



A Sysmex Group Company



Bruksanvisning (IFU)

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

Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit



KUN TIL BRUK AV FAGFOLK



Du finner mer informasjon og andre språk på ogt.com/IFU

Tiltent formål

CytoCell® Prenatal 13 og 21 Enumeration Probe Kit er en kvalitativ, ikke-automatisert fluorescens *in situ* hybridiseringstest (FISH) brukt til å påvise kromosom 13q14.2-området og kromosom 21q22.1-området i Carnoy's løsning (3:1 metanol/eddiksyre) fikserte celler avledet fra fostervannsprøver, ved å telle opp kromosomer 13 og 21 i høyrisiko graviditeter der det er mistanke om Downs eller Patau syndrom.

Indikasjoner for bruk

Denne enheten er designet som et supplement til andre kliniske tester og laboratorietester i forbindelse med anerkjente diagnostiske og kliniske behandlingsmetoder, som for eksempel ultralydscreening og biokjemisk testing, hvor kunnskap om kopinummerstatusen til kromosom 13q14.2-området og kromosom 21q22.1-området vil være viktig for pasientbehandlingen.

Begrensninger

Dette utstyret er designet for å oppdage kromosomalt materiale som inkluderer kromosom 13q14.2- og kromosom 21q22.1-områdene dekket av henholdsvis de grønne og oransje klonene i dette probesettet. Det er mulig at genomiske forsterkninger eller tap utenfor disse områdene, eller delvis tap eller forsterkninger av disse områdene, ikke blir påvist med dette utstyret.

Dette utstyret er ikke beregnet på: bruk som en frittstående diagnostikk, bruk som følgediagnostikk, populasjonsbasert screening, testing nær pasient eller selvtesting, og har ikke blitt validert for prøvetyper, sykdomstyper eller formål utenfor de som er angitt i det tiltente formålet.

Dette utstyret er ment som et supplement til andre diagnostiske laboratorietester, og behandling skal ikke igangsettes kun på bakgrunn av FISH-resultatet.

Rapportering og tolking av FISH-resultater skal utføres av kvalifisert personell, i samsvar med standarder for profesjonell praksis, og andre relevante testresultater og klinisk og diagnostisk informasjon skal tas i betraktning.

Dette utstyret er kun beregnet for profesjonell laboratoriebruk. Dersom protokollen ikke følges, kan det påvirke testen og føre til falskt positivt/negativt resultat.

Prinsippene bak testen

Fluorescens *in situ* hybridisering (FISH) er en teknikk som gjør det mulig å påvise DNA-sekvenser på kromosomer i metafase eller kjerner i interfase ved hjelp av fikserte cytogenetiske prøver. Teknikken innebærer bruk av DNA-prober som hybridiserer hele kromosomer eller unike sekvenser, og er effektiv som supplement til cytogenetisk G-båndsanalyse. Denne teknikken kan nå brukes som et viktig verktøy for analysering av prenatale og hematologiske kromosomer og kromosomer i solide tumorer. Etter fiksering og denaturering er mål-DNA tilgjengelig for sammenkobling med en fluorescens-merket DNA-probe som er denaturert på lignende måte og som har en komplementær sekvens. Etter hybridisering blir ubundet og ikke spesifikt bundet DNA-probe fjernet, og DNA-et blir kontrafarget for visualisering. Fluorescensmikroskopi gjør det da mulig å visualisere den hybridiserte proben på målmaterialet.

Probeinformasjon

Downs syndrom (DS) er en autosomal trisomi som er forårsaket av tilstedeværelsen av en tredje (delvis eller total) kopi av kromosom 21 og er karakterisert av variabel intellektuell funksjonshemming, muskelhypotoni og

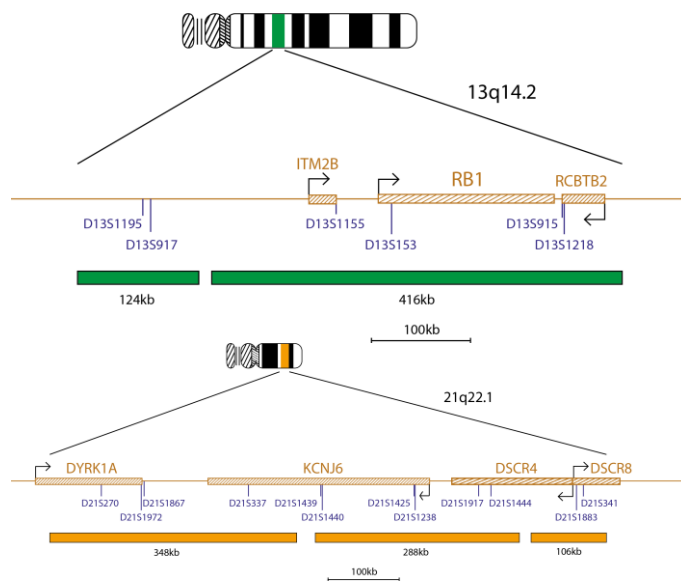
leddslapphet, ofte assosiert med en karakteristisk ansiktsdysmorfisme og ulike anomalier som hjertedefekter, gastrointestinale, nevrosensoriske eller endokrine defekter^{1,2}. DS er en av de ledende årsakene til intellektuell funksjonshemming over hele verden, og disse pasientene står også ovenfor ulike helseproblemer, inkludert læring og hukommelse, medfødte hjertesykdommer (CHD), Alzheimers sykdommer (AD), leukemi, kreft og Hirschsprungs sykdom (HD)¹. DS har høy genetisk kompleksitet og fenotypevariabilitet¹. Ved 16 ukers svangerskap er forekomsten av DS-graviditeter 1 av 1050 for mødre i 20-årene, 1 av 620 for mødre i 30-årene og 1 av 70 for mødre i 40-årene.³

Patau syndrom (PS) er en kromosomal anomali forårsaket av tilstedeværelsen av et ekstra kromosom 13 og er preget av hjernemisdannelser (holoprosencefali), ansiktsdysmorfier, okulære anomalier, postaksial polydaktyli, viscerale misdannelser (kardiopati) og alvorlig psykomotorisk retardasjon². PS er assosiert med fenotypisk holoprosencefali og midtlinjefusjonsavvik på grunn av defekt fusjon av prechordal mesoderm i embryonalstadiet⁴. Ved 16 ukers svangerskap er forekomsten av PS-graviditeter 1 av 11 000 for mødre i 20-årene, 1 av 6500 for mødre i 30-årene og 1 av 700 for mødre i 40-årene.³

Probespesifikasjon

13 unike sekvenser, 13q14.2 Grønn

21 unike sekvenser, 21q22.1 Oransje



Den grønne probeblandingen inneholder en 124 kb probe og en 416 kb probe som spenner over *ITM2B*-, *RB1*- og *RCBTB2*-gener. Den oransje probeblandingen dekker et område på 21q22.1 fra *DYRK1A*-genet til *DSCR8*-genet.

Nødvendig materiell

Probe: 50 µl per ampulle (5 tester) eller 100 µl per ampulle (10 tester).

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

Kontrafarging: 150 µl per ampulle (15 tester)

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

Advarsler og forsiktighetsregler

1. Til *in vitro* diagnostisk bruk. Kun til profesjonell laboratoriebruk.
2. Probeblandingen inneholder formamid, som er teratogent; unngå hudkontakt og innånding av damp. Utvis forsiktighet ved håndtering; bruk hansker og labfrakk.
3. Utvis forsiktighet ved håndtering av DAPI; bruk hansker og labfrakk.
4. Ikke bruk hvis ampull(en) er skadet, eller hvis innholdet i ampullen er kompromittert på noen måte.
5. Følg lokale deponeringsbestemmelser som gjelder for ditt sted, sammen med anbefalingene i sikkerhetsdatabladet for å bestemme sikker deponering av dette produktet. Dette gjelder også innhold i skadde testsett.
6. Deponer alle brukte reagenser og alle andre kontaminerte engangsmaterialer ved å følge prosedyrer for smittefarlig eller potensielt smittefarlig avfall. Det er ansvarlig til ethvert laboratorium å håndtere fast og flytende avfall i henhold til deres natur og grad av farlighet og å behandle og deponere dem (eller få dem behandlet og deponert) i samsvar med gjeldende forskrifter.
7. Brukerne må være i stand til å skille mellom fargene rød, blå og grønn.
8. Dersom de angitte protokollene og reagensene ikke benyttes, kan det påvirke testen og føre til falskt positivt/negativt resultat.
9. Proben skal ikke fortynnes eller blandes med andre prober.
10. Dersom det ikke brukes 10 µl probe under protokolltrinnet med pre-denaturering, kan det påvirke testen og føre til falskt positivt/negativt resultat.
11. Alle produkter bør valideres før bruk.
12. Internkontroll bør utføres ved å bruke upåvirkede cellepopulasjoner i testprøver.

Temperaturdefinisjoner

- -20 °C / Frosset / I fryser: -25 °C til -15 °C

DS551/CE-en v002.00/2025-08-29 (A001 v4 / A002 v3)

Side 1 av 5

- 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

Oppbevaring og håndtering

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



FISH-proben, DAPI Antifade ES-kontrafargen og hybridiseringsløsningen forblir stabile gjennom fryse-tine-syklusene som oppleves under normal bruk (hvor én syklus utgjør fjerning av ampullen fra og gjeninnsetting i fryseren)- 5 sykluser for 50 µl (5 tester) ampullen med FISH-probe, 10 sykluser for 100 µl (10 tester) ampuller med FISH-probe, og 15 sykluser for 150 µl (15 tester) ampuller med kontrafarge. 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 materialer som ikke medfølger

Det må benyttes kalibrert utstyr:

1. Varmerplate (med fast plate og nøyaktig temperaturkontroll opptil 80 °C)
2. Kalibrerte mikropipetter med forskjellige tupper og for forskjellige volum i området 1–200 µl
3. Vannbad med nøyaktig temperaturkontroll ved 37 °C og 72 °C
4. Mikrosentrifugerør (0,5 ml)
5. Fluorescensmikroskop (se avsnittet Anbefalinger for fluorescensmikroskopering)
6. Fasekontrastmikroskop
7. Rene Coplin-krukker av plast, keramikk eller varmeresistent glass
8. Pinsett
9. Kalibrert pH-måler (eller strips med pH-indikator som måler pH 6,5–8,0)
10. Fuktekammer
11. Immersjonsolje for fluorescensmikroskopering
12. Benksentrifuge
13. Objektglass for mikroskop
14. 24x24 mm dekkglass
15. Tidtaker
16. 37 °C inkubator
17. Lim (gummioppløsning)
18. Vortex-blander
19. Graderte sylinderglass
20. Magnetrører
21. Kalibrert termometer

Valgfritt utstyr som ikke medfølger

1. Cytogenetisk tørkekammer

Nødvendige reagenser som ikke medfølger

1. 20x natriumklorid/natriumsitrat-oppløsning (SSC)
2. 100 % etanol
3. Tween-20
4. 1M natriumhydroksid (NaOH)
5. 1M saltsyre (HCl)
6. Renset vann

Anbefalinger ved fluorescensmikroskopering

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

Fluorofor	Eksitasjon _{max} [nm]	Emisjon _{max} [nm]
Grønt	495	521
Oransje	551	572

Sørg for at mikroskopet har egnede eksitasjons- og emisjonsfiltre som dekker bølglengdespekteret som er angitt ovenfor. Det tredoble båndpassfilteret DAPI/FITC/TRITC er optimalt for å se de grønne og oransje fluoroforene samt kontrafarging samtidig. Trippelbåndpassfilteret DAPI/FITC/Texas Red kan også brukes til å se både fluoroforer og DAPI samtidig.

Sjekk at fluorescensmikroskopet fungerer som det skal før det brukes. Bruk immersjonsolje som er egnet for fluorescensmikroskopering, og som er formulert for «low auto»-fluorescens. 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 optelling av kromosom 13 og 21 i høyrisikosvangerskap der det er mistanke om Downs eller Patau syndrom, og som er preparert iht. laboratoriets eller institusjonens retningslinjer. Fostervannprøvetaking 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. Preparer lufttørkede prøver

på objektglass i henhold til standard cytogenetiske prosedyrer. AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* inneholder anbefalinger for prøvetaking, dyrking, høsting og prøvepreparering⁵.

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.

Anbefalt objektglass-forbehandling⁵.

1. Senk objektglasset klargjort fra 3:1 metanol/eddiksyrefikserte celler avledet fra fostervannsprøver i 2xSSC i 1 time ved 37 °C.
2. Plasser objektglasset i nylaget pepsinarbeidsløsning (5 mg pepsin tilsatt 100 ml 0,01M HCl) i 13 minutter ved 37 °C.
3. Senk objektglasset i fosfatbufret saltvann (PBS) ved romtemperatur (RT) i 5 minutter.
4. Senk objektglasset i etterfikseringsløsning (0,95 % formaldehyd: 1,0 ml 37 % formaldehyd, 0,18 g MgCl₂ og 39,0 ml PBS) i 5 minutter ved romtemperatur (RT).
5. Senk objektglasset i PBS ved romtemperatur (RT) i 5 minutter.
6. Senk objektglasset i 70 % etanol ved RT. La objektglasset stå i etanolvasken i 2 minutter.
7. Fjern objektglasset fra 70 % etanol. Gjenta trinn 6 med 80 % etanol, etterfulgt av 100 % etanol.
8. La lufttørke.

FISH-protokoll

(Obs! Pass alltid på at proben og kontrafargen eksponeres minst mulig for laboratoriebelysning).

Prøvepreparering (hopp over dette trinnet hvis objektglasset ble forbehandlet i henhold til protokollen ovenfor)

1. Legg celleprøven på et objektglass av glass. La tørke. (Valgfritt, hvis du bruker et cytogenetisk tørkekammer: For optimal prøvepreparering 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 romtemperatur, 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 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 varmerplate i 5 minutter.
9. Legg 10 µl probeblanding 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 varmerplate 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 romtemperatur.
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 romtemperatur (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. Hybridiseringsbetingelsene kan bli negativt påvirket dersom det brukes andre reagenser enn det 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 ekstrasygnaler 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.

Tolking av resultater

Vurdering av prøvepreparatets kvalitet

Prøvepreparatet 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 er bakgrunnen jevn og mørk eller svart
- Grensen til cellekjernen ikke kan skjønnes eller ikke er intakt

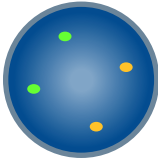
Retningslinjer for analyse

- 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
- De skal bare analysere intakte kjerner og ikke 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 det regnes som ett signal
- Dersom det ved analysering av tofargede «breakapart»-prober er en avstand mellom røde og grønne signaler som ikke er større enn 2 signalbredder, skal de tolkes som ikke-omgrupperte/sammenkoblede signaler
- Dersom det ved analysering av trefargede «breakapart»-prober er en avstand mellom 3 signaler (røde, grønne, blå) ikke er større enn 2 signalbredder, skal de tolkes som ikke-omgrupperte/sammenkoblede signaler
- Ved tvil om hvorvidt en celle er analyserbar eller ikke, skal den ikke analyseres

Retningslinjer for analyse	
	Skal ikke telles – kjernene er for nære hverandre til at grensene kan bestemmes
	Overlappende kjerner skal ikke telles – alle områder av begge kjerner er ikke synlige
	Telles som to oransje og to grønne signaler – ett av de to grønne signalene er diffuse

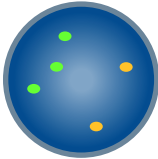
	Telles som to oransje og to grønne signaler – mellomrommet i ett grønt signal er mindre enn to signalbredder
--	--

Forventet mønster av normale signaler

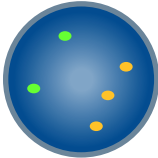


I en normal celle forventes to grønne og to oransje (2G2O).

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 i aneuploide/ubalanserte celleprøver.

Kjente relevante interferenser / interfererende stoffer

Ingen kjente relevante interferenser / interfererende stoffer.

Kjente kryssreaksjoner

Ingen kjente kryssreaksjoner.

Rapportering av alvorlige hendelser

For en pasient/bruker/tredjepart i EU og i land med identisk reguleringsregime (forordning (EU) 2017/746 om *In vitro* diagnostisk medisinsk utstyr); hvis det har oppstått 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, skal dette rapporteres til produsenten og, hvis relevant, til din nasjonale kompetente myndighet.

Produsentkontakt: vigilance@oqt.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

Analytisk spesifisitet er definert som prosentandelen signaler som viser hybridisering til korrekt locus og ingen annen lokasjon. I tyve metafaseceller fra 20 prøver ble det analysert fire kromosomloci i hver celle, hvilket tilsvarer 400 datapunkter. 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 hybridisert til riktig locus delt på det totale antallet FISH-signaler fra hybridiserte kromosomer i metafase. Dette resultatet ble multiplisert med 100, uttrykt i prosent og gitt med 95 % konfidensintervall.

Tabell 1. Analytisk spesifisitet for Prenatal 13 og 21 Enumeration Probe Kit

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

Analytisk sensitivitet

Analytisk sensitivitet er prosentandelen interfase-celler som kan gis en score og som har det forventede mønsteret av normale signaler. Minimum 50 interfaseceller ble analysert for hver av 25 fikserte cellesuspensjoner fra fostervannsprøver fra karyotypisk normale menn eller kvinner som ble bekreftet å ha et normalt komplement av kromosom 13 og 21 av FISH eller karyotype, noe som resulterte i minimum 1250 analyserte kjerner 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 2. Analytisk sensitivitet for Prenatal 13 og 21 Enumeration Probe Kit

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

Karakterisering av normale cut-off-verdier

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. Minimum 50 interfaseceller ble analysert for hver av 25 fikserte cellesuspensjoner fra fostervannsprøver fra karyotypisk normale menn eller kvinner som ble bekreftet å ha et normalt komplement av kromosom 13 og 21 av FISH eller karyotype, noe som resulterte i minimum 1250 analyserte kjerner for hver prøvetype.

Cut-off-verdien ble bestemt ved bruk av β -invers-funksjonen (BETAINV) 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 3. Karakterisering av normale cut-off-verdier for Prenatal 13 og 21 Enumeration Probe Sett

Prøvetype	Cut-off-resultat
Fostervann	8,97 %

Laboratorier må verifisere cut-off-verdier ved å bruke sine egne data, og i samsvar med eventuelle institusjonelle, regionale eller profesjonelle retningslinjer for beste praksis som kan gjelde innenfor deres diagnostiske miljø^{6,7}.

Nøyaktighet

Nøyaktigheten til dette produktet er målt som nøyaktighet fra prøve til prøve («intra-day»), nøyaktighet fra dag til dag («inter-day») og nøyaktighet fra batch til batch («single-site inter-lot»).

Tre (3) prøver ble brukt til å vurdere nøyaktigheten til dette produktet: en normal fostervann, en svakt positiv trisomi 13 fostervann (3G2O) og en svakt positiv trisomi 21 fostervann (2G3O). De svakt positive aminovæskeprøvene ble laget ved å bruke en andel av den normale fostervannsprøven og forsterke denne med en kjent positiv fostervannsprøve, med sikte på å skape en svakt positiv prøve i området 2–4x cut-off.

For å bestemme nøyaktigheten fra dag til dag («inter-day») og fra prøve til prøve («intra-day»), ble prøvene analysert på 10 ikke påfølgende dager, og for å bestemme nøyaktigheten fra batch til batch ble tre (3) batcher av produktet analysert i tre (3) replikater av de samme prøvene. Resultatene ble presentert som det totale samsvar med den forventet negative klassen (for de negative prøvene).

Tabell 4. Reproduserbarhet og nøyaktighet for Prenatal 13 og 21 Enumeration Probe Kit

Variabel	Prøvetype	Samsvar
Nøyaktighet fra prøve til prøve («intra-day») og fra dag til dag («inter-day»)	Fostervann negativ	100 %
	Fostervann svakt positiv trisomi 13 (3G2O)	100 %
	Fostervann svakt positiv trisomi 21 (2G3O)	96,7 %
Batch-til-batch nøyaktighet	Fostervann negativ	88,9 %
	Fostervann svakt positiv trisomi 13 (3G2O)	100 %
	Fostervann svakt positiv trisomi 21 (2G3O)	100 %

Klinisk ytelse

For å sikre at produktet 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/eddiksyrefiksert materiale fra prenatala 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

sammenlignet med prøvens kjente status. Proben ga alltid en korrekt identifikasjon av prøvenes status.

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 5. Klinisk ytelse for Prenatal 13 og 21 Enumeration Probe Kit

Variabel	Resultat
Klinisk sensitivitet (sann positiv rate, TPR)	100,0 %
Klinisk spesifisitet (sann negativ rate, TNR)	100,0 %
Falsk positiv rate (FPR) = 1 – Spesifisitet	0,00 %

Sammendrag av sikkerhet og ytelse (SSP)

SSP skal gjøres tilgjengelig for allmennheten via den europeiske databasen om medisinsk utstyr (Eudamed), der den er knyttet til Basic UDI-DI.

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

Basic UDI-DI: 50558449LPA003GL

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.

Tlf.: +44 (0)1223 294048

E: techsupport@cytocell.com

Nettside: www.ogt.com

Referanser

- 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.

Symboloversikt

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: Tilvirker	5.1.1
	no: Autorisert representant i De europeiske fellesskap/Den europeiske union	5.2.1
	no: Brukes innen-dato	5.4.1
	no: Batchkode	5.5.1
	no: Katalognummer	5.6.1
	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 <i>in vitro</i> -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

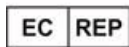
Patenter og varemerker

CytoCell er et registrert varemerke for CytoCell Limited.



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

Tlf.: +44 (0)1223 294048
Faks: +44 (0)1223 294986
E: probes@cytoCell.com
Nettsted: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Bornbarch 1
22848 Norderstedt
TYSKLAND

Tlf.: +49 40 527260
Nettsted: www.sysmex-europe.com

IFU versjonshistorikk

V001.00 2023-01-11: Ny bruksanvisning for forordning (EU) 2017/746
V002 2025-08-29: Fjerning av UKCA-merket.