



A Sysmex Group Company



Kasutusjuhend

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

Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit



AINULT ERIALASEKS KASUTAMISEKS



Lisateave ja muud keeled on saadaval aadressil ogt.com/IFU

Kasutusotstarve

Sondikomplekt CytoCell® Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit on kvalitatiivne, mitteautomaatne, fluorestsents *in situ* hübridisatsiooni (FISH) uuring, mida kasutatakse kromosoomi 13q14.2 piirkonna ja kromosoomi 21q22.1 piirkonna tuvastamiseks Carnoy lahuses (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud rakkudes, mis on saadud looteveeproovidest, et loetleda 13. ja 21. kromosoomi kõrge riskiga raseduste korral, kui kahtlustatakse Downi või Patau sündroomi.

Näidustused

See seade on loodud täiendusena teistele kliinilistele ja laboratoorsele uuringutele tunnustatud diagnostilistes ja kliinilistes raviteedades, näiteks ultraheli skriining ja biokeemilised uuringud, kus teadmised kromosoomi 13q14.2 piirkonna ja kromosoomi 21q22.1 piirkonna koopiaarvude olekust on olulised patsientide ravi seisukohast.

Piirangud

Seade on loodud tuvastama kromosomaalset materjali, mis sisaldab kromosoomi 13q14.2 ja kromosoomi 21q22.1 piirkondi vastavalt selle sondikomplekti rohelise ja oranži klooniga kaetud piirkonnas. Piirkonnast väljapoole jäävaid genoomilisi lisasid või kadusid või piirkondade osalisi lisasid või kadusid ei pruugita selle seadmega tuvastada.

See seade pole ette nähtud kasutamiseks iseseisva diagnostilise vahendina, diagnostilise abivahendina, populatsioonipõhiseks skriininguks, patsiendilähedaseks analüüsimiseks või isendal analüüsimiseks. Seadet ei ole valideeritud kasutamiseks muude proovitüüpide ega haigustüüpide korral ega muuks kasutusotstarbeks, peale selle, mis on kasutusotstarbes täpsustatud.

See seade on ette nähtud muude laboratoorse analüüside täiendamiseks ja ravi ei tohiks alustada, põhinedes vaid FISH-i tulemustel.

FISH-i tulemusi peab tõlgendama ja nendest teavitama vastava kvalifikatsiooniga personal vastavalt erialastele kutsestandarditele ja võttes arvesse muid asjakohaseid analüüsitulemusi ning muud kliinilist ja diagnostilist teavet.

See seade on ette nähtud vaid erialaseks laboratoorseks kasutamiseks.

Protokolli järgimata jätmine võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/negatiivseid tulemusi.

Analüüsi põhimõte

Fluorestsents *in situ* hübridisatsioon (FISH) on meetod DNA järjestuste tuvastamiseks metafaasi kromosoomides või fikseeritud tsütogeneetiliste proovide interfaasi tuumades. Meetod kasutab DNA sonde, mis hübridiseeritakse kogu kromosoomi või üksiku unikaalse järjestusega ning toimib G-vöödi tsütogeneetiliste analüüside võimeka täiendusena. Seda meetodit saab nüüd rakendada prenataalse, hematoloogilise ja tahke kasvaja kromosomaalse analüüsi esmatahtsa uuringu tööriistana. Fikseeritud ja denatureeritud sihtmärk-DNA on saadaval sarnase denatureeritud, fluorestsentsmarkeriga DNA sondiga paardumiseks, millel on komplementaarne järjestus. Peale hübridiseerimist eemaldatakse seondumata ja ebaspetsiifiliselt seotud DNA sond ning DNA visualiseeritakse vastandvärvimisega. Seejärel võimaldab fluorestsentsmikroskoopia hübridiseeritud sondi visualiseerimist sihtmärkmaterjalil.

Sondi teave

Downi sündroom (DS) on autosoomne trisoomia, mida põhjustab 21. kromosoomi kolmas (osaline või täielik) koopia ja seda iseloomustab varieeruv vaimne puue,

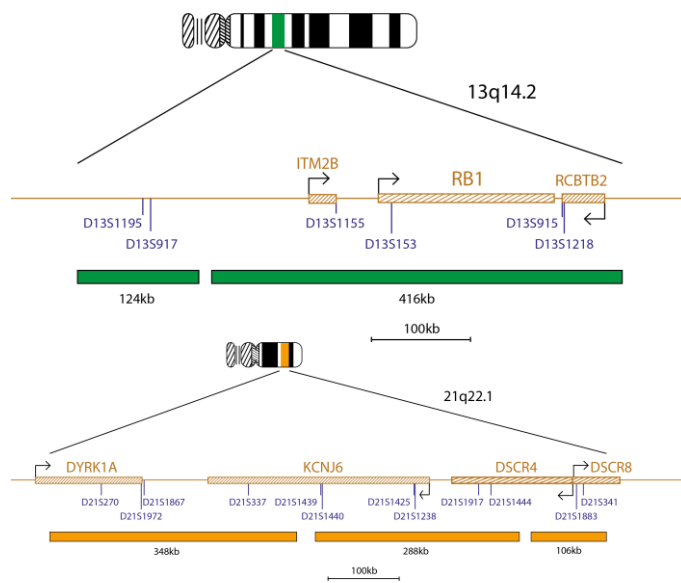
lihahüpotoonia ja liigeste lõtvus, mis on sageli seotud iseloomuliku näo düsmorfismiga ja mitmesuguste nähtustega, nagu südame-, seedeelundite, neurosensoorsed või sisesekretsioonidefektid^{1,2}. DS on ülemaailmselt üks peamisi vaimse puude põhjuseid ja selle patsientidel on mitmesuguseid tervisehäireid, nagu õppimisraskused ja mäluprobleemid, kaasasündinud südamehaigused (CHD), Alzheimeri tõbi (AD), leukeemia, vähkhaigused ja Hirschsprungi tõbi (HD)¹. DS-il on suur geneetiline kompleksus ja fenotüübi varieeruvus¹. 16. rasedusnädalal on DS-iga raseduste esinemine 20-aastaste emade puhul 1 rasedus 1050-st, 30-aastaste emade puhul 1 rasedus 620-st ja 40-aastaste emade puhul 1 rasedus 70-st³.

Patau sündroom (PS) on kromosomaalne anomaalia, mida põhjustab 13. kromosoomi lisakromosoom ja seda iseloomustavad väärengud (holoprosentsefaalia), näo düsmorfism, silmaanomaaliad, postaksiaalne polüdaktüülia, siseelundite vääreng (kardiopaatia) ja raske füüsiline-motoorne vääreng². PS-i seostatakse fenotüüpilise holoprosentsefaaliaga ja keha keskjoone kokkukasvamise anomaaliatega prekordiaalse mesodermi defektse kokkukasvamise tõttu embrüonaalses staadiumis⁴. 16. rasedusnädalal on PS-iga raseduste esinemine 20-aastaste emade puhul 1 rasedus 11 000-st, 30-aastaste emade puhul 1 rasedus 6500-st ja 40-aastaste emade puhul 1 rasedus 700-st³.

Sondi spetsifikatsioon

13. unikaalne järjestus, 13q14.2, roheline

21. unikaalne järjestus, 21q22.1, oranž



Roheline sondisegu sisaldab 124 kb sondi ja 416 kb sondi, mis hõlmab *ITM2B*, *RB1* ja *RCBTB2* gene. Oranž sondisegu hõlmab 21q22.1 piirkonda *DYRK1A* geenini kuni *DSCR8* geenini.

Tarnitavad materjalid

Sond: 50 µl viaali kohta (5 analüüsi) või 100 µl viaali kohta (10 analüüsi).

Sondid tarnitakse hübridiseerimislahusega eelsegatuna (< 65% formamiid; < 20mg dekstraansulfaat; < 10% 20-kordne naatriumsitraadi soolalahus (saline-sodium citrate, SSC)) ja on valmis kasutamiseks.

Vastandvärv: 150 µl viaali kohta (15 analüüsi)

Vastandvärv on pleekimisvastane DAPI ES (sisaldus 0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenüülindool) glütserooli põhises kinnituskokkonnas).

Hoiatused ja ettevaatusabinõud

- Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas. Ette nähtud vaid erialaseks laboratoorseks kasutamiseks.
- Sondi segud sisaldavad formamiidi, mis on teratogeenne; ärge hingake sisse auru ning vältige kontakti nahaga. Käsitsege ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikilti.
- Käsitsege DAPI-t ettevaatlikult; kasutage kindaid ja laborikilti.
- Ärge kasutage, kui viaal(id) on kahjustatud või kui viaali sisu on mistahes viisil rikutud.
- Tootejätmete ohutuks käitlemiseks järgige kohalikke jäätmekäitluseeskirju ja kemikaali ohutuskardiil toodud soovitusi. See kehtib ka kahjustatud analüüsikomplekti sisule.
- Vabanegest kõigist kasutatud reaktiividest ja muudest saastunud ühekordseks kasutuseks ette nähtud vahenditest nakkusohutike või potentsiaalselt nakkusohutike jäätmete käitlemise eeskirjade kohaselt. Iga labor peab ise vedelaid ja tahkeid jäätmeid käitlema vastavalt nende loomusele ja ohtlikkuse tasemele ning tagama nende käitlemise ja kõrvaldamise (või laskma need käidelda ja kõrvaldada) vastavalt kehtivatele eeskirjadele.
- Kasutajad peavad olema suutelised eristama punast, sinist ja rohelist värvi.
- Esitatud protokolli ja reaktiivide järgimata jätmine võib mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.
- Sondi ei tohiks lahjendada ega segada teiste sondidega.
- Kui denatureerimise eel etapil ei kasutata 10 µl sondi, nagu on protokollis ette nähtud, siis võib see mõjutada analüüsi toimivust ja põhjustada valepositiivseid/valenegatiivseid tulemusi.

11. Kõiki tooteid tuleb enne kasutamist valideerida.
12. Sisemised kontrollid tuleb läbi viia kontrollproovidega, mis sisaldavad mõjutamata rakupopulatsioone.

Temperatuuri määratlused

- -20 °C / külmutatud / külmikus: -25 °C...-15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Toatemperatuur: +15 °C...+25 °C

Säilitamine ja käsitlemine

 Komplekti tuleb säilitada külmutatuna temperatuurivahemikus -25...-15 °C kuni kehtivusaja lõpuni, mis on esitatud toote etiketil. Sondi ja vastandvärvi viaale tuleb säilitada pimedas.



FISH-i sond, pleekimisvastane DAPI ES vastandvärv ja hübridiseerimislahus säilitavad stabiilsuse normaalse kasutamise ajal esinevate sulatamise ja külmutamise tsükli kestel (kus üks tsüklil kestab sondi eemaldamisest külmikust kuni sinna tagasipanekuni)–5 tsükli 50 µl (5 analüüsi) FISH-i sondi viaali puhul, 10 tsükli 100 µl (10 analüüsi) FISH-i sondi viaali puhul ja 15 tsükli 150 µl (15 analüüsi) vastandvärvi viaali puhul. Kokkupuudet valgusega tuleb piirata ja võimaluse korral alati vältida. Hoidke komponente kaasas olevas valguskindlas mahutis. Siltidel märgitud erinevatel tingimustel säilitatud ja kasutatud komponendid ei pruugi oodatud viisil toimida ja võivad mõjutada analüüsitulemusi. Piirake iga hinna eest kokkupuudet valgusega ja temperatuurimuutustega.

Seadmed ja materjalid, mis on vajalikud, kuid mida ei tarnita

Kasutada tuleb kalibreeritud seadmeid.

1. Kuumutusplaat (täisplaadi ja täpse temperatuuriregulaatoriga kuni 80 °C)
2. Kalibreeritud erineva mahuga mikropipetid ja otsikud vahemikus 1–200 µl
3. Vesivann, täpse temperatuuriregulaatoriga 37 °C ja 72 °C juures
4. Mikrotsentrifuugi katsutid (0,5 ml)
5. Fluorestsentsmikroskoop (vt lõiku Fluorestsentsmikroskoobi soovitusel)
6. Faaskontrastmikroskoop
7. Läbipaistvast plastist, keraamilised või kuumakindlast klaasist Coplini anumad
8. Pintsetid
9. Kalibreeritud pH-meeter (või pH indikaatorribad vahemikus pH 6,5–8,0)
10. Niiskuskamber
11. Fluorestsentsmikroskoobi immersioonõli
12. Lauatsentrifuug
13. Mikroskoobi alusklaasid
14. 24×24 mm katteklasisid
15. Taimer
16. 37 °C inkubaator
17. Katteklaasi liim
18. Vortex-segisti
19. Gradueeritud silindrid
20. Magnetsegisti
21. Kalibreeritud termomeeter

Valikulised seadmed, mida ei tarnita

1. Tsütogeneetiline kuivatuskamber

Vajalikud reaktiivid, mida ei tarnita

1. 20-kordne naatriumsitraadi soolalahus (SSC)
2. 100%-line etanool
3. Tween-20
4. 1M naatriumhüdroksiid (NaOH)
5. 1M vesinikkloriid (HCl)
6. Destilleeritud vesi

Fluorestsentsmikroskoobi soovitusel

Kasutage optimaalseks visualiseerimiseks 100-vatist elavhõbelampi või sellega samaväärset ning immersioonõliga apokromaatsset objektiivi 60/63-kordse või 100-kordse suurendusega. Selles sondi kompleksis kasutatud fluorofoorid aktiveeruvad ja emiteerivad järgnevat lainepikkustel:

Fluorofoor	Eksitatsioon _{max} [nm]	Emissioon _{max} [nm]
Roheline	495	521
Oranž	551	572

Veenduge, et asjakohased eksitatsiooni- ja emissioonifiltrid, mis hõlmavad eespool esitatud lainepikkusi, on mikroskoopi paigaldatud. Rohelise ja oranži fluorofoori vaatlemiseks on optimaalne kasutada kolme spektri läbilaskevõimega DAPI/FITC/TRITC filtrit ja vastandvärvi samaaegselt. Mõlema fluorofoori ja DAPI samaaegseks vaatlemiseks saab kasutada ka kolme spektri läbilaskevõimega filtrit DAPI / FITC / Texas Red.

Kontrollige enne kasutamist fluorestsentsmikroskoopi, et veenduda selle korrasolekus. Kasutage immersioonõli, mis on fluorestsentsmikroskoopiaks sobiv ja on madala autofluorestsentsiga. Vältige pleekimisvastase DAPI segamist immersioonõliga, kuna see segab signaali. Järgige tootja soovitusi lambi tööea ja filtrite vanuse kohta.

Proovi ettevalmistamine

Komplekt on loodud kasutamiseks Carnoy lahusega (3:1 metanool/atseethape) fikseeritud rakkudel, mis on võetud looteveest ja ette valmistatud vastavalt labori

või asutuse eeskirjadele, et loetleda 13. ja 21. kromosoomi kõrge riskiga raseduste korral, kui kahtlustatakse Downi või Patau sündroomi. Looteveeproovid tuleb võtta vastavalt labori või asutuse eeskirjadele. Proove, mis paistavad verisena või pruunina, ei tohiks kasutada, kuna need võivad sisaldada ema verd ja võivad anda valesid tulemusi. Valmistage ette õhu käes kuivatatud mikroskoobi alusklaasid vastavalt tsütogeneetika standardprotseduuridele. AGT *Tsütogeneetika laborijuhend* sisaldab soovitusi proovi kogumise, kultuuri istutamise, kogumise ja slaidi tegemise kohta⁵.

Lahuse ettevalmistamine

Etanooli lahused

Lahjendage 100%-line etanool destilleeritud veega, jälgides suhtarvu ja põhjalikult segades:

- 70%-line etanool–7 osa 100%-list etanooli suhtes 3 osa destilleeritud vett
 - 85%-line etanool–8,5 osa 100%-list etanooli suhtes 1,5 osa destilleeritud vett
- Säilitage lahuseid kuni 6 kuud toatemperatuuril õhukindlas nõus.

2-kordne SSC lahus

Lahjendage 1 osa 20-kordset SSC lahust 9 osa destilleeritud veega ja segage põhjalikult. Kontrollige pH-d ja kohandage, kuni pH on 7,0, kasutades NaOH või HCl vastavalt vajadusele. Säilitage lahust kuni 4 nädalat toatemperatuuril õhukindlas nõus.

0,4-kordne SSC lahus

Lahjendage 1 osa 20-kordset SSC lahust 49 osa destilleeritud veega ja segage põhjalikult. Kontrollige pH-d ja kohandage, kuni pH on 7,0, kasutades NaOH või HCl vastavalt vajadusele. Säilitage lahust kuni 4 nädalat toatemperatuuril õhukindlas nõus.

2-kordne SSC, 0,05% Tween-20 lahus

Lahjendage 1 osa 20-kordset SSC lahust 9 osa destilleeritud veega. Lisage 5 µl Tween-20 10 ml kohta ja segage põhjalikult. Kontrollige pH-d ja kohandage, kuni pH on 7,0, kasutades NaOH või HCl vastavalt vajadusele. Säilitage lahust kuni 4 nädalat toatemperatuuril õhukindlas nõus.

Slaidi soovitatav eeltöötlemine⁵.

1. Kastke 3:1 metanooli/atseethappega fikseeritud, looteveeproovidest võetud rakud 2-kordsesse SSC lahusesse 1 tunniks 37 °C juures.
2. Asetage slaid värskest ettevalmistatud pepsiini töölahusesse (5 mg pepsiini lisatud 100 ml 0,01 M HCl-ile) 13 minutiks 37 °C juures.
3. Kastke slaid fosfaatpuhvriga füsioloogilisse lahusesse (PBS) 5 minutuks toatemperatuuril.
4. Kastke slaid järelikseerimislahusesse (0,95% formaldehüüd: 1,0 ml 37% formaldehüüdi, 0,18 g MgCl₂-e ja 39,0 ml PBS-i) 5 minutiks toatemperatuuril.
5. Kastke slaid PBS-i 5 minutuks toatemperatuuril.
6. Kastke slaid 70% etanooli toatemperatuuril. Laske slaidil seista 2 minutit etanooli pesulahuses.
7. Eemaldage slaid 70% etanoolist. Korra 6. juhust 80% etanooliga ja seejärel 100% etanooliga.
8. Laske õhu käes kuivada.

FISH-i protokoll

(Märkus. Veenduge, et sondi ja vastandvärvi kokkupuude labori valgustusega oleks kogu aeg piiratud).

Slaidi ettevalmistamine (jätke see etapp vahele, kui eeltöötlesite slaidi ülalkirjelatud protokoll järgides)

1. Tilgutage rakuproov mikroskoobi klaasist alusklaasile. Laske kuivada. (Tsütogeneetilise kuivatuskambri kasutamisel võite toimida järgmiselt: optimaalseks slaidi valmistamiseks tuleks kambrit kasutada temperatuuril ligikaudu 25 °C ja õhuniiskusel 50%. Kui tsütogeneetiline kuivatuskamber ei ole kättesaadav, kasutage alternatiivina tõmbekappi).
2. Kastke slaidid toatemperatuuril 2 minutiks 2-kordsesse SSC lahusesse ilma segamata.
3. Dehüdrateerige etanoolilahuste seerias (70%, 85% ja 100%), igas 2 minutit toatemperatuuril.
4. Laske kuivada.

Enne denaturatsiooni

5. Eemaldage sond külmikust ja laske sel soojeneda toatemperatuurile. Tsentrifugeerige katsuteid lühidalt enne kasutamist.
6. Veenduge, et sondi lahust on ühtlaselt segunenud, kasutades pipetti.
7. Eemaldage 10 µl sondi analüüsi kohta ja viige see mikrotsentrifuugi katsutisse üle. Tagastage ülejäänud sond kiiresti külmikusse.
8. Asetage sond ja proovislaid 5 minutiks kuumutusplaadile eelsoojenema temperatuurile 37 °C (+/-1 °C).
9. Tilgutage 10 µl sondisegu rakuproovile ja asetage ettevaatlikult katteklasis. Lisage katteklasis liim ja laske liimil täielikult kuivada.

Denaturatsioon

10. Denatureerige proov ja sond üheaegselt, kuumutades slaidi kuumutusplaadil temperatuuril 75 °C (+/-1 °C) 2 minutit.

Hübridisatsioon

11. Asetage slaid niiskesse valguskindlasse kambritse temperatuurile 37 °C (+/-1 °C), laske seista üleöö.

Hübridisatsioonijärgsed pesud

12. Eemaldage DAPI külmikust ja laske soojeneda toatemperatuurile.
13. Eemaldage ettevaatlikult katteklasisid ja kõik liimijäljed.
14. Kastke slaidid 2 minutiks ilma segamata 0,4-kordsesse SSC lahusesse (pH 7,0) temperatuuril 72 °C (+/-1 °C).

- Kuivatage slaid ja kastke see 30 sekundiks ilma segamata 2-kordsesse SSC lahusesse, 0,05% Tween-20 lahusesse, toatemperatuuril (pH 7,0).
- Kuivatage slaid ja lisage igale proovile 10 µl pleekimisvastast DAPI-d.
- Katke katteklasega, eemaldage mullid ja laske värvil pimedas kujuneda 10 minutit.
- Vaadake fluorestsentsmikroskoobiga (vt **Fluorestsentsmikroskoobi soovitus**).

Protseduuri soovitus

- Slaidide keetmine või aegumine võib fluorestsentssignaali nõrgendada.
- Cytocell Ltd poolt toodetud või soovitatud reaktiivide asemel muude reaktiivide kasutamine võib ebasoodsalt mõjutada hübriidseerimistingimusi.
- Kasutage lahuste, vesivannide ja inkubaatorite temperatuuri mõõtmisel kalibreeritud termomeetrit, sest need temperatuurid on toote optimaalseks toimimiseks kriitilise tähtsusega.
- Pesukontsentratsioonid, pH ja temperatuurid on olulised, kuna vähene rangus võib põhjustada sondi ebaspetsiifilist sidumist ja liiga suur rangus võib põhjustada signaali puudumist.
- Mittetäielik denatureerimine võib põhjustada signaali puudumist ja üleliigne denatureerimine võib samuti põhjustada ebaspetsiifilist seondumist.
- Üleliigne hübriidseerimine võib põhjustada täiendavaid või ootamatuid signaale.
- Kasutajad peaksid enne analüüsi kasutamist diagnostilisel eesmärgil protokollil oma proovidega optimeerima.
- Suboptimaalsed tingimused võivad põhjustada ebaspetsiifilist seondumist, mida võidakse ekslikult sondi signaalina tõlgendada.

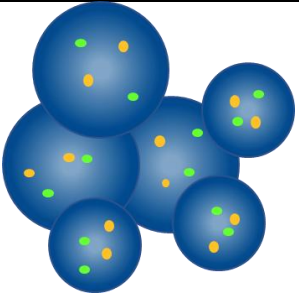
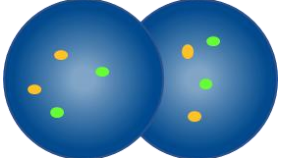
Tulemuste tõlgendamine
Slaidi kvaliteedi hindamine

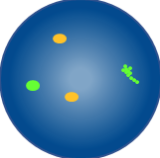
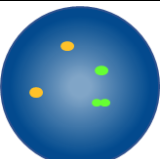
Slaidi ei tohiks analüüsida, kui

- signaalid on ühe filtriga analüüsimiseks liiga nõrgad–analüüsi jätkamiseks peaksid signaalid olema eredad, selged ja lihtsalt hinnatavad;
- liiga palju kokkukleepunud/kattuvaid rakke segavad analüüsimist;
- üle 50% rakkudest pole hübriidseeritud;
- rakkude vahel on üleliigsed fluorestsentsosakesed ja/või fluorestsentshägu, mis segab signaali–optimaalsetel slaididel peaks taust tunduma tume või must ja puhas;
- rakutuuma piire ei saa eristada ja need pole terviklikud.

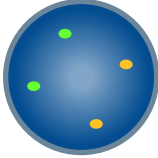
Analüüsi eeskirjad

- Igat proovi peaks analüüsima ja tõlgendama kaks analüütikut. Kõik lahkevused tuleks lahendada kolmanda analüütiku hinnanguga.
- Analüütikud peaks olema riiklikult tunnustatud standardite kohase väljaõppega.
- Iga analüütik peab hindama sõltumatult igast proovist piisavalt tuumasid, et analüütikute kombineeritud tulemused vastaksid asutuse, piirkondlike või riiklike suunistega määratud miinimumkriteeriumidele. Esimene analüütik peaks alustama slaidi vasakult küljelt ja teine analüütik paremalt küljelt.
- Iga analüütik peaks oma tulemused üles märkima eraldi andmekandjale.
- Analüüsige vaid terviklikke tuumi, mitte kattuvaid või kokkukleepunud või tsütoplasma jääkidega kaetud ega autofluorestsenteerivaid tuumi.
- Vältige alasid, kus esineb liigseid tsütoplasma jääke või ebaspetsiifilist hübriidseerimist.
- Signaali tugevus võib vahelduda, isegi ühe tuuma piires. Sellistel juhtudel kasutage üksikfiltrid ja/või kohandage fokaaltasandit.
- Suboptimaalsete tingimuste korral võivad signaalid hajuda. Kui kaks sama värvi signaali puutuvad kokku või nendevaheline kaugus ei ole suurem kui kaks signaalipikkust või signaale ühendab ähmane niit, lugege signaalid üheks.
- Kui kahevärvilise lahutatavate sondide analüüsimisel ei ole punase ja rohelise signaali vahel tühimik suurem kui 2 signaalipikkust, lugege see ümber korraldamata / sulandunud signaaliks
- Kui kolmevärviliste lahutatavate sondide analüüsimisel ei ole mistahes 3 signaali (punane, roheline ja sinine) vahel tühimik suurem kui 2 signaalipikkust, lugege see ümber korraldamata / sulandunud signaaliks.
- Kui kahtlete, kas proov on analüüsimiseks sobiv, siis ärge analüüsige seda.

Analüüsi eeskirjad	
	Mitte lugeda, kui tuumad on piiride määramiseks üksteisele liiga lähedal
	Mitte lugeda kattuvaid tuumasid, sest mõlema tuumi kõik alasid ei ole näha

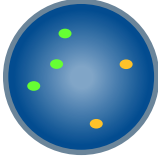
	Lugeda kahe oranži ja kahe rohelise signaalina, kui üks kahest rohelisest signaalist on difuusne
	Lugeda kahe oranži ja kahe rohelise signaalina, kui ühe rohelise signaali tühimik on kahest signaalipikkusest väiksem

Eeldatav normaalne signaalimuster

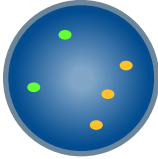


Normaalse raku eeldatav tulemus on kaks rohelist ja kaks oranži signaali (2R2O).

Eeldatavad ebanormaalsed signaalimustrid



Trisoomia 13-ga raku eeldatav tulemus on kolm rohelist ja kaks oranži signaali (3R2O).



Trisoomia 21-ga raku eeldatav tulemus on kaks rohelist ja kolm oranži signaali (2R3O).

Aneuploidsete/tasakaalustamata proovides võivad esineda teised signaalimustrid.

Teadaolevad asjakohased segajad / segavad ained

Asjakohaseid segajaid / segavaid aineid pole teada.

Teadaolev ristreaktiivsus

Teadaolev ristreaktiivsus puudub.

Teavitamine tõsisest juhtumist

Patsientidele / kasutajatele / kolmandatele osapooltele Euroopa Liidus ja identsete eeskirjadega riikides (määrus (EL) 2017/746 *In vitro* diagnostikameditsiiniseadmete kohta): kui seadme kasutamise käigus või seoses selle kasutamisega on leidnud aset tõsine juhtum, tuleb sellest teavitada tootjat ja riiklikku pädevat ametiasutust. Muudes riikides tuleb tõsisest juhtumitest teavitada tootjat ja, kui see on nõutav, riiklikku pädevat ametiasutust. Tootja järelevalve kontaktandmed: vigilance@ogt.com Järelevalvet teostavate ELi riiklike pädevate ametiasutuste loend on esitatud lehel: https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Spetsiifilised toimivuskarakteristikud

Analüütiline spetsiifilisus

Analüütiline spetsiifilisus on määratletud kui üksnes õige lookusega hübriidseeritud signaalide protsentarv. Analüüsiti nelja kromosomaalset lookust viie proovi kõigis 20-s metafaasi rakus, saades 400 andmepunkti. Iga hübriidseeritud sondi asukoht kaardistati ja õige lookusega hübriidseeritud metafaasi kromosoomi FISH-i signaalide arv salvestati.

Arvutati komplekti iga sondi analüütilise spetsiifilisuse number, jagades õige lookusega hübriidseeritud metafaasi kromosoomi FISH-i signaalide arvu hübriidseeritud metafaasi kromosoomi FISH-i signaalide koguarvuga, saadud tulemus korrutati 100-ga, väljendati protsendina ja anti 95% usaldusvahemik.

Tabel 1. Sondikomplekti Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit analüütiline spetsiifilisus

Sihthmärk	Hübridiseeritud metafaasi kromosoomide arv	Õigesti hübridiseeritud lookuste arv	Analüütiline spetsiifilisus	95% usaldusvahemik
21q22.1	200	200	100%	98,12–100%
13q14.2	200	200	100%	98,12–100%

Analüütiline tundlikkus

Analüütiline tundlikkus on hinnatavate interfaasi rakkude protsent eeldatava normaalse signaalmustrit suhtes. Iga 25 fikseeritud looteveerakususpensiooni karüotüüpiliselt normaalsetelt meestelt või naistelt, mille puhul kinnitati FISH-i või karüotüübi alusel 13. ja 21. kromosoomi normaalne arv, analüüsiti vähemalt 50 interfaasi raku, saades tulemuseks vähemalt 1250 tuuma iga proovitüübi kohta. Tundlikkuse andmeid analüüsiti normaalse eeldatava signaalmustriga rakkude protsendi alusel ja väljendati protsendina 95% usaldusvahemikuga.

Tabel 2. Sondikomplekti Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit analüütiline tundlikkus

Proovi tüüp	Tundlikkuse kriteeriumid	Tundlikkuse tulemus
Lootevesi	>95%	96,24% (94,84–97,64%)

Normaalse väljaarvamise piirväärtuste kirjeldus

Normaalne väljaarvamine määratletakse nende rakkude protsendina, mis näitavad valepositiivset signaalmustrit, mille korral isik loetakse normaalseks ja kliinilisele diagnoosile mittevastavaks. Iga 25 fikseeritud looteveerakususpensiooni karüotüüpiliselt normaalsetelt meestelt või naistelt, mille puhul kinnitati FISH-i või karüotüübi alusel 13. ja 21. kromosoomi normaalne arv, analüüsiti vähemalt 50 interfaasi raku, saades tulemuseks vähemalt 1250 tuuma iga proovitüübi kohta.

Väljaarvamise piirväärtus määratleti MS Excelis funktsiooniga β -inverse (BETAINV). See arvutati valepositiivset signaalmustrit näitavate interfaasi rakkude protsendina, kasutades normaalse patsiendiproovi binominaalse jaotuse ühepoolse 95% usaldusvahemiku ülemist seotust.

Tabel 3. Sondikomplekti Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit normaalse väljaarvamise piirväärtuse kirjeldus

Proovi tüüp	Väljaarvamise tulemus
Lootevesi	8,97%

Laborid peavad kinnitama piirväärtused oma enda andmete põhjal ja lähtudes asutuse, piirkondlikest või professionaalsetest hea tava suunistest, mis võivad kehtida nende diagnostilises kontekstis^{6,7}.

Täpsus

Selle toote täpsus on mõõdetud päevasisese täpsusena (proov-prooviga), päevadevahelise täpsusena (päev-päevaga) ja ühe asutuse partiidevahelise täpsusena (partii-partiiga).

Toote täpsuse hindamisel kasutati kolme (3) proovi: üks normaalne looteveeproov, üks nõrgalt positiivne trisoomia 13 looteveeproov (3G2O) ja üks nõrgalt positiivne trisoomia 21 looteveeproov (2G3O). Nõrgalt positiivsed looteveeproovid konstrueeriti normaalseste looteveeproovide osast, mida väärdindati teadaoleva positiivse looteveeprooviga, eesmärgiga luua nõrgalt positiivne proov 2–4-kordses väljaarvamise vahemikus.

Päevadevahelise ja päevasisese täpsuse kindlaks tegemiseks hinnati proove 10-l mittejärjestikusel päeval ning partii-partiiga täpsuse kindlaks tegemiseks hinnati toote kolme (3) partiid sama proovi kolme (3) replikaadiga. Tulemused esitati üldise ühilduvusena prognoositud negatiivse klassiga (negatiivsete proovide korral).

Tabel 4. Sondikomplekti Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit reprodutseeritavus ja täpsus

Muutuja	Proovi tüüp	Ühilduvus
Päevasisene ja päevadevaheline täpsus	Lootevesi, negatiivne	100%
	Lootevesi, nõrgalt positiivne trisoomia 13 (3R2O)	100%
	Lootevesi, nõrgalt positiivne trisoomia 21 (2R3O)	96,7%
Partii-partiiga täpsus	Lootevesi, negatiivne	88,9%
	Lootevesi, nõrgalt positiivne trisoomia 13 (3R2O)	100%
	Lootevesi, nõrgalt positiivne trisoomia 21 (2R3O)	100%

Kliiniline toimivus

Tagamaks, et toode tuvastab ettenähtud ümberkorraldused, tehti toote kliiniline toimivus kindlaks toote sihtpopulatsiooni esindusproove hõlmava kolme uuringuga: 3:1 metanooli/atseethappega fikseeritud jääkmaterjal prenataalsetest looteveeproovidest. Uuringu proovide hulk oli 172 proovi, mille populatsiooni moodustas 15 trisoomia 13 suhtes positiivset proovi ja 157 trisoomia 13 suhtes negatiivset proovi ning 109 trisoomia 21 suhtes positiivset proovi ja 63 trisoomia 21 suhtes negatiivset proovi. Tulemusi võrreldi proovi teadaoleva olekuga. Sond tuvastas kõigil juhtudel proovi oleku õigesti.

Testide tulemusi analüüsiti ühemõõtelise meetodiga, et selgitada välja positiivsete signaalide kliinilise tundlikkuse, kliinilise spetsiifilisuse ja valepositiivsuse määra (FPR) väärtused.

Tabel 5. Sondikomplekti Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit kliiniline toimivus

Muutuja	Tulemus
Kliiniline tundlikkus (true positive rate, TPR) (tõeselt positiivsete määr)	100,0%
Kliiniline spetsiifilisus (true negative rate, TNR) (tõeselt negatiivsete määr)	100,0%
Valepositiivsuse määr (false positive rate, FPR) = 1–spetsiifilisus	0,00%

Ohutuse ja toimivuse kokkuvõte (OTK)

OTK tehakse avalikkusele ligipääsetavaks Euroopa meditsiiniseadmete andmebaasi (Eudamed) kaudu, kus see on seotud põhi-UDI-DI-ga. Eudamedi URL: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> Põhi-UDI-DI: 50558449LPA003GL

Kui Eudamed ei toimi täielikult, tehakse OTK avalikkusele ligipääsetavaks nõudmisel meili teel SSP@oqt.com.

Lisateave

Lisateavet saate kontakteerudes ettevõtte CytoCell tehnilise toe osakonnaga. Tel: +44 (0)1223 294048 E-post: techsupport@cytoCELL.com Veebisait: www.oqt.com

Viited

- 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, M.J. ja Lawce HJ. (toim.) (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.

Sümbolite sõnastik

EN ISO 15223-1:2021–„Meditsiiniseadmed–Sümbolid, mida kasutatakse koos tootja poolt esitatava teabega–1. osa: Üldnõuded“ (© Rahvusvaheline Standardiorganisatsioon)		
Sümbol	Pealkiri	Viitenumber (-numbrid)
	et: Tootja	5.1.1
	et: Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses / Euroopa Liidus	5.1.2
	et: Kõlblik kuni	5.1.4
	et: Partii number	5.1.5
	et: Kataloogi number	5.1.6
	et: Hoidke päikesevalguse eest kaitstult	5.3.2
	et: Temperatuuripiirang	5.3.7

	et: Vt kasutusjuhised	5.4.3
 ogt.com/IFU	et: Lugege elektroonilist kasutusjuhendit	5.4.3
	et: Hoiatus!	5.4.4
	et: <i>In vitro</i> diagnostikameditsiiniseade	5.5.1
	et: Sisaldus piisav <n> analüüsi jaoks	5.5.5
	et: Seadme unikaalne identifikaator	5.7.10
IVD reaktiivide ja komponentide EDMA sümbolid, 2009. a oktoobri väljaanne		
Sümbol	Pealkiri	Viitenumber (-numbrid)
	et: Sisaldus (või sisaldab)	Ei kohaldata

Patendid ja kaubamärgid

CytoCell on ettevõtte CytoCell Limited registreeritud kaubamärk.



CytoCell Limited

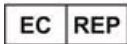
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
ÜHENDKUNINGRIIK

Tel: +44 (0)1223 294048

Faks: +44 (0)1223 294986

E-post: probes@cytoCell.com

Veebisait: www.ogt.com



Sysmex Europe SE

Bornbarch 1
22848 Norderstedt
SAKSAMAA

Tel: +49 40 527260

Veebisait: www.sysmex-europe.com

Kasutusjuhendi versioonialalugu

V001 2023-01-11: Uus kasutusjuhend kooskõlas määrusega (EL) 2017/746

V002 2025-08-29: UKCA märgi eemaldamine