



A Sysmex Group Company



Bruksanvisning

REF: CE-LPA 001-S/CE-LPA 001/
CE-LPA 001-30/CE-LPA 001-50

Prenatal Enumeration Probe Kit



ENDAST FÖR PROFESSIONELLT BRUK



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

Avsett ändamål

CytoCell® Prenatal Enumeration Probe Kit är ett kvalitativt, icke-automatiserat fluorescens-*in-situ*-hybridiseringstest (FISH) som används för att detektera de alfacentromeriska regionerna på kromosom Xp11.1-q11.1, Yp11.1-q11.1 och 18p11.1-q11.1, samt regionerna kromosom 13q14.2 och 21q22.1 i celler fixerade i Carnoys lösning (3:1 metanol/ättiksyra) härledda från fostervattenprover, vid uppräknings av kromosomerna X, Y, 13, 18 och 21 i högriskgraviditeter där Turners, Patau, Edwards eller Downs syndrom misstänks.

Indikationer för användning

Denna enhet är avsedd att användas som ett komplement till andra kliniska och laborietester inom etablerade diagnostiska och kliniska vårdkedjor, såsom ultraljudsundersökningar och biokemiska tester, där kunskap om kopianstallsstatusen för de centromeriska regionerna på kromosomerna Xp11.1-q11.1 och 18p11.1-q11.1 alfa-centromerregionerna samt regionerna 13q14.2 och 21q22.1 skulle vara viktig för patienthanteringen.

Begränsningar

Denna enhet är utformad för att detektera kromosommaterial som inkluderar de centromeriska regionerna som täcks av de gröna, orangea och aquafärgade klonerna i komponenten Prenatal X, Y och 18 Enumeration Probe, för kromosomerna X, Y respektive 18. Genomiska vinster eller förluster utanför dessa regioner, eller partiella förluster eller vinster av dessa regioner, kanske inte detekteras med denna enhet.

Denna enhet är också utformad för att detektera kromosommaterial som inkluderar kromosomregionerna 13q14.2 och 21q22.1 som täcks av de gröna och orangea klonerna i komponenten Prenatal 13 och 21 Enumeration Probe. Genomiska vinster eller förluster utanför dessa regioner, eller partiella förluster eller vinster av dessa regioner, kanske inte detekteras med denna produkt.

Enheten är inte avsedd för fristående diagnostisering, behandlingsvägledande diagnostik, populationsbaserad screening, patientnära testning eller egentestning. Denna enhet har inte validerats för provtyper, sjukdomstyper eller ändamål utöver de som anges i det avsedda ändamålet. Denna enhet har inte validerats för användning vid detektion av förstärkningar av kromosom X och/eller Y.

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

Rapportering och tolkning av FISH-resultat bör utföras av lämpligt kvalificerad personal, i enlighet med professionella standarder, och bör ta hänsyn till andra relevanta testresultat samt klinisk och diagnostisk information.

Denna enhet är endast avsedd för professionell användning i laboratorier.

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 som gör att DNA-sekvenser kan detekteras på metafaskromosomer eller i interfaskärnor från fixerade cytogenetiska prover. Tekniken använder DNA-sonder som hybridiserar till hela kromosomer eller enskilda unika sekvenser, och fungerar som ett kraftfullt komplement till klassisk cytogenetik. Den senaste utvecklingen har inneburit att denna värdefulla teknik nu kan tillämpas som ett viktigt diagnostiskt verktyg vid prenatal, hematologisk och patologisk kromosomanalys. 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 sedan den hybridiserade sonden på målmaterialet.

Sondinformation

Molekylär cytogenetisk analys spelar en central roll i den prenatala utvärderingen av högriskgraviditeter, vilket möjliggör korrekt identifiering av kromosomavvikelser och bedömning av återfallsrisk. De vanligaste kromosomavvikelserna är aneuploidier, definierade som ett onormalt antal kromosomkopior, där drabbade individer vanligtvis uppvisar trisomi (tre kopior av en kromosom) eller monosomi (enda kopia av en kromosom).¹ Välkända, kliniskt signifikanta aneuploidier inkluderar trisomierna 13, 18 och 21, samt monosomi X. Dessa avvikelser representerar viktiga bidragsgivare till utvecklingsstörningar och negativa reproduktionsresultat och är bland de vanligaste indikationerna för invasiv prenatal diagnostik.²

Trisomy 21 (Downs syndrom), den vanligaste livskraftiga autosomala trisomin, kännetecknas av kognitiv försämring, medfödda hjärtfel och multisystemsjukdom, och är fortfarande en viktig indikation för prenatal genetisk testing.^{3,4} Trisomi 13 (Patau syndrom) kännetecknas av hjärnmissbildningar (holoprosencefali), ansiktsdysmorfism, okulära avvikelser, postaxial polydaktyli, visceral missbildningar (kardiopati) och allvarlig psykomotorisk retardation.⁵ Trisomi 18 (Edwards syndrom) är associerat med allvarliga medfödda missbildningar, hög perinatal dödlighet och väldefinierade ultraljudsfenotyper, vilket understryker behovet av korrekt prenatal detektion och genetisk bekräftelse.^{6,7} Monosomi X (Turners syndrom), även kallat kongenitalt ovariellt hypoplasisyndrom, är den vanligaste könskromosomavvikelsen hos kvinnor och är ett resultat av fullständig eller partiell avsaknad av en X-kromosom.⁸

Prenatal diagnostik erbjuds vid högriskgraviditeter med ökad risk för kromosomavvikelser såsom trisomi 13, 18, 21 och monosomi X. FISH är en validerad molekylär cytogenetisk metod för snabb detektion och räkning av kromosomkopieantal i interfaskärnor. FISH möjliggör målinriktad detektion av vanliga aneuploidier och ger snabba resultat som underlag för kliniska beslut. Metoden används i stor utsträckning inom modern aneuploididiagnostik, särskilt i de fall där en snabb bekräftelse av kromosomernas kopianstal krävs.^{9,10,11}

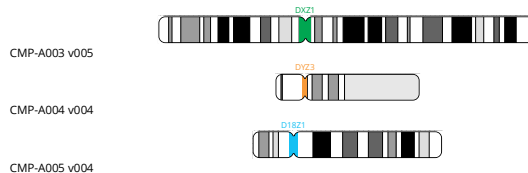
Sondens specifikationer

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

X-centromer, Xp11.1 – q11.1 (DXZ1) Grön

Y-centromer, Yp11.1 – q11.1 (DYZ3) Orange

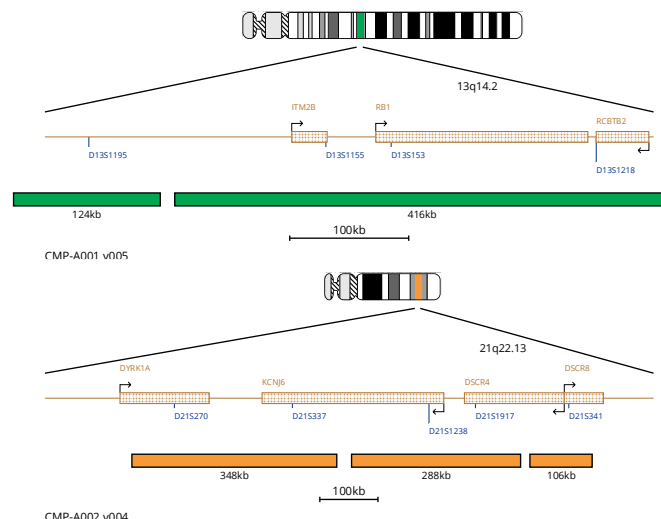
18 centromerer, 18p11.1 – q11.1 (D18Z1) Aqua



LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Unik 13-sekvens, 13q14.2 grön

Unik 21-sekvens, 21q22.13 orange



Kitet innehåller två sondkomponenter för två separata hybridiseringar.

LPA002

Sondkomponenten LPA002 är en blandning av direktmärkta fluorescerande DNA-sonder med grönt, orange och vattenfärgad färg:

- Den gröna DXZ1-sonden märker direkt alfa-satellit-DNA-sekvenserna vid DXZ1-regionen på X-kromosomen.
- Den orangea DYZ3-sonden märker direkt alfa-satellit-DNA-sekvenserna vid DYZ3-regionen på Y-kromosomen.
- Den aquafärgade D18Z1-sonden märker direkt alfa-satellit-DNA-sekvenserna vid D18Z1-regionen på kromosom 18.

LPA003

Sondkomponenten LPA003 är en blandning av gröna och orange direktmärkta fluorescerande DNA-sonder innehållande unika sekvenser:

- Den gröna sondblandningen innehåller en 124kb sond och en 416kb sond vid 13q14.2 som täcker generna ITM2B, RB1 och RCBTB2, inklusive markörerna D13S1195, D13S1155, D13S153 och D13S1218.
- Den orangea sondblandningen innehåller en 348kb sond, en 288kb sond och en 106kb sond på 21q22.13 som täcker generna DYRK1A, KCNJ6, DSCR4 och DSCR8, inklusive markörerna D21S270, D21S337, D21S1238, D21S1917 och D21S341.

Material som medföljer

Sond: 50 µl per injektionsflaska i kit med 5 tester, 100 µl per injektionsflaska i kit med 10 tester, 300 µl per injektionsflaska i kit med 30 tester eller 500 µl per injektionsflaska i kit med 50 tester.

Sondkomponenterna 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 injektionsflaska i kit med 5 tester, 500 µl per injektionsflaska i kit med 10 tester, 1 000 µl per injektionsflaska i kit med 30 tester eller 1 200 µl per injektionsflaska i kit med 50 tester. Kontrastfärgen är DAPI antifade ES (0,125 µg/mL DAPI (4,6-diamidino-2-fenylindol) i glycerolbaserat fästmedel).

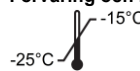
Varningar och försiktighetsåtgärder

1. För användning vid *in vitro*-diagnostik. Endast för professionellt bruk i laboratorium.
2. Operatörer måste säkerställa att de korrekta och mest aktuella bruksanvisningarna konsulteras och följs hela tiden.
3. Sondblandningar innehåller formamid som är en teratogen; undvik att andas in ångorna och undvik hudkontakt. Hanteras varsamt. Använd handskar och laboratorierock.
4. Hantera DAPI varsamt. Använd handskar och laboratorierock.
5. Använd inte skadade flaskor eller om dess innehåll har äventyrats på något sätt.
6. Kassera produkten på ett säkert sätt genom att följa lokala bestämmelser samt rekommendationerna i säkerhetsdatabladet. Detta gäller även för skadat testkitsinnehåll.
7. 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.
8. Alla användare måste kunna skilja mellan färgerna turkos, orange och grönt.
9. Underlåtenhet att följa det föreskrivna protokollet kan utrustning och reagenser påverka prestandan och leda till falskt positiva/negativa resultat.
10. Sonden får inte spädas ut eller blandas med andra sonder.
11. Underlåtenhet att använda 10 µl sond i protokollsteget före denaturering kan påverka prestandan och leda till falskt positiva/negativa resultat.
12. Alla produkter måste valideras före användning.
13. Interna kontroller med opåverkade cellpopulationer i testproverna ska utföras.
14. Försiktighetsåtgärder bör vidtas för att förhindra kontaminering mellan injektionsflaskorna som innehåller LPA002 och LPA003.

Temperatursdefinitioner

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

Förvaring och hantering

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

 FISH-sonden, DAPI Antifade ES-kontrastfärgningen och hybridiseringslösningen förblir stabila under de frys- och upptiningscyklerna som förekommer vid normal användning (där en cykel innebär att ampullen tas ut ur och sätts tillbaka i frysen). **FISH-sonder:** 5 cykler för 5-testkitet, 10 cykler för 10-testkitet, 30 cykler för 30-testkitet, 50 cykler för 50-testkitet.

Kontrastfärg: 10 cykler för 5-testkitet, 20 cykler för 10-testkitet, 60 cykler för 30-testkitet och 100 cykler för 50-testkitet. Exponering för ljus bör minimeras och undvikas när det är möjligt. Förvara komponenterna i den medföljande ljusstäta 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. Exponering för ljus bör begränsas.

Utrustning och material som behövs men som inte medföljer

Utrustningen som används måste vara kalibrerad:

1. Värmeplatta (med en fast platta och exakt temperaturreglering upp till 80 °C)
2. Kalibrerade mikropipetter och spetsar med varierande volym mellan 1 µl–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 pH-indikatorremsor som mäter pH 6,5–8,0)
10. Behållare med befuktning

11. Immersionsolja för linser till fluorescensmikroskop
12. Bänkcentrifug
13. Objektglas
14. Täckglas 24 x 24 mm
15. Timer
16. 37 °C inkubator
17. Gummilim
18. Vortexblandare
19. Mätglas
20. Magnetisk omrörare
21. Kalibrerad termometer

Valfri utrustning som inte medföljer

1. Cytogenetisk torkkammare

Reagenser som behövs men inte medföljer

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

Rekommendationer för fluorescensmikroskop

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

Fluorofor	Excitation _{max} [nm]	Emission _{max} [nm]
Aqua	418	467
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. Aqua-fluoroformen har specificitet för aqua- och DEAC-spektrumet (enkelbandpass aqua- eller DEAC-filter krävs).

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

Provberedning

Kitet är utformat för att användas på celler fixerade i Carnoy's lösning (3:1 metanol/ättiksyra) erhållna från fostervattenprover och för att beräkna närvaro av kromosomer X, Y, 13, 18 och 21 vid högriskgraviditeter där Turner, Patau, Edwards eller Downs syndrom misstänks, som är beredda enligt laboratoriets eller institutionens riktlinjer. Insamling av fostervattenprov bör 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. Förbered lufttorkade prover på objektglas enligt cytogenetiska standardprocedurer. AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* innehåller rekommendationer för provtagning, odling, insamling och montering på objektglas.¹²

Lösningssberedning

Etanollösningar

Späd ut 100 % etanol med renat vatten i följande förhållanden och blanda noggrant:

- 70 % etanol – 7 delar 100 % etanol med 3 delar renat vatten
- 85 % etanol – 8,5 delar 100 % etanol med 1,5 delar renat vatten

Förvara lösningarna upp till 6 månader i rumstemperatur i en lufttät behållare.

2xSSC-lösning

Späd ut 1 del 20x SSC-lösning med 9 delar renat vatten och blanda väl. Kontrollera pH-värdet och justera till pH 7,0 med den mängd NaOH eller HCl som krävs. Förvara lösningen upp till 4 veckor i rumstemperatur i en lufttät behållare.

0,4xSSC-lösning

Späd ut 1 del 20x 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 4 veckor i rumstemperatur i en lufttät behållare.

2xSSC, 0,05 % Tween-20-lösning

Späd ut 1 del 20x 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 4 veckor i rumstemperatur i en lufttät behållare.

FISH-protokoll
(Obs: Se till att sondens exponering för laboratorieljus är begränsad hela tiden)

Förberedelse av objektglas

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

Före denaturering

- 5. Ta ut sonden ur frysskåpet och låt den värmas upp till rumstemperatur ur frysen och låt den värmas 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 5 minuter.
- 9. Applicera 10 µL av sondblandningen på cellprovet och lägg försiktigt på ett täckglas. Försegla med gummilim och låt limmet 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 frysskåpet och låt den värmas upp till rumstemperatur (RT).
- 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 beröring.
- 15. Låt objektglaset rinna av och låt det ligga stilla i 2x SSC, 0,05 % Tween-20 i rumstemperatur (pH 7,0) under 30 sekunder.
- 16. Låt objektglaset rinna av och applicera 10 µL DAPI mot blekning (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 förfarandet

- 1. Ugnshärdade eller åldrade objektglas kan reducera fluorescenssignal.
- 2. Villkoren för hybridisering 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. Tvättkoncentrationer, pH-värden och temperaturer är viktiga eftersom för låg noggrannhet kan resultera i icke-specifik bindning av sonden och för hög noggrannhet kan innebära att signalen uteblir.
- 5. Ofullständig denaturering kan resultera i att signalen uteblir och överdriven denaturering kan även leda till icke-specifik bindning.
- 6. Överdriven hybridisering kan ge resultat som extra eller oväntade signaler.
- 7. Användare bör optimera protokollet för sina egna prover innan testet används i diagnostiska syften.
- 8. Icke optimala förhållanden kan resultera i en icke-specifik bindning som kan misstolkas som en sondsignal.

Tolkning av resultaten

Bedömning objektglaskvalitet

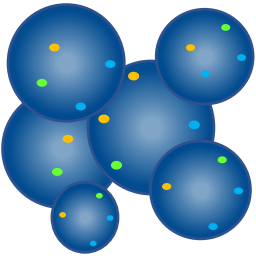
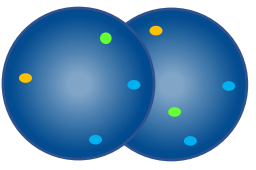
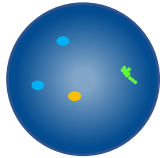
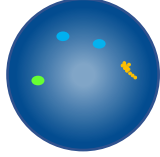
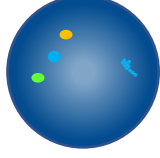
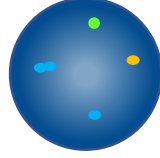
Objektglaset ska inte analyseras i följande fall:

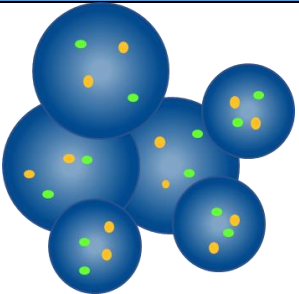
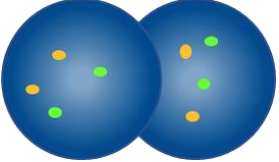
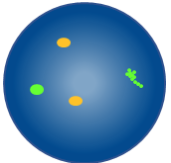
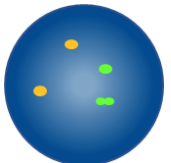
- Signalerna är för svaga för analys i enstaka filter – för att fortsätta analysen ska signalerna framträda klart och tydligt och vara lätta att utvärdera
- Det finns ett stort antal hopklumpade/överlappande celler som försvårar analysen
- om >50 % av cellerna inte är hybridiserade
- Det finns en stor 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 analytikers utvärdering
- Alla analytiker ska ha lämpliga kvalifikationer enligt godkända nationella standarder
- 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 objektglaset och den andra analytikern från höger
- Varje analytiker ska dokumentera sina resultat i separata utskrifter
- Analysera endast hela kärnor, inte kärnor som är överlappande, hopklumpade eller täckta av cytoplasmiskt skräp eller hög grad av autofluorescens

- Undvik områden med överskott av cytoplasmiskt skräp eller icke-specifik hybridisering
- Signalintensiteten kan variera även med en enstaka kärna. Använd i så fall enstaka filter och/eller justera fokalplanet
- Under icke optimala förhållanden kan signalerna verka otydliga. Om två signaler med samma färg vidrör varandra eller om avståndet mellan dem inte är högre än två signalbredder, eller om en tunn sträng förbinder de två signalerna ska de betraktas som en signal
- Om det finns tvivel om huruvida en cell går att analysera eller inte, låt bli att analysera den

Analysriktlinjer – LPA002	
	Räkna inte – kärnorna ligger för nära varandra för att avgränsningarna ska kunna bedömas
	Räkna inte överlappande kärnor – alla områden för båda kärnorna är inte synliga
	Räknas som en grön signal, en orange signal och två aquasignaler – den orange signalen är diffus
	Räknas som en grön signal, en orange signal och två aquasignaler – den orangea signalen är diffus
	Räknas som en grön signal, en orange signal och två aquasignaler – en av de två aquasignalerna är diffus
	Räknas som en grön signal, en orange signal och två aquasignaler – gapet i aquasignalen är mindre än två sondbredder

Analysriktlinjer - LPA003	
	Räkna inte – kärnorna ligger för nära varandra för att avgränsningarna ska kunna bedömas
	Räkna inte överlappande kärnor – alla områden för båda kärnorna är inte synliga
	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.

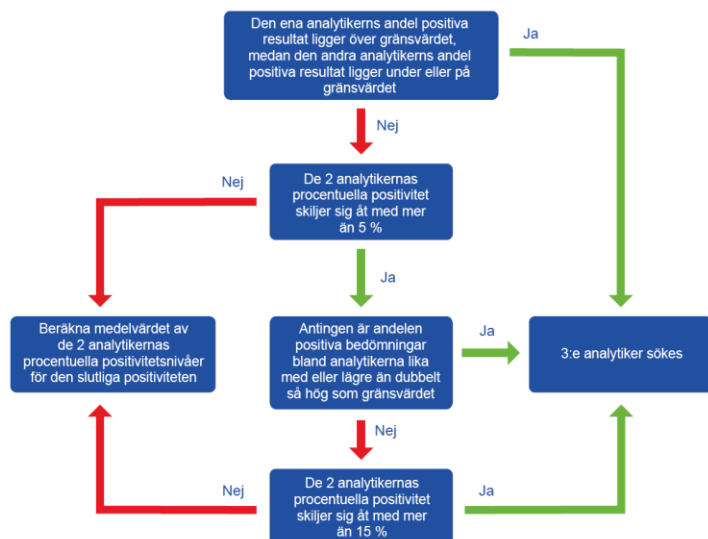
Krav på tredje analytiker

Beroende på hur många onormala kärnor varje analytiker har sett kan det i vissa fall behövas en tredje analytiker. Den tredje analytikern kommer att analysera samma antal kärnor som de två första analytikerna i enlighet med institutionella, regionala eller nationella riktlinjer. Reglerna för en tredje analytiker specificeras i texten och flödesschemat nedan.

En tredje analytiker behövs om:

- En av analytikernas procentuella positivitet ligger över cut-off och de andra analytikernas procentuella positivitet ligger under eller vid cut-off.
- De två analytikernas procentuella positivitet skiljer sig åt med mer än 5 % och endera analytikernas procentuella positivitet är lika med eller lägre än dubbelt så högt som cut-off.
- De två analytikernas procentuella positivitet skiljer sig åt med mer än 15 %.

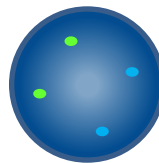
Av de tre erhållna resultaten kommer de två närmaste positiva procentvärdena att medelvärdesbildas för det slutliga positiva resultatet. Om de 3 resultaten är lika långt ifrån varandra bör medianpositivitetetsvärdet användas.



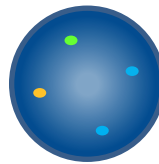
Förväntade resultat

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Förväntat normalt signalmönster

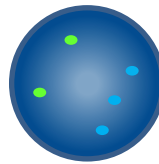


I en normal kvinnlig cell förväntas två gröna och två aquasignaler (2G2A).

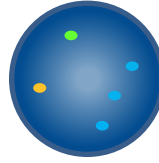


I en normal hancell förväntas en grön, en orange och två aquafärgade signaler (1G1O2A)

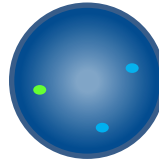
Förväntade onormala signalmönster



I en hancell med trisomi 18 kommer det förväntade signalmönstret att vara två gröna signaler och tre aquasignaler (2G3A).



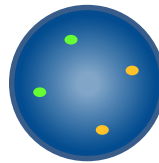
I en hancell med trisomi 18 kommer det förväntade signalmönstret att vara en grön signal, en orange signal och tre aquasignaler (1G1O3A)



I en cell med Turners syndrom kommer det förväntade signalmönstret att vara en grön signal och två aquafärgade signaler (1G2A).

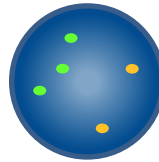
LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Förväntat normalt signalmönster

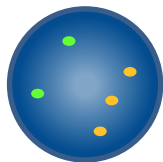


I en normal cell förväntas två gröna och två orangea signaler (2G2O).

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

DXZ1-sonden kan visa korshybridisering till centromererna i kromosomerna 1, 11, 17 och Y.

DYZ3-sonden kan uppvisa korshybridisering med centromererna på kromosomerna 13, 14, 15, 20, 21, 22 och X.

D18Z1-proben kan visa korshybridisering till centromererna i kromosomerna 2, 4, 8, 9, 13, 14, 15, 20, 21 och 22.

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.

För allvarliga incidenter i andra länder och, om tillämpligt, till din nationella behöriga myndighet.

Kontakta tillverkare angående säkerhetsövervakning: 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 prestandaegenskaper

Analytisk specificitet

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Analytisk specificitet definieras som den procentandel signaler som hybridiserar till rätt locus och ingen annan plats. 4 kromosomloci i var och en av 20 metafasceller från 5 prover analyserades, vilket gav 100 datapunkter vardera för kromosom X och Y samt 200 datapunkter för kromosom 18. Placeringen av varje hybridiserad sond kartlades och antalet FISH-signaler i metafaskromosomer som hybridiserade till rätt locus registrerades.

Den analytiska specificiteten för varje sond i satsen beräknades som antalet FISH-signaler på metafaskromosomer som hybridiserats till rätt locus dividerat med det totala antalet FISH-signaler på metafaskromosomer som hybridiserats. Detta resultat uttrycktes som en procentandel med en 95 % konfidensintervall.

Tabell 1. Analytisk specificitet för LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Mål	Antal hybridiserade metafaskromosomer	Antal korrekt hybridiserade loci	Analytisk specificitet	95 % konfidensintervall
Xp11.1-q11.1	100	100	100 %	96,30–100 %
Yp11.1-q11.1	100	100	100 %	96,30–100 %
18p11.1-q11.1	200	200	100 %	98,12–100 %

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Analytisk specificitet definieras som den procentandel signaler som hybridiserar till rätt locus och ingen annan plats. 4 kromosomloci i var och en av 20 metafasceller från 5 prover analyserades, vilket gav 200 datapunkter vardera för kromosom 13 och 21. Placeringen av varje hybridiserad sond kartlades och antalet FISH-signaler i metafaskromosomer som hybridiserade till rätt locus registrerades.

Den analytiska specificiteten för varje sond i satsen beräknades som antalet FISH-signaler på metafaskromosomer som hybridiserats till rätt locus dividerat med det totala antalet FISH-signaler på metafaskromosomer som hybridiserats. Detta resultat uttrycktes som en procentandel med en 95 % konfidensintervall.

Tabell 2. Analytisk specificitet för LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

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

Analytisk sensitivitet

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Analytisk sensitivitet är den procentandel bedömningsbara interfasceller som har det förväntade normala signalmönstret. Minst 50 interfasceller analyserades för var och en av de 25 fixerade cellsuspensionerna från fostervattenprover från

karyotypiskt normala män och 25 karyotypiskt normala kvinnor som bedömdes ha ett normalt antal kromosom 18, vilket resulterade i att totalt minst 2 500 cellkärnor granskades. Sensitivitetsdata analyserades baserat på procentandelen celler som uppvisade ett normalt förväntat signalmönster och uttrycktes som procent med 95 % konfidensintervall.

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

Provtyp	Sensitivitetskriterier	Sensitivitetsresultat
Fostervatten	>95 %	95,99 % (95,15–96,69 %)

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Analytisk sensitivitet är den procentandel bedömningsbara interfasceller som har det förväntade normala signalmönstret. Minst 50 interfasceller analyserades för var och en av de 25 fixerade cellsuspensionerna från fostervattenprover från karyotypiskt normala män eller kvinnor som bedömdes ha ett normalt antal kromosomer 13 och 21, vilket resulterade i att minst 1 250 cellkärnor bedömdes för varje provtyp. Sensitivitetsdata analyserades baserat på procentandelen celler som uppvisade ett normalt förväntat signalmönster och uttrycktes som procent med 95 % konfidensintervall.

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

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

Beskrivning av normala cut-off-värden

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

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 var och en av de 25 fixerade cellsuspensionerna från fostervattenprover från karyotypiskt normala män och 25 karyotypiskt normala kvinnor som bedömdes ha ett normalt antal kromosom 18, vilket resulterade i att totalt minst 2 500 cellkärnor granskades.

Gränsvärdet bestämdes med hjälp av funktionen β -invers (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 5. Karakterisering av normala cut-off-värden för LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Provtyp	Signalmönster	Cut-off-resultat
Fostervatten	1G1O3A	11,62 %
	2G3A	8,97 %
	1G2A	13,98 %

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

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 var och en av cellsuspensionerna från fostervattenprover från 25 karyotypiskt normala män eller kvinnor, vilket resulterade i minst 1 250 kärnor som poängsattes för varje provtyp.

Gränsvärdet bestämdes med hjälp av funktionen β -invers (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 6. Karakterisering av normala cut-off-värden för LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Provtyp	Signalmönster	Cut-off-resultat
Fostervatten	2G3O	8,97 %
	3G2O	

Laboratorierna måste verifiera cut-off-värdena med hjälp av sina egna data.^{13,14}

Precision

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Produktens 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).

3 prover användes för att bedöma denna produkts precision: 1 normalt fostervattenprov från en pojke, klassificerat som XY och med ett normalt antal kromosomer 18, 1 normalt fostervattenprov från en flicka, klassificerat som XX och med ett normalt antal kromosomer 18, samt 1 fostervattenprov från en flicka med svagt positivt resultat för trisomi 18.

Precisionen mellan dagar och inom en dag utvärderades genom att proverna analyserades i tre replikat under 10 icke-sammanhängande dagar. Lot till lot-precisionen utvärderades genom testning av 3 oberoende produktpartier i tre replikat med samma prover. Resultaten uttrycktes som övergripande överensstämmelse med den förväntade klassificeringen (positiv eller negativ).

Tabell 7. Reproducibilitet och precision för LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Variabel	Provtyp	Överensstämmelse
Inom samma dag	Kvinnligt negativt fostervatten	100,0 %
	Fostervatten hos kvinnor med trisomi 18	90,0 %
Mellan dagar	Kvinnligt negativt fostervatten	100,0 %
	Fostervatten hos kvinnor med trisomi 18	90,0 %
	Manligt negativt fostervatten	100,0 %
Mellan loter	Kvinnligt negativt fostervatten	100,0 %
	Fostervatten hos kvinnor med trisomi 18	100,0 %
	Manligt negativt fostervatten	100,0 %

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Produktens 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).

3 prover användes för att bedöma denna produkts precision: 1 normalt fostervattenprov som bedömdes ha ett normalt komplement av kromosomerna 13 och 21, 1 lågt positivt fostervattenprov för trisomi 13 och 1 lågt positivt fostervattenprov för trisomi 21.

Precisionen mellan dagar och inom en dag utvärderades genom att proverna analyserades i tre replikat under 10 icke-sammanhängande dagar. Lot till lot-precisionen utvärderades genom testning av 3 oberoende produktpartier i tre replikat med samma prover. Resultaten uttrycktes som övergripande överensstämmelse med den förväntade klassificeringen (positiv eller negativ).

Tabell 8. Reproducibilitet och precision för LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Variabel	Provtyp	Överensstämmelse
Precision inom samma dag	Negativt fostervatten	100,0 %
	Låga positiva värden för trisomi 13 i fostervattnet	100,0 %
	Låga positiva värden för trisomi 21 i fostervattnet	96,7 %
Mellan loter	Negativt fostervatten	88,9 %
	Låga positiva värden för trisomi 13 i fostervattnet	100,0 %
	Låga positiva värden för trisomi 21 i fostervattnet	100,0 %

Kliniska prestanda

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

För att säkerställa att Prenatal X, Y och 18 Enumeration Probe detekterar avsedda omarrangemang, fastställdes klinisk prestanda genom en studie på representativa urval av den avsedda populationen för produkten: Fixerat restmaterial av 3:1 metanolätktsyra från prenatala fostervattenprover. Provtorleken för studien var 71 prover, med en population på 3 trisomi 18 positiva prover, 2 monosomi X-positiva prover och 66 negativa prover. Alla prover identifierades och randomiserades för att förhindra analysbias. Resultaten jämfördes sedan 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 9. Kliniska prestanda för Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

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

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

För att säkerställa att Prenatal 13 och 21 Enumeration Probe detekterar de avsedda kromosomavvikelserna har den kliniska prestandan fastställts genom tre studier på representativa urval av den målgrupp som produkten är avsedd för: Fixerat restmaterial av 3:1 metanolätktsyra 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 sedan 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 10. Kliniska prestanda för Prenatal 13 and 21 uppräkningssond

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

Säkerhets- och prestandasammanfattning (SSP)

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: 50558449LPA001GG

Om Eudamed inte är fullt fungerande ska SSP på begäran göras tillgänglig för allmänheten via e-post till SSP@ogt.com.

Mer information

Kontakta CytoCell tekniska supportavdelning för att få mer information om produkten.

Tel: +44 (0)1223 294048

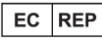
E-post: techsupport@cytocell.com

Hemsida: www.ogt.com

Referenser

- Alliance G.(2010). Chromosomal Abnormalities [Internet]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK132134/>.
- Dey M, et al., (2013). Prenatal screening methods for aneuploidies. North American Journal of Medical Sciences.
- Antonarakis SE, Strydom A., (2020). Down Syndrome. Nature Reviews Disease Primers.
- Orphanet: Down syndrome [Internet]. www.orpha.net. Tillgänglig från: <https://www.orpha.net/en/disease/detail/870>.
- Orphanet: Trisomy 13 [Internet]. www.orpha.net. Tillgänglig från: <https://www.orpha.net/en/disease/detail/3378>.
- Pyle AK, et al. (2025) Guidance for Caring for Infants and Children With Trisomy 13 and Trisomy 18: Clinical Report. PEDIATRICS.
- Balasundaram P, et al. (2023). Edwards syndrome. I: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan–. Uppdaterad 15 februari 2025. Tillgänglig från: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570597/>.
- Shankar Kikkeri N, et al., (2023). Turner Syndrome; tillgänglig från: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554621/>.
- Orphanet: Down syndrome [Internet]. www.orpha.net. Tillgänglig från: <https://www.orpha.net/en/disease/detail/870>.
- Best Practice Guidelines (2024). The Association for Clinical Genomic Science (ACGS). Cytogenetics Constitutional Guidelines.
- NHS England - National genomic test directory for rare and inherited disease. Tillgänglig från: <https://www.england.nhs.uk/publication/national-genomic-test-directories/>
- Silva M. et al. (2019) European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. European Journal of Human Genetics.
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc. References
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16–23.

Symbolordlista

EN ISO 15223-1:2021 - "Medicintekniska produkter - Symboler att användas med information som tillhandahålls av tillverkaren - 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: Sista användningsdatum	5.1.4
	sv: Kod för tillverkningsbatchesen	5.1.5
	sv: Katalognummer	5.1.6

	sv: Skyddas mot solljus	5.3.2
	sv: Temperaturgräns	5.3.7
	sv: Läs bruksanvisningen	5.4.3
 ogt.com/IFU	sv: Se bruksanvisning i elektronisk form	5.4.3
	sv: Iaktta försiktighet	5.4.4
	sv: Medicinteknisk enhet för <i>in vitro</i> -diagnostik	5.5.1
	sv: Innehåller tillräckligt för <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 ett registrerat varumärke som tillhör CytoCell Limited.



Cytocell Limited

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

Tel: +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 2026-03-09: Ny bruksanvisning för bestämmelsen (EU) 2017/746