



A Sysmex Group Company



Bruksanvisning

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

Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit



ENDAST FÖR PROFESSIONELLT BRUK



Mer information och andra språkversioner finns på ogt.com/IFU

Avsett ändamål

CytoCell® Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit är ett kvalitativt, icke-automatiserat fluorescerande in situ-hybridiseringstest (FISH) som används för att upptäcka kromosomregion 13q14.2 och 21q22.1 i celler fixerade i Carnoys lösning (3:1 metanol/ättiksyra) erhållna från fostervattenprover och för att beräkna närvaro av kromosomer 13 och 21 vid högriskgraviditeter där Downs eller Patau syndrom misstänks.

Bruksanvisning

Den här enheten är avsedd att vara ett komplement till övriga kliniska tester och laboratorietester inom sedvanlig diagnostik och sjukvård, som ultraljudsundersökning och biokemisk testning där kännedom om antalet exemplar för kromosomregion 13q14.2 och 21q22.1 skulle ha betydelse för hanteringen av patienten.

Begränsningar

Den här enheten används för att upptäcka kromosommaterial som inkluderar kromosomregioner 13q14.2 och 21q22.1 som täcks av de gröna respektive orangea klonerna i denna sonduppsättning. Genomtillskott eller -förluster utanför dessa regioner, eller partiella förluster eller tillskott av dessa upptäcks inte alltid av den här enheten.

Enheten är inte avsedd för fristående diagnostisering, behandlingsvägledande diagnostik, populationsbaserad screening, patientnära testning eller egentestning. Den har inte validerats för användning på andra prov- eller sjukdomstyper, eller för ändamål som faller utanför den avsedda användning som anges.

Enheten är avsedd som komplement till andra diagnostiska laboratorietester och behandling bör inte sättas in enbart på grundval av FISH-resultaten.

Rapportering och tolkning av FISH-resultat ska utföras av kvalificerad personal i enlighet med professionell praxis och annan klinisk och diagnostisk information samt andra relevanta testresultat bör beaktas.

Den här enheten är endast avsedd för professionellt bruk i laboratorium.

Underlåtenhet att följa anvisningarna kan påverka prestanda och leda till falskt positiva/negativa resultat.

Principer för testet

In situ-hybridisering med fluorescens (FISH) är en teknik för att upptäcka DNA-sekvenser på metafaskromosomer eller interfaskärnor från fixerade cytogenetiska prover. Tekniken använder DNA-sonder som hybridiserar till hela kromosomer eller enstaka unika sekvenser och fungerar som ett kraftfullt komplement till cytogenetisk analys med Giemsa-färgning. Tekniken går nu att tillämpa som ett viktigt undersökningsverktyg vid prenatala och hematologiska kromosomanalyser liksom vid kromosomanalyser av solida tumörer. Mål-DNA kan efter fixering och denaturering hybridisera till en likaledes denaturerad, fluorescensmärkt DNA-sond med en komplementär sekvens. Efter hybridisering avlägsnas obunden och ospecifikt bunden DNA-sond, och DNA kontrastfärgas för visualisering. Fluorescensmikroskopi synliggör den hybridiserade sonden på målmaterialet.

Information om sonden

Downs syndrom är en autosomal trisomi som orsakas av förekomsten av ett tredje (helt eller delvist) exemplar av kromosom 21 och kännetecknas av varierande intellektuell funktionsnedsättning, muskelhypotoni och ledinstabilitet, som ofta

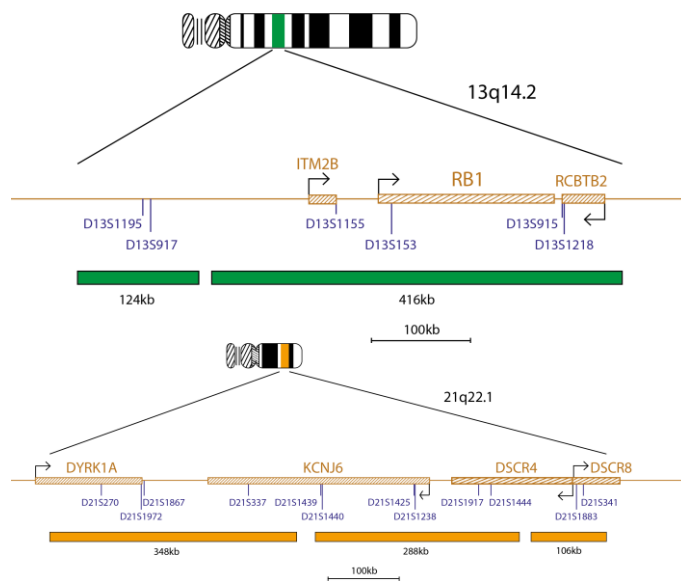
leder till ansiktssymmetri och andra anomalier relaterade till hjärta och mag- och tarmkanalen samt neurosensoriska och endokrina defekter^{1,2}. Downs syndrom är en av de främsta orsakerna till intellektuell funktionsnedsättning världen över och patienter med denna åkomma upplever även andra hälsoproblem som nedsatt inlärnings- och minnesförmåga, medfödda hjärtfel (CHD), Alzheimers sjukdom (AD), leukemi, cancer och Hirschsprungs sjukdom (HD)¹. Downs syndrom omfattar hög genetisk komplexitet och fenotypvariabilitet¹. Chansen för förekomsten av Downs syndrom 16 veckor in i graviditeten är 1 på 1 050 för kvinnor i tjugoårsåldern, 1 på 620 för kvinnor i trettiårsåldern och 1 på 70 för kvinnor i fyrtioårsåldern³.

Patau syndrom (PS) är en kromosomanomali som orsakas av förekomsten av en extra kromosom 13 och kännetecknas av hjärnmissbildningar (holoprosencefali), ansiktssymmetri, okulära anomalier, postaxial polydaktyli, visceral missbildning (hjärtsjukdom) och allvarlig psykomotorisk funktionsnedsättning². Patau syndrom är förknippat med fenotypisk holoprosencefali och medellinjesfusionsanomalier på grund av defekt fusion av prechordalt mesoderm under den embryonala fasen⁴. Chansen för förekomsten av Patau syndrom 16 veckor in i graviditeten är 1 på 11 000 för kvinnor i tjugoårsåldern, 1 på 6 500 för kvinnor i trettiårsåldern och 1 på 700 för kvinnor i fyrtioårsåldern³.

Sondens specifikationer

Unik 13-sekvens, 13q14.2 (grön)

Unik 21-sekvens, 21q22.1 (orange)



Den gröna sondblandningen innehåller en sond på 124 respektive 416 kb som sträcker sig över generna *ITM2B*, *RB1* och *RCBTB2*. Den orangea sondblandningen täcker en region på 21q22.1 från gen *DYRK1A* till gen *DSCR8*.

Material som medföljer

Sond: 50 µl per flaska (5 tester) eller 100 µl per flaska (10 tester).

Sonderna tillhandahålls förblandade i hybridiseringslösning (< 65 % formamid, < 20 mg dextransulfat, < 10 % av 20x natriumklorid-natriumcitrat (SSC-buffert)) och är färdiga att användas.

Kontrastfärg: 150 µl per flaska (15 tester)

Kontrastfärgen är DAPI antifade ES (0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenylindol) i glycerolbaserat fästmedel).

Varningar och försiktighetsåtgärder

1. För *in vitro*-diagnostik. Endast för professionellt bruk i laboratorium.
2. Sondblandningarna innehåller formamid som är en teratogen. Undvik inandning av ångorna och hudkontakt. Hantera varsamt. Använd handskar och laboratorierock.
3. Hantera DAPI varsamt. Använd handskar och laboratorierock.
4. Använd inte skadade flaskor eller om dess innehåll har äventyrats på något sätt.
5. Kassera produkten på ett säkert sätt genom att följa lokala bestämmelser samt rekommendationerna i säkerhetsdatabladet. Detta gäller även för skadat testkitsinnehåll.
6. Kassera använd reagens och annat kontaminerat material för engångsbruk på samma sätt som vid kassering av smittfarligt eller potentiellt smittfarligt avfall. Det är laboratoriets ansvar att hantera fast och flytande avfall i enlighet med dess typ och hur pass farligt det är. Avfallet ska hanteras och kasseras (av personal eller via extern hjälp) i enlighet med tillämpliga bestämmelser.
7. Alla användare måste kunna skilja mellan färgerna rött, blått och grönt.
8. Underlåtenhet att följa det föreskrivna protokollet och reagenserna kan påverka prestandan och leda till falskt positiva/negativa resultat.
9. Sonden får inte spädas eller blandas med andra sonder.
10. Underlåtenhet att använda 10 µl sond i protokollsteget före denaturering kan påverka prestandan och leda till falskt positiva/negativa resultat.
11. Alla produkter måste valideras före användning.
12. Interna kontroller med opåverkade cellpopulationer i testproverna ska utföras.

Temperatursdefinitioner

- 20 °C/fryst/i frys: -25 °C ± -15 °C
- 37° C: +37 °C ± 1 °C
- 72° C: +72 °C ± 1 °C
- 75° C: +75 °C ± 1 °C
- Rumstemperatur (RT): +15 °C ± +25 °C

Förvaring och hantering

 Kitet ska förvaras mellan -25 °C och -15 °C i fryn fram till det utgångsdatum som anges på etiketten. Sonden och flaskorna med kontrastfärg måste förvaras mörkt.

 FISH-sonden, DAPI Antifade ES-kontrastfärgen och hybridiseringslösningen är stabila under frysnings- och upptiningscykler vid normal användning (när en cykel utgörs av att flaskan tas ut och sätts tillbaka i frysen) – fem cykler för FISH-sondflaskor på 50 µl (5 tester), tio cykler för FISH-sondflaskor på 100 µl (10 tester) och 15 cykler för kontrastfärgsflaskor på 150 µl (15 tester). Minimera risken för ljusexponering och undvik om möjligt. Förvara komponenterna i den medföljande ljusskyddade behållaren. Om komponenterna hanteras eller förvaras i förhållanden utöver de som anges på etiketten är det möjligt att de inte fungerar som de ska, vilket kan påverka analysresultaten. Se till att undvika exponering av ljus och temperaturförändringar.

Utrustning och material som behövs men inte medföljer

- Utrustningen som används måste vara kalibrerad:
1. Värmeplatta (med en fast platta och exakt temperaturreglering upp till 80 °C)
 2. Kalibrerade inställningsbara mikropipetter och spetsar med volym mellan 1 – 200 µl
 3. Vattenbad med exakt temperaturreglering vid 37 °C och 72 °C
 4. Mikrocentrifugrör (0,5 ml)
 5. Fluorescensmikroskop (se avsnittet om rekommendationer för fluorescensmikroskop)
 6. Faskontrastmikroskop
 7. Rena kyvetter av plast, keramiskt material eller värmeståligt glas
 8. Tång
 9. Kalibrerad pH-mätare (eller indikatorremсор som mäter pH 6,5 – 8,0)
 10. Behållare med befuktning
 11. Immersionsolja för linser till fluorescensmikroskop
 12. Bänkcenrifug
 13. Objektglas
 14. Täckglas 24 x 24 mm
 15. Timer
 16. 37 °C inkubator
 17. Gummilösning
 18. Vortexblandare
 19. Mätglas
 20. Magnetomrörare
 21. Kalibrerad termometer

Valfri utrustning som inte medföljer

1. Cytogenetisk torkkammare

Reagenser som behövs men inte medföljer

1. 20 x natriumklorid-natriumcitratlösning (SSC)
2. 100 % etanol
3. Tween-20
4. 1 M natriumhydroxid (NaOH)
5. 1 M saltsyra (HCl)
6. Renat vatten

Rekommendation för fluorescensmikroskop

Använd en 100 W kvicksilverlampa eller motsvarande och plana akromatiska objektiv med oljeimmersion 60/63 x eller 100 x för optimal visualisering. De fluoroformer som används i denna sonduppsättning exciteras och emitteras vid följande våglängder:

Fluorofor	Excitation _{max} [nm]	Emission _{max} [nm]
Grön	495	521
Orange	551	572

Se till att mikroskopet är försett med rätt excitations- och emissionsfilter för de ovan angivna våglängderna. Det tredubbla bandpassfiltret DAPI/FITC/TRITC är optimalt för att visa gröna och orangea fluoroformer och kontrastfärgning samtidigt. Det tredubbla bandpassfiltret DAPI/FITC/Texas Red går även att använda för att visa fluoroformer och DAPI samtidigt.

Kontrollera fluorescensmikroskopet före användning för att säkerställa att det fungerar ordentligt. Använd immersionsolja som lämpar sig för fluorescensmikroskopi och har en sammansättning med låg autofluorescens. Undvik att blanda DAPI antifade med immersionsolja för mikroskopet eftersom detta gör signalerna otydliga. Följ tillverkarnas rekommendationer beträffande lampans livslängd och filtrens ålder.

Provberedning

Kitet är utformat för att användas på celler fixerade i Carnoys lösning (3:1 metanol/ättiksyra) erhållna från fostervattenprover och för att beräkna närvaro av kromosomer 13 och 21 vid högriskgraviditeter där Downs eller Patau syndrom misstänks, som är beredda enligt laboratoriets eller institutionens riktlinjer. Insamling av fostervattenprover ska utföras enligt laboratoriets eller institutionens riktlinjer. Använd inte prov som innehåller blod eller har en brun färg då de kan

innehålla moderns blod och leda till felaktiga resultat. Bered lufttorkade prover på objektglas i enlighet med cytogenetiska standardförfaranden. AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* innehåller rekommendationer för provtagning, odling, insamling och montering på objektglas⁵.

Lösningsberedning

Etanollösningar

Späd 100-procentig etanol med renat vatten i följande förhållanden och blanda noggrant:

- 70-procentig etanol – 7 delar 100-procentig etanol med 3 delar renat vatten
 - 85-procentig etanol – 8,5 delar 100-procentig etanol med 1,5 delar renat vatten
- Förvara lösningarna upp till 6 månader i rumstemperatur i en lufttät behållare.

2 x SSC-lösning

Späd 1 del 20 x SSC-lösning med 9 delar renat vatten och blanda noggrant. Kontrollera pH-värdet och justera till pH 7,0 med den mängd NaOH eller HCl som krävs. Förvara lösningen upp till fyra veckor i rumstemperatur i en lufttät behållare.

0,4 x SSC-lösning

Späd 1 del 20 x SSC-lösning med 49 delar renat vatten och blanda noggrant. Kontrollera pH-värdet och justera till pH 7,0 med den mängd NaOH eller HCl som krävs. Förvara lösningen upp till fyra veckor i rumstemperatur i en lufttät behållare.

2 x SSC, 0,05 % Tween-20-lösning

Späd 1 del 20 x SSC-lösning med 9 delar renat vatten. Tillsätt 5 µl Tween-20 per 10 ml och blanda väl. Kontrollera pH-värdet och justera till pH 7,0 med den mängd NaOH eller HCl som krävs. Förvara lösningen upp till fyra veckor i rumstemperatur i en lufttät behållare.

Rekommenderad förbehandling för objektglas⁵.

1. Lägg objektglaset erhållet från celler fixerade i Carnoys lösning (3:1 metanol/ättiksyra) erhållna från fostervattenprover i 2 x SSC i 37 °C under en timme.
2. Placera objektglaset i en nygjord pepsinbrukslösning (5 mg av pepsin tillsatt i 100 ml av 0,01 M HCl) i 37 °C under 13 minuter.
3. Lägg objektglaset i fosfatbuffrad koksaltlösning (PBS, Phosphate Buffered Saline) i RT under fem minuter.
4. Lägg objektglaset i en postfixerad lösning (0,95 % formaldehyd: 1,0 ml av 37 % formaldehyd, 0,18 g av MgCl₂ och 39,0 ml av fosfatbuffrad koksaltlösning) i RT under fem minuter.
5. Lägg objektglaset i fosfatbuffrad koksaltlösning i RT under fem minuter.
6. Lägg objektglaset i 70 % etanol vid RT. Lämna objektglaset i etanoltvätten i två minuter.
7. Ta bort objektglaset från den 70-procentiga etanolen. Upprepa steg 6 med 80 % etanol följt av 100 % etanol.
8. Låt lufttorka.

FISH-protokoll

(Obs: Se till att sonden och kontrastfärgen aldrig utsätts för mer än begränsat med laboratoriebelysning.)

Montering på objektglas (hoppa över detta steg om objektglaset förbehandlats enligt ovanstående protokoll)

1. Applicera cellprovet på ett objektglas. Låt torka. (Vid användning av cytogenetisk torkkammare: Kammaren ska användas vid cirka 25 °C och 50 % luftfuktighet för optimal applicering av cellprovet. Om en cytogenetisk torkkammare inte finns att tillgå är ett dragskåp ett alternativ.)
2. Lägg objektglaset i 2 x SSC i två minuter i rumstemperatur (RT) utan att röra det.
3. Dehydrera i tre etanolbad efter varandra (70 %, 85 % och 100 %), vart och ett under 2 minuter i rumstemperatur.
4. Låt torka.

Före denaturering

5. Ta ut sonden ur frysen och låt den värmas upp till rumstemperatur. Centrifugera rören lätt före användning.
6. Säkerställ att sondlösningen är väl blandad med en pipett.
7. Avlägsna 10 µl av sonden per test och överför till ett mikrocentrifugrör. Lägg snabbt tillbaka återstående sond i frysen.
8. Låt sonden och objektglaset förvärmas på en värmeplatta vid 37 °C (+/- 1 °C) i fem minuter.
9. Applicera 10 µl av sondblandningen på cellprovet och lägg försiktigt på ett täckglas. Försegla med gummilösning och låt torka helt.

Denaturering

10. Denaturera provet och sonden samtidigt genom att värma objektglaset på en värmeplatta vid 75 °C (+/- 1 °C) i 2 minuter.

Hybridisering

11. Lägg objektglaset över natten i en fuktig, ljusstät behållare vid 37 °C (+/- 1 °C).

Tvättar efter hybridisering

12. Ta ut DAPI ur frysen och låt den värmas upp till rumstemperatur.
13. Ta bort täckglaset och alla spår av lim noggrant.
14. Låt objektglaset ligga i 0,4 x SSC (pH 7,0) vid 72 °C (+/- 1 °C) i 2 minuter utan omrörning.
15. Låt objektglaset rinna av och låt det ligga stilla i 2 x SSC, 0,05 % Tween-20 vid RT (pH 7,0) under 30 sekunder.
16. Låt objektglaset rinna av och applicera 10 µl DAPI antifade på varje prov.
17. Lägg ett täckglas över, avlägsna eventuella bubblor och låt färgen utvecklas i mörker i 10 minuter.

18. Granska i ett fluorescensmikroskop (se **Rekommendationer för fluorescensmikroskop**).

Rekommendationer för förfarande

- 1. Objektglas som har ugnsfixerats eller åldrats ger en svagare fluorescenssignal.
- 2. Hybridiseringen kan påverkas negativt vid användning av andra reagenser än de som tillhandahålls eller rekommenderas av Cytocell Ltd.
- 3. Använd en kalibrerad termometer för att mäta temperaturen på lösningar, vattenbad och inkubatorer eftersom dessa temperaturer är avgörande för att produkten ska fungera optimalt.
- 4. Vätskekonzentration, pH-värden och temperaturer är viktiga eftersom för låg noggrannhet kan leda till icke-specifik bindning av sonden, och för hög noggrannhet kan innebära att signalerna uteblir.
- 5. Ofullständig denaturering kan ge utebliven signal, och överdenaturering kan även resultera i icke-specifik bindning.
- 6. Överhybridisering kan ge extra eller oväntade signaler.
- 7. Användaren bör optimera protokollet för sina egna prover innan testet används för diagnosändamål.
- 8. Bristfälliga förhållanden kan resultera i icke-specifik bindning som kan misstolkas som en sondersignal.

Tolkning av resultaten

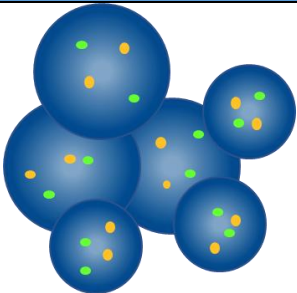
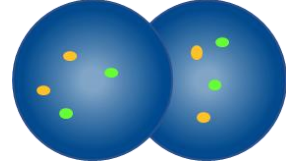
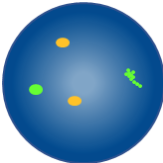
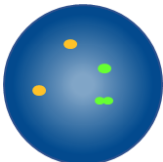
Bedömning av objektglasets kvalitet

Objektglasets ska inte analyseras i följande fall:

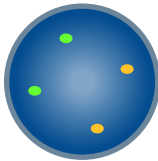
- Signalerna är för svaga för analys i enstaka filter – för att fortsätta analysen ska signalerna framträda klart och tydligt och vara lätta att utvärdera.
- Det finns väldigt många hopklumpade/överlappande celler som försvårar analysen.
- Om > 50 % av cellerna är inte hybridiserade.
- Det finns en stor mängd fluorescerande partiklar mellan cellerna och/eller ett fluorescerande dis som stör signalerna – optimalt ska bakgrunden framstå mörk eller svart och ren.
- Cellkärnornas gränser går inte att urskilja och är inte intakta.

Riktlinjer för analysen

- Två analytiker bör analysera och tolka alla prover. Eventuella avvikelser bör avgöras av en tredje analytiker.
- Alla analytiker ska ha lämpliga kvalifikationer enligt godkänd nationell standard.
- Varje analytiker ska oberoende av varandra bedöma tillräckligt med kärnor från varje prov, så att det sammanslagna resultatet från analytikerna uppfyller de kriterier som gäller för institutionens riktlinjer eller lokala och nationella riktlinjer. Den första analytikern ska börja från vänster på objektglasets och den andra analytikern från höger.
- Varje analytiker ska dokumentera sina resultat på separata papper.
- Analysera endast hela kärnor, inte kärnor som är överlappande, hopklumpade eller täckta av cytoplasmiskt skräp eller har hög grad av autofluorescens.
- Undvik områden med stora mängder cytoplasmiskt skräp eller icke-specifik hybridisering.
- Signalens intensitet kan variera även med en enskild kärna. Använd i så fall enkla filter och/eller justera fokalplanet.
- Vid bristfälliga förhållanden kan signalerna vara otydliga. Om två signaler med samma färg vidrör varandra, om avståndet mellan dem är högst två signalbredder eller om en tunn sträng förenar de båda signalerna ska de betraktas som en signal.
- Vid analys av tvåfärgade separationssonder gäller att om mellanrummet mellan den röda och gröna signalen inte är större än 2 signalbredder ska signalen räknas som icke rearrangerad/sammanslagen.
- Vid analys av trefärgade separationssonder gäller att om mellanrummet mellan någon av de tre signalerna (röda, gröna och blå) inte är större än två signalbredder ska signalen räknas som icke rearrangerad/sammanslagen.
- Om det finns tvivel om huruvida en cell går att analysera eller inte, låt bli att analysera den.

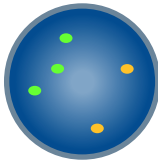
Riktlinjer för analysen	
	Räkna inte – kärnorna ligger för nära varandra för att avgränsningarna ska kunna bedömas.
	Räkna inte överlappande kärnor – alla områden i båda kärnor kan inte ses.
	Räkna som två orangea signaler och två gröna signaler – en av de två gröna signalerna är diffus.
	Räkna som två orangea signaler och två gröna signaler – mellanrummet i en av de gröna signalerna är mindre än två signalbredder.

Förväntat normalt signalmönster

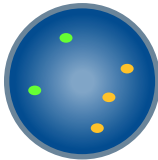


I en normal cell förväntas två gröna och två orangea signaler (2G2O).

Förväntade onormala signalmönster



I en cell med trisomi 13 förväntas tre gröna och två orangea signaler (3G2O).



I en cell med trisomi 21 förväntas två gröna och tre orangea signaler (2G3O).

Andra signalmönster kan förekomma vid aneuploida/obalanserade prover.

Kända relevanta störningar/störande ämnen

Inga kända relevanta störningar/störande ämnen.

Känd korsreaktivitet

Ingen känd korsreaktivitet.

Rapportering av allvarliga incidenter

För patienter/användare/tredje part inom EU och i länder med samma bestämmelser ((EU) 2017/746-direktiv om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik): allvarliga incidenter som sker i samband med användning av den här enheten ska rapporteras till tillverkaren och behörig nationell myndighet. Allvarliga incidenter som sker i andra länder ska rapporteras till tillverkaren och behörig nationell myndighet (om tillämpligt). För kontakt gällande säkerhetsövervakning hos tillverkare: vigilance@ogt.com

En förteckning över kontaktpunkter för säkerhetsövervakning för behöriga nationella myndigheter inom EU finns på:
https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Specifika prestanda
Analytisk specificitet

Analytisk specificitet definieras som den procentandel signaler som hybridiserar till rätt locus och ingen annan plats. Fyra kromosomloci i var och en av 20 metafasceller från fem prover analyserades, varav 400 datapunkter erhöles. Placeringen av varje hybridiserad sond kartlades och antalet FISH-signaler i metafaskromosomer som hybridiserade till rätt locus registrerades.

Den analytiska specificiteten hos varje sond i uppsättningen beräknades som antal FISH-signaler i metafaskromosomer som hybridiserats till rätt locus, dividerat med det totala antalet hybridiserade FISH-signaler i metafaskromosomer. Detta resultat multiplicerades med 100, uttrycktes som procent och angavs med 95 % konfidensintervall.

Tabell 1. Analytisk specificitet för Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Mål	Antal hybridiserade metafaskromosomer	Antal korrekt hybridiserade loci	Analytisk specificitet	95 % konfidensintervall
21q22.1	200	200	100 %	98,12 – 100 %
13q14.2	200	200	100 %	98,12 – 100 %

Analytisk sensitivitet

Analytisk sensitivitet är den procentandel bedömningsbara interfasceller som har det förväntade normala signalmönstret. Minst 50 interfasceller analyserades för vart och ett av 25 fixerade cellsuspensioner från fostervattenprover från karyotypiskt normala män eller kvinnor som bedömdes ha ett normalt komplement av kromosom 13 och 21 via FISH eller karyotyp, vilket gav minst 1 250 bedömda cellkärnor för varje provtyp. Sensitivitetsdata analyserades baserat på procentandelen celler som uppvisade ett normalt förväntat signalmönster och uttrycktes som procent med 95 % konfidensintervall.

Tabell 2. Analytisk sensitivitet för Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Provtyp	Sensitivitetskriterier	Sensitivitetsresultat
Fostervatten	> 95 %	96,24 % (94,84 – 97,64 %)

Beskrivning av normala cut-off-värden

Det normala cut-off-värdet definieras som procentandelen celler som uppvisar ett falskt positivt signalmönster med vilket en individ skulle anses normal och som inte stämmer överens med en klinisk diagnos. Minst 50 interfasceller analyserades för vart och ett av 25 fixerade cellsuspensioner från fostervattenprover från karyotypiskt normala män eller kvinnor som bedömdes ha ett normalt komplement av kromosom 13 och 21 via FISH eller karyotyp, vilket gav minst 1 250 bedömda cellkärnor för varje provtyp.

Cut-off-värdet beräknades med β -invers-funktionen (BETAINV) i MS Excel. Det beräknades som procentandelen interfasceller som uppvisade ett falskt positivt signalmönster. Den övre gränsen av ett ensidigt 95 % konfidensintervall av binomialfördelningen i ett normalt patientprov användes.

Tabell 3. Beskrivning av normala cut-off-värden för Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Provtyp	Cut-off-resultat
Fostervatten	8,97 %

Laboratorierna *måste* verifiera cutoff-värdena med hjälp av sina egna data i enlighet med institutionella, lokala eller yrkesmässiga riktlinjer för bästa praxis som kan vara tillämpliga inom deras diagnostikmiljö^{6,7}.

Precision

Produktns precision har uppmätts som precision inom samma dag (från prov till prov), precision mellan olika dagar (från dag till dag) och precision mellan olika loter på samma inrättning (från lot till lot).

Tre (3) prover användes för att bedöma produktens precision: ett normalt fostervattenprov, ett fostervattensprov som var svagt positivt för trisomi 13 (3G2O) och ett fostervattenprov som var svagt positivt för trisomi 21 (2G3O). De fostervattenprover som var svagt positiva erhöles genom att använda en del av det normala fostervattenprovet och tillsätta ett känt positivt fostervattenprov, i syfte att skapa ett svagt positivt prov med ett cut-off-intervall på 2-4x.

För att fastställa precisionen mellan dagar och inom samma dag utvärderades proverna under tio ej efterföljande dagar, och för att fastställa precisionen mellan loter utvärderades tre (3) lotnummer av produkten på tre (3) replikat av samma prover. Resultaten presenterades som övergripande överensstämmelse med den förutspått negativa klassen (för de negativa proverna).

Tabell 4. Reproducerbarhet och precision för Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Variabel	Provtyp	Överensstämmelse
Precision inom samma dag och mellan dagar	Fostervatten, negativt	100 %
	Fostervatten, svagt positivt för trisomi 13 (3G2O)	100 %
	Fostervatten, svagt positivt för trisomi 21 (2G3O)	96,7 %
Lot till lot och mellan dagar	Fostervatten, negativt	88,9 %
	Fostervatten, svagt positivt för trisomi 13 (3G2O)	100 %
	Fostervatten, svagt positivt för trisomi 21 (2G3O)	100 %

Kliniska prestanda

För att säkerställa att produkten upptäcker de avsedda rearrangemangen fastställdes dess kliniska prestanda i tre studier av representativa prover från den avsedda populationen för produkten: Fixerat restmaterial av 3:1 metanolättiksyra från prenatala fostervattenprover. Studien omfattade 172 prov med en målpopulation på 15 positiva prover för trisomi 13 och 157 negativa prover för trisomi 13, samt totalt 109 positiva prover för trisomi 21 och 63 negativa prover för trisomi 21. Resultaten jämfördes med provets kända status. Sonden identifierade provets status korrekt i samtliga fall.

Resultaten av dessa tester analyserades för att fastställa klinisk sensitivitet, klinisk specificitet och frekvensen av falskt positiva resultat (false positive rate, FPR) för positiva signaler med hjälp av en endimensionell metod.

Tabell 5. Kliniska prestanda för Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Variabel	Resultat
Klinisk sensitivitet (sant positivt resultat, TPR)	100,0 %
Klinisk specificitet (sant negativt resultat, TNR)	100,0 %
Falskt positivt resultat (FPR) = 1 – specificitet	0,00 %

Säkerhets- och prestandasammanfattning (SSP, Summary of Safety and Performance)

Säkerhets- och prestandasammanfattningen ska vara tillgänglig via den europeiska databasen för medicintekniska produkter (Eudamed) och länkat till grundläggande UDI-DI.
URL för Eudamed: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>
Grundläggande UDI-DI: 50558449LPA003GL

Om Eudamed inte är fullt funktionellt ska säkerhets- och prestandasammanfattningen göras offentlig via e-postbegäran till SSP@ogt.com.

Mer information

Kontakta CytoCells tekniska support för att få mer information om produkten.
Tfn: +44 (0)1223 294048
E-post: techsupport@cytozell.com
Hemsida: www.ogt.com

Referenser

- 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.

Symbolordlista

SS-EN ISO 15223-1:2021 – ”Medicintekniska produkter – Symboler att användas vid märkning av produkt och information till användare – Del 1: Allmänna krav” (© International Organization for Standardization)		
Symbol	Titel	Referensnummer
	sv: Tillverkare	5.1.1
	sv: Auktoriserad representant inom den europeiska gemenskapen/EU	5.1.2
	sv: Utgångsdatum	5.1.4
	sv: Kod för tillverkningsplatsen	5.1.5
	sv: Katalognummer	5.1.6
	sv: Skydda mot solljus	5.3.2
	sv: Temperaturgräns	5.3.7
	sv: Se bruksanvisningen	5.4.3
	sv: Se bruksanvisning i elektronisk form	5.4.3
	sv: Iaktta försiktighet	5.4.4
	sv: Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik	5.5.1
	sv: Innehållet räcker till <n> tester	5.5.5
	sv: Unik produktidentifiering	5.7.10
EDMA-symboler för IVD-reagens och -komponenter – reviderade i oktober 2009		
Symbol	Titel	Referensnummer
	sv: Innehåll (eller innehåller)	Ej tillämpligt

Patent och varumärken

CytoCell är registrerat varumärke som tillhör CytoCell Limited.



CytoCell Limited
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
STORBRITANNIEN

Tfn: +44 (0)1223 294048
E-post: probes@cytoCell.com
Hemsida: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Deelböge 19 D
22297 Hamburg
TYSKLAND

Hemsida: www.sysmex-europe.com

Bruksanvisningsversion

V001.00 2023-01-11: Ny bruksanvisning för bestämmelsen (EU) 2017/746
V002 2025-08-29: Borttagning av UKCA-märket
V003 2025-09-09: Uppdatering av adressen för den EU-godkända representanten. Borttagning av telefonnummer för EU-godkänd representant. Borttagning av OGT-faxnummer.