen zijn ^{6,7}.

Precisie

De precisie van dit product is gemeten als precisie op dezelfde dag (tussen monsters), op een andere dag (tussen dagen) en tussen partijen op dezelfde locatie (tussen partijen).

De precisie van het product is vastgesteld met behulp van drie (3) monsters: eenmaal normaal vruchtwater, eenmaal laag-positief trisomie 13 vruchtwater (3G2O) en eenmaal laag-positief trisomie 21 vruchtwater (2G3O). De laag-positieve vruchtwatermonsters zijn verkregen door een deel van het normale vruchtwatermonster te mengen met een bekend positief vruchtwatermonster,

teneinde een laag-positief monster te verkrijgen in het bereik van 2-4x de drempelwaarde.

Om de precisie op dezelfde dag en een andere dag vast te stellen, werden de monsters geëvalueerd op 10 niet-achtereenvolgende data. Om de precisie tussen partijen vast te stellen, werden drie (3) partijen van het product geëvalueerd op drie (3) replica's van dezelfde monsters. De resultaten werden gepresenteerd als de algehele overeenkomst met de voorspelde negatieve klasse (voor de negatieve monsters).

Tabel 4. Reproduceerbaarheid en precisie voor de Prenatal 13 en 21 Enumeration Probe Kit

Variabele	Monstertype	Overeenkomst
Precisie op dezelfde en een andere dag	Vruchtwater negatief	100%
	Vruchtwater positief trisomie 13 (3G2O)	100%
	Vruchtwater positief trisomie 21 (2G3O)	96,7%
Tussen partijen Precisie	Vruchtwater negatief	88,9%
	Vruchtwater positief trisomie 13 (3G2O)	100%
	Vruchtwater positief trisomie 21 (2G3O)	100%

Klinische prestatie

Om er zeker van te zijn dat het product de beoogde herschikkingen detecteert, werd de klinische prestatie vastgesteld tijdens drie onderzoeken van representatieve monsters van de beoogde populatie voor het product: Residu van in 3:1 methanol/azijnzuur gefixeerd materiaal van prenatale vruchtwatermonsters. De steekproefomvang voor het onderzoek was 172 monsters met een populatie van 15 trisomie 13-positieve en 157 trisomie 13-negatieve monsters en een totaal van 109 trisomie 21-positieve en 63 trisomie 21-negatieve monsters. De resultaten werden vergeleken met de bekende status van het monster. De sonde identificeerde de status van de monsters correct in alle gevallen.

De resultaten van deze tests werden geanalyseerd om waarden voor klinische sensitiviteit, klinische specificiteit en het percentage fout-positieven (FPR) voor positieve signalen te verkrijgen met behulp van een eendimensionale aanpak.

Tabel 5. Klinische prestatie voor de Prenatal 13 en 21 Enumeration Probe Kit

Variabele	Resultaat
Klinische sensitiviteit (TPR [true positive rate; percentage terecht positieven])	100,0%
Klinische specificiteit (TNR [true negative rate; percentage terecht negatieven])	100,0%
Percentage fout-positieven (FPR) = 1 - Specificiteit	0,00%

Samenvatting van veiligheid en prestaties (SSP)

De SSP wordt via de Europese database voor medische apparatuur (Eudamed) openbaar gemaakt waar deze is gelinkt met de Basic UDI-DI.

Eudamed URL: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Basic UDI-DI: 50558449LPA003GL

Indien Eudamed niet volledig functioneert, kan het SSP op verzoek openbaar toegankelijk worden gemaakt door een e-mail te sturen naar SSP@ogt.com.

Aanvullende informatie

Neem contact op met de afdeling Technische ondersteuning van CytoCell voor aanvullende productinformatie.

T: +44(0) 1223 294048















E: techsupport@cytocell.com

W: www.ogt.com

Referenties

- Asim A, Kumar A et al. Down syndrome an insight of the Disease. Journal of Biomedical Science, 2015;22(41):1-9
- <https://www.orpha.net/>
- Gardner, R. and Amor, D. Gardner and Sutherland's Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling. 5th ed: OUP USA, 2018
- Noriega MA, Siddik AB. s.l. Trisomy 13: StatPearls[Internet], Treasure Island[FL], updated 2021.
- 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, 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.

Verklaring van symbolen

EN ISO 15223-1:2021 - "Medische hulpmiddelen – Symbolen om te gebruiken met informatie die wordt geleverd door de fabrikant – Deel 1: Algemene eisen" (© International Organization for Standardization)		
Symbol	Titel	Referentienummer(s)
	nl: Fabrikant	5.1.1
	nl: Geautoriseerde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap/Europese Unie	5.1.2
	nl: Houdbaarheidsdatum	5.1.4
	nl: Partijnummer	5.1.5
	nl: Catalogusnummer	5.1.6
	nl: Buiten bereik van zonlicht bewaren	5.3.2
	nl: Temperatuurgrens	5.3.7
	nl: Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	5.4.3
 ogt.com/IFU	nl: Raadpleeg de elektronische gebruiksaanwijzing	5.4.3
	nl: Let op	5.4.4
	nl: Medisch hulpmiddel voor <i>in-vitro</i> diagnostiek	5.5.1
	nl: Bevat voldoende voor <n> tests	5.5.5
	nl: Unieke hulpmiddel identificatiecode	5.7.10
EDMA-symbolen voor IVD-reagentia en -componenten, revisie oktober 2009		
Symbol	Titel	Referentienummer(s)
	nl: Inhoud (of bevat)	N.v.t.

Patenten en handelsmerken

CytoCell is een geregistreerd handelsmerk van CytoCell Limited.



CytoCell Limited

Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
VERENIGD KONINKRIJK

T: +44(0) 1223 294048
F: +44(0) 1223 294986
E: probes@cytoCell.com
W: www.ogt.com



Sysmex Europe SE

Bornbarch 1
22848 Norderstedt
DUITSLAND

T: +49 40 527260
W: www.sysmex-europe.com

Versiegeschiedenis gebruiksaanwijzing

V001.00 2023-01-11: Nieuwe IFU voor EU Verordening 2017/746.