



A Sysmex Group Company



Οδηγίες χρήσης (OX)

ΚΩΔ. ΑΝΑΦ.: CE-LPA 001-S / CE-LPA 001 /
CE-LPA 001-30 / CE-LPA 001-50

Prenatal Enumeration Probe Kit



ΑΠΟΚΛΕΙΣΤΙΚΑ ΓΙΑ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ



Μπορείτε να βρείτε περαιτέρω πληροφορίες και άλλες γλώσσες στον
ιστότοπο ogt.com/IFU

Προβλεπόμενος σκοπός

Το CytoCell® Prenatal Enumeration Probe Kit είναι μια ποιοτική, μη αυτοματοποιημένη, εξέταση φθορίζοντος in situ υβριδισμού (FISH) που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση των άλφα κεντρομερικών περιοχών χρωμοσωμάτων Xp11.1-q11.1, Yp11.1-q11.1 και 18p11.1-q11.1 και των περιοχών χρωμοσωμάτων 13q14.2 και 21q22.1 σε κύτταρα που έχουν μονιμοποιηθεί με διάλυμα Carnoy (3:1 μεθανόλη/οξικό οξύ) και προέρχονται από δείγματα αμνιακού υγρού, κατά την απარიθμήση των χρωμοσωμάτων X, Y, 13, 18 και 21 σε κυήσεις υψηλού κινδύνου όπου υπάρχει υποψία για σύνδρομο Turner, Patau, Edwards ή Down.

Ενδείξεις χρήσης

Αυτή η συσκευή έχει σχεδιαστεί ως συμπλήρωμα σε άλλες κλινικές και εργαστηριακές εξετάσεις σε αναγνωρισμένα μονοπάτια διάγνωσης και κλινικής φροντίδας, όπως είναι ο υπερηχογραφικός έλεγχος και οι βιοχημικές εξετάσεις, όπου η γνώση της κατάστασης του αριθμού αντιγράφων των άλφα κεντρομερικών περιοχών χρωμοσωμάτων Xp11.1-q11.1 και 18p11.1-q11.1 και των περιοχών χρωμοσωμάτων 13q14.2 και 21q22.1 θα ήταν σημαντική για τη διαχείριση των ασθενών.

Περιορισμοί

Αυτή η συσκευή έχει σχεδιαστεί για την ανίχνευση χρωμοσωμικού υλικού που περιλαμβάνει τις κεντρομερικές περιοχές που καλύπτονται από τους πράσινους, πορτοκαλί και γαλάζιους κλώνους στο συστατικό Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe, για τα χρωμοσώματα X, Y και 18 αντίστοιχα. Οι γονιδιωματικές ενισχύσεις ή απώλειες εκτός των περιοχών αυτών ή οι μερικές απώλειες ή ενισχύσεις σε αυτές τις περιοχές ενδέχεται να μην είναι ανιχνεύσιμες με αυτήν τη συσκευή.

Αυτή η συσκευή έχει επίσης σχεδιαστεί για την ανίχνευση χρωμοσωμικού υλικού που περιλαμβάνει τις περιοχές χρωμοσωμάτων 13q14.2 και 21q22.1 που καλύπτονται από τους πράσινους και πορτοκαλί κλώνους στο συστατικό Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe. Οι γονιδιωματικές ενισχύσεις ή απώλειες εκτός των περιοχών αυτών ή οι μερικές απώλειες ή ενισχύσεις σε αυτές τις περιοχές ενδέχεται να μην είναι ανιχνεύσιμες με αυτό το προϊόν.

Η συσκευή αυτή δεν προορίζεται για: χρήση ως μεμονωμένη διάγνωση, συνοδός διάγνωση, προσυμπτωματικός έλεγχος βάσει πληθυσμού, εξέταση κοντά στον ασθενή ή αυτοεξέταση.

Η συσκευή αυτή δεν έχει επικυρωθεί για τύπους δειγμάτων, τύπους ασθενειών ή σκοπούς εκτός αυτών που αναφέρονται στον προβλεπόμενο σκοπό. Η συσκευή αυτή δεν έχει επικυρωθεί για χρήση στην ανίχνευση ενισχύσεων του χρωμοσώματος X ή/και Y.

Η συσκευή αυτή προορίζεται για χρήση ως συμπλήρωμα σε άλλες διαγνωστικές εργαστηριακές εξετάσεις και δεν θα πρέπει να ξεκινά καμία θεραπευτική ενέργεια μόνο βάσει του αποτελέσματος FISH.

Η αναφορά και ερμηνεία των αποτελεσμάτων FISH θα πρέπει να πραγματοποιείται από κατάλληλα εξειδικευμένο προσωπικό, να τηρούνται τα επαγγελματικά πρότυπα πρακτικής και να λαμβάνονται υπόψη άλλα σχετικά αποτελέσματα εξετάσεων, κλινικές και διαγνωστικές πληροφορίες.

Η συσκευή αυτή προορίζεται μόνο για επαγγελματική χρήση εντός του εργαστηρίου. Η μη τήρηση του πρωτοκόλλου ενδέχεται να επηρεάσει την απόδοση και να οδηγήσει σε ψευδώς θετικά/αρνητικά αποτελέσματα.

Αρχές της εξέτασης

Ο φθορίζων in situ υβριδισμός (FISH) είναι μια τεχνική που επιτρέπει την ανίχνευση αλληλουχιών DNA σε μεταφασικά χρωμοσώματα ή σε μεσοφασικούς πυρήνες από

μονιμοποιημένα κυτταρογενετικά δείγματα. Η τεχνική χρησιμοποιεί ιχνηθέτες DNA που υβριδοποιούνται σε ολόκληρα χρωμοσώματα ή μεμονωμένες μοναδικές αλληλουχίες και χρησιμεύει ως ένα σημαντικό συμπλήρωμα στη συμβατική κυτταρογενετική. Με τις πρόσφατες εξελίξεις, αυτή η πολύτιμη τεχνική μπορεί πλέον να εφαρμοστεί ως ένα σημαντικό εργαλείο διάγνωσης στο πλαίσιο προγεννητικών, αιματολογικών και παθολογικών χρωμοσωμικών αναλύσεων. Μετά τη μονιμοποίηση και τη μετουσίωση, το DNA-στόχος είναι διαθέσιμο για αναδιάταξη σε έναν παρόμοιο μετουσιωμένο, φθορίζοντα σηματοδοτούμενο ιχνηθέτη DNA, ο οποίος έχει συμπληρωματική αλληλουχία. Μετά τον υβριδισμό, γίνεται αφαίρεση του μη δεσμευμένου και μη ειδικά δεσμευμένου ιχνηθέτη DNA και το DNA υποβάλλεται σε αντίχρωση για απεικόνιση. Στη συνέχεια, η μικροσκοπία φθορισμού καθιστά δυνατή την απεικόνιση του υβριδοποιημένου ιχνηθέτη στο υλικό-στόχο.

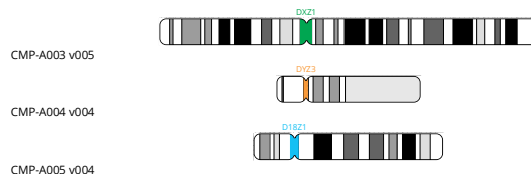
Πληροφορίες για τον ιχνηθέτη

Η μοριακή κυτταρογενετική ανάλυση παίζει καθοριστικό ρόλο στην προγεννητική αξιολόγηση κυήσεων υψηλού κινδύνου, επιτρέποντας την ακριβή αναγνώριση χρωμοσωμικών ανωμαλιών και την αξιολόγηση του κινδύνου υποτροπής. Οι πιο συχνές χρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι οι ανευπλοειδίες, που ορίζονται ως ο μη φυσιολογικός αριθμός αντιγράφων χρωμοσωμάτων. Τα άτομα που επηρεάζονται παρουσιάζουν συνήθως τρισωμία (τρία αντίγραφα ενός χρωμοσώματος) ή μονοσωμία (ένα αντίγραφο ενός χρωμοσώματος).¹ Οι γνωστές κλινικά σημαντικές ανευπλοειδίες είναι, μεταξύ άλλων, οι τρισωμίες 13, 18 και 21, καθώς και η μονοσωμία X. Αυτές οι ανωμαλίες αποτελούν σημαντικούς παράγοντες που συμβάλλουν σε αναπτυξιακές διαταραχές και δυσμενείς αναπαραγωγικές εκβάσεις και συγκαταλέγονται στις πιο συχνές ενδείξεις για επεμβατική προγεννητική διάγνωση.² Η τρισωμία 21 (σύνδρομο Down), η πιο συχνή βιώσιμη αυτοσωμική τρισωμία, χαρακτηρίζεται από γνωστική εξασθένηση, συγγενείς καρδιακές ανωμαλίες και πολυσυστηματική νοσηρότητα και παραμένει βασική ένδειξη για προγεννητικό γενετικό έλεγχο.^{3,4} Η τρισωμία 13 (σύνδρομο Patau) χαρακτηρίζεται από οφθαλμικές δυσπλασίες (ολοπροσεγκεφαλία), δυσμορφία του προσώπου, οφθαλμικές ανωμαλίες, μεταξονική πολυδακτυλία, σπλαχνικές δυσπλασίες (καρδιοπάθεια) και σοβαρή ψυχοκινητική καθυστέρηση.⁵ Η τρισωμία 18 (σύνδρομο Edwards) σχετίζεται με σοβαρές συγγενείς δυσπλασίες, υψηλή περιγεννητική θνησιμότητα και σαφώς καθορισμένους υπερηχογραφικούς φαινοτύπους, που υπογραμμίζουν την ανάγκη για ακριβή προγεννητική ανίχνευση και γενετική επιβεβαίωση.^{6,7} Η μονοσωμία X (σύνδρομο Turner), που αναφέρεται επίσης ως σύνδρομο συγγενούς υποπλασίας των ωοθηκών, είναι η πιο συχνή χρωμοσωμική ανωμαλία του φύλου στις γυναίκες και προκύπτει από πλήρη ή μερική απουσία ενός χρωμοσώματος X.⁸ Παρέχεται προγεννητική διάγνωση σε κυήσεις υψηλού κινδύνου με αυξημένο κίνδυνο χρωμοσωμικών ανωμαλιών όπως τρισωμία 13, 18, 21 και μονοσωμία X. Η τεχνική FISH είναι μια επικυρωμένη μοριακή κυτταρογενετική μέθοδος για την ταχεία ανίχνευση και καταμέτρηση του αριθμού αντιγράφων χρωμοσωμάτων σε μεσοφασικούς πυρήνες. Η τεχνική FISH καθιστά δυνατή τη στοχευμένη ανίχνευση κοινών ανευπλοειδιών, παρέχει γρήγορα αποτελέσματα για την υποστήριξη της λήψης κλινικών αποφάσεων και χρησιμοποιείται ευρέως στη σύγχρονη διαγνωστική ανευπλοειδιών, ιδιαίτερα όπου απαιτείται άμεση επιβεβαίωση της κατάστασης του αριθμού αντιγράφων των χρωμοσωμάτων.^{9,10,11}

Προδιαγραφές ιχνηθετών

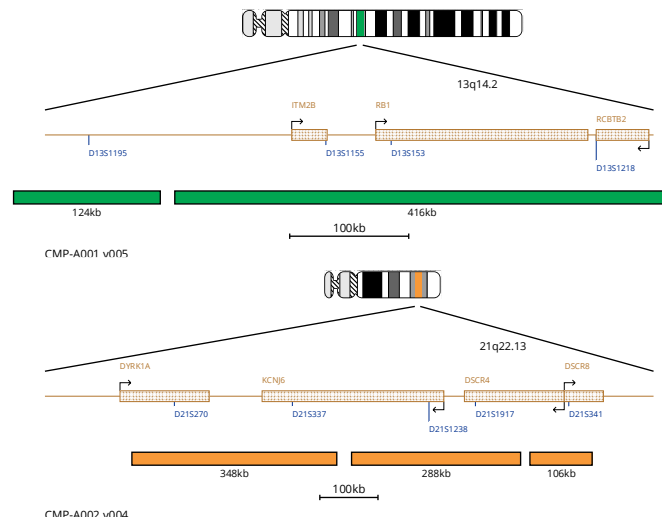
LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Κεντρομερές X, Xp11.1-q11.1 (DXZ1) Πράσινο
Κεντρομερές Y, Yp11.1-q11.1 (DYZ3) Πορτοκαλί
Κεντρομερές 18, 18p11.1-q11.1 (D18Z1) Γαλάζιο



LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Μοναδική αλληλουχία 13, 13q14.2 Πράσινο
Μοναδική αλληλουχία 21, 21q22.13 Πορτοκαλί



Το kit περιέχει δύο συστατικά ιχνηθέτη για δύο ξεχωριστούς υβριδισμούς.

LPA002

Το συστατικό του ιχνηθέτη LPA002 είναι ένα μίγμα πράσινων, πορτοκαλί και γαλάζιων φθορίζοντων ιχνηθετών DNA με απευθείας σήμανση:

- Ο πράσινος ιχνηθέτης DXZ1 επισημαίνει απευθείας τις αλληλουχίες άλφα δορυφορικού DNA στην περιοχή DXZ1 του χρωμοσώματος Χ.
- Ο πορτοκαλί ιχνηθέτης DYZ3 επισημαίνει απευθείας τις αλληλουχίες άλφα δορυφορικού DNA στην περιοχή DYZ3 του χρωμοσώματος Υ.
- Ο γαλάζιος ιχνηθέτης D18Z1 επισημαίνει απευθείας τις αλληλουχίες άλφα δορυφορικού DNA στην περιοχή D18Z1 του χρωμοσώματος 18.

LPA003

Το συστατικό του ιχνηθέτη LPA003 είναι ένα μίγμα πράσινων και πορτοκαλί φθορίζοντων ιχνηθετών DNA με απευθείας σήμανση που περιέχουν μοναδικές αλληλουχίες:

- Το πράσινο μίγμα ιχνηθετών περιέχει έναν ιχνηθέτη 124 kb και έναν ιχνηθέτη 416 kb στο 13q14.2 που καλύπτει τα γονίδια ITM2B, RB1 και RCBTB2, συμπεριλαμβανομένων των δεικτών D13S1195, D13S1155, D13S153 και D13S1218.
- Το πορτοκαλί μίγμα ιχνηθετών περιέχει έναν ιχνηθέτη 348 kb, έναν ιχνηθέτη 288 kb και έναν ιχνηθέτη 106 kb στο 21q22.13 που καλύπτει τα γονίδια DYRK1A, KCNJ6, DSCR4 και DSCR8, συμπεριλαμβανομένων των δεικτών D21S270, D21S337, D21S1238, D21S1917 και D21S341.

Παρεχόμενα υλικά

Ιχνηθέτης: 50 μl ανά φιαλίδιο σε kit 5 εξετάσεων, 100 μl ανά φιαλίδιο σε kit 10 εξετάσεων, 300 μl ανά φιαλίδιο σε kit 30 εξετάσεων, 500 μl ανά φιαλίδιο σε kit 50 εξετάσεων.

Τα συστατικά του ιχνηθέτη παρέχονται προαναμεμιγμένα σε διάλυμα υβριδισμού [<65% φορμαμίδιο, <20 mg θειική δεξτράνη, <10% 20x φυσιολογικού ορού-κιτρικό νάτριο (SSC)] και είναι έτοιμα για χρήση.

Αντίχρωση: 150 μl ανά φιαλίδιο σε kit 5 εξετάσεων, 500 μl ανά φιαλίδιο σε kit 10 εξετάσεων, 1.000 μl ανά φιαλίδιο σε kit 30 εξετάσεων ή 1.200 μl ανά φιαλίδιο σε kit 50 εξετάσεων.

Η αντίχρωση είναι DAPI Antifade ES (0,125 μg/ml DAPI (4,6-διαμιδινο-2-φαινυλινδόλη) σε μέσο στερέωσης με βάση τη γλυκερόλη).

Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

1. Για *in vitro* διαγνωστική χρήση. Μόνο για επαγγελματική χρήση εντός του εργαστηρίου.
2. Οι χειριστές πρέπει να διασφαλίζουν ότι συμβουλευόμαστε και ακολουθούμε ανά πάσα στιγμή τις σωστές και πιο πρόσφατες οδηγίες χρήσης.
3. Τα μίγματα των ιχνηθετών περιέχουν φορμαμίδιο, το οποίο είναι τερατογόνο. Μην αναπνέετε αναθυμιάσεις και αποφύγετε την επαφή με το δέρμα. Απαιτείται προσεκτικός χειρισμός. Να φοράτε γάντια και εργαστηριακή ποδιά.
4. Απαιτείται προσεκτικός χειρισμός του DAPI. Να φοράτε γάντια και εργαστηριακή ποδιά.
5. Μην το χρησιμοποιείτε εάν το(τα) φιαλίδιο(α) έχει(έχουν) υποστεί βλάβη ή εάν το περιεχόμενο του φιαλιδίου έχει διακυβευτεί με οποιονδήποτε τρόπο.
6. Ακολουθήστε τους τοπικούς κανονισμούς απόρριψης για την τοποθέτησας μαζί με τις συστάσεις στο Δελτίο δεδομένων ασφαλείας για να προσδιορίσετε την ασφαλή απόρριψη αυτού του προϊόντος. Αυτό ισχύει επίσης για τα περιεχόμενα του kit εξέτασης που έχουν υποστεί βλάβη.
7. Απορρίψτε όλα τα χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια και οποιαδήποτε άλλα μολυσμένα υλικά μίας χρήσης ακολουθώντας διαδικασίες για μολυσματικά ή δυνητικά μολυσματικά απόβλητα. Είναι ευθύνη κάθε εργαστηρίου να χειρίζεται στερεά και υγρά απόβλητα σύμφωνα με τη φύση και τον βαθμό επικινδυνότητάς τους και να τα χειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να τα επεξεργάζεται και να τα απορρίπτει) σύμφωνα με τυχόν ισχύοντες κανονισμούς.
8. Οι χειριστές πρέπει να έχουν την ικανότητα να διακρίνουν το γαλάζιο, το πορτοκαλί και το πράσινο χρώμα.
9. Η μη τήρηση του πρωτοκόλλου, του εξοπλισμού και των αντιδραστηρίων που αναφέρονται ενδέχεται να επηρεάσει την απόδοση και να οδηγήσει σε ψευδώς θετικά/αρνητικά αποτελέσματα.
10. Ο ιχνηθέτης δεν θα πρέπει να αραιώνεται ή να αναμιγνύεται με άλλους ιχνηθετές.
11. Η μη χρήση 10 μl ιχνηθέτη στο στάδιο του πρωτοκόλλου πριν από τη μετουσίωση ενδέχεται να επηρεάσει την απόδοση και να οδηγήσει σε ψευδώς θετικά/αρνητικά αποτελέσματα.
12. Όλα τα προϊόντα πρέπει να επικυρώνονται πριν από τη χρήση.
13. Θα πρέπει να πραγματοποιούνται εσωτερικοί έλεγχοι χρησιμοποιώντας μη επηρεασμένους κυτταρικούς πληθυσμούς σε δείγματα εξέτασης.
14. Θα πρέπει να λαμβάνονται προφυλάξεις για την αποφυγή μόλυνσης μεταξύ των φιαλιδίων που περιέχουν LPA002 και LPA003.

Ορισμοί θερμοκρασίας

- -20 °C / Κατεψυγμένα / Στην κατάψυξη: -25 °C έως -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Θερμοκρασία δωματίου (ΘΔ): +15 °C έως +25 °C

Αποθήκευση και χειρισμός

 Το kit θα πρέπει να αποθηκεύεται σε θερμοκρασία από -25 °C έως και -15 °C σε καταψύκτη μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του kit. Τα φιαλίδια ιχνηθετών και αντίχρωσης πρέπει να αποθηκεύονται σε σκοτεινό χώρο.



Ο ιχνηθέτης FISH, η αντίχρωση DAPI Antifade ES και το διάλυμα υβριδισμού παραμένει σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια των κύκλων κατάψυξης-απόψυξης που παρουσιάζονται κατά τη διάρκεια της κανονικής χρήσης (όπου ένας κύκλος συνιστά αφαίρεση του φιαλιδίου από τον καταψύκτη και αντικατάσταση στον καταψύκτη). **Ιχνηθέτες FISH:** 5 κύκλοι για το kit

5 εξετάσεων, 10 κύκλοι για το kit 10 εξετάσεων, 30 κύκλοι για το kit 30 εξετάσεων, 50 κύκλοι για το kit 50 εξετάσεων. **Αντίχρωση:** 10 κύκλοι για το kit 5 εξετάσεων, 20 κύκλοι για το kit 10 εξετάσεων, 60 κύκλοι για το kit 30 εξετάσεων και 100 κύκλοι για το kit 50 εξετάσεων. Η έκθεση στο φως πρέπει να ελαχιστοποιείται και να αποφεύγεται όπου είναι δυνατόν. Αποθηκεύστε τα συστατικά στο παρεχόμενο αδιάβροχο δοχείο. Τα συστατικά που χρησιμοποιούνται και αποθηκεύονται υπό συνθήκες διαφορετικές από αυτές που αναφέρονται στην επισήμανση ενδέχεται να μην έχουν την αναμενόμενη απόδοση και μπορεί να επηρεάσουν αρνητικά τα αποτελέσματα της ανάλυσης. Πρέπει να καταβάλλεται κάθε δυνατή προσπάθεια ώστε η έκθεση στο φως να περιορίζεται στο ελάχιστο.

Εξοπλισμός και υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Πρέπει να χρησιμοποιείται βαθμονομημένος εξοπλισμός:

1. Θερμή πλάκα (με στερεή πλάκα και διάταξη ακριβούς ελέγχου θερμοκρασίας έως και 80 °C)
2. Βαθμονομημένες μικροπιπέτες μεταβλητού όγκου και ρύγχη, από 1 μl έως 200 μl
3. Υδατόλουτρο με διάταξη ακριβούς ελέγχου θερμοκρασίας στους 37 °C και στους 72 °C
4. Σωλήνες μικροφυγοκέντρησης (0,5 ml)
5. Μικροσκόπιο φθορισμού (αντράξετε στην ενότητα «Σύσταση για το μικροσκόπιο φθορισμού»)
6. Μικροσκόπιο αντίθεσης φάσεων
7. Καθαρά πλαστικά, κεραμικά ή θερμοανθεκτικά γυάλινα δοχεία Corlin
8. Λαβίδα
9. Βαθμονομημένο πεχάμετρο (ή πεχαμετρικές ταινίες με δυνατότητα μέτρησης τιμών pH 6,5 – 8,0)
10. Περιέκτης υγρασίας
11. Φακός μικροσκοπίου φθορισμού καταδυτικός σε λάδι
12. Φυγόκεντρος πάγκου εργασίας
13. Αντικειμενοφόροι μικροσκοπίου
14. Καλυπτρίδες 24 x 24 mm
15. Χρονόμετρο
16. Επωαστήρας 37 °C
17. Κόλλα με διάλυμα ελαστικού
18. Μίκτης περιδίνησης
19. Διαβαθμισμένοι κύλινδροι
20. Μαγνητικός αναδευτήρας
21. Βαθμονομημένο θερμόμετρο

Προαιρετικός εξοπλισμός που δεν παρέχεται

1. Κυτταρογενετικός θάλαμος ξήρανσης

Αντιδραστήρια που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

1. Διάλυμα αλατούχου διαλύματος-κιτρικού νατρίου (SSC) 20x
2. Αιθανόλη 100%
3. Tween-20
4. Υδροξείδιο του νατρίου 1M (NaOH)
5. Υδροχλωρικό οξύ 1M (HCl)
6. Απιονισμένο νερό

Σύσταση για το μικροσκόπιο φθορισμού

Χρησιμοποιείτε λάμπα υδραργύρου 100 watt ή ισοδύναμη και επίπεδους, αποχρωματικούς αντικειμενικούς φακούς καταδυτικούς σε λάδι με μεγέθυνση 60/63x ή 100x για βέλτιστη απεικόνιση. Οι φθορίζουσες ουσίες που χρησιμοποιούνται σε αυτό το kit ιχνηθετών θα διεγερθούν και θα εκπέμψουν στα ακόλουθα μήκη κύματος:

Φθοροφόρο	Διέγερση _{μ.μ.} [nm]	Εκπομπή _{μ.μ.} [nm]
Μπλε	418	467
Πράσινη	495	521
Πορτοκαλί	551	572

Βεβαιωθείτε ότι στο μικροσκόπιο έχουν τοποθετηθεί τα κατάλληλα φίλτρα διέγερσης και εκπομπής, τα οποία καλύπτουν τα μήκη κύματος που αναφέρονται παραπάνω.

Το τριπλό φίλτρο ζώνης διέλευσης DAPI/FITC/TRITC είναι βέλτιστο για την ταυτόχρονη προβολή των πράσινων και πορτοκαλί φθοροφόρων, καθώς και για την προβολή της αντίχρωσης. Το γαλάζιο φθοροφόρο είναι ειδικό ως προς το γαλάζιο φάσμα και το φάσμα DEAC (απαιτείται γαλάζιο φίλτρο ή DEAC μονής ζώνης διέλευσης).

Ελέγξτε το μικροσκόπιο φθορισμού πριν από τη χρήση για να διασφαλίσετε ότι λειτουργεί σωστά. Χρησιμοποιήστε λάδι εμβάπτισης που ενδείκνυται για μικροσκοπία φθορισμού και έχει σχεδιαστεί για χαμηλό αυτόματο φθορισμό. Αποφύγετε την ανάμιξη του DAPI antifade με λάδι εμβάπτισης μικροσκοπίου, διότι κάτι τέτοιο θα καλύψει τα σήματα. Τηρήστε τις συστάσεις του κατασκευαστή όσον αφορά τη διάρκεια ζωής της λάμπας και την ηλικία των φίλτρων.

Προετοιμασία δειγμάτων

Το kit έχει σχεδιαστεί για χρήση σε κύτταρα μονιμοποιημένα σε διάλυμα Carnoy (3:1 μεθανόλη/οξικό οξύ) που προέρχονται από δείγματα αμνιακού υγρού, για την απεικόνιση των χρωμοσωμάτων Χ, Υ, 13, 18 και 21 σε κυήσεις υψηλού κινδύνου, όπου υπάρχει υποψία για σύνδρομο Turner, Patau, Edwards ή Down, και τα οποία προετοιμάζονται σύμφωνα με τις οδηγίες του εργαστηρίου ή του ιδρύματος. Η συλλογή δείγματος αμνιακού υγρού θα πρέπει να πραγματοποιείται σύμφωνα με τις οδηγίες του εργαστηρίου ή του ιδρύματος. Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται δείγματα που φαίνεται να έχουν αίμα ή καστανό χρώμα, καθώς ενδέχεται να περιέχουν μητρικό αίμα και να οδηγήσουν σε ψευδή αποτελέσματα. Προετοιμάστε δείγματα που έχουν υποστεί ξήρανση με αέρα σε αντικειμενοφόρους μικροσκοπίου σύμφωνα με τις τυπικές κυτταρογενετικές διαδικασίες. Το εγχειρίδιο AGT

Προετοιμασία διαλυμάτων

Διαλύματα αιθανόλης

Αραιώστε αιθανόλη 100% με απιονισμένο νερό με βάση τις ακόλουθες αναλογίες και αναμίξτε καλά:

- Αιθανόλη 70% - 7 μέρη αιθανόλης 100% σε 3 μέρη απιονισμένου νερού
 - Αιθανόλη 85% - 8,5 μέρη αιθανόλης 100% σε 1,5 μέρος απιονισμένου νερού
- Αποθηκεύστε τα διαλύματα για έως και 6 μήνες σε θερμοκρασία δωματίου σε αεροστεγή περιέκτη.

Διάλυμα 2xSSC

Αραιώστε 1 μέρος διαλύματος 20xSSC με 9 μέρη απιονισμένου νερού και αναμίξτε καλά. Ελέγξτε την τιμή pH και ρυθμίστε σε pH 7,0 χρησιμοποιώντας NaOH ή HCl, κατά περίπτωση. Αποθηκεύστε το διάλυμα για έως και 4 εβδομάδες σε θερμοκρασία δωματίου σε αεροστεγή περιέκτη.

Διάλυμα 0,4xSSC

Αραιώστε 1 μέρος διαλύματος 20xSSC με 49 μέρη απιονισμένου νερού και αναμίξτε καλά. Ελέγξτε την τιμή pH και ρυθμίστε σε pH 7,0 χρησιμοποιώντας NaOH ή HCl, κατά περίπτωση. Αποθηκεύστε το διάλυμα για έως και 4 εβδομάδες σε θερμοκρασία δωματίου σε αεροστεγή περιέκτη.

2xSSC, Διάλυμα Tween-20 0,05%

Αραιώστε 1 μέρος διαλύματος 20xSSC με 9 μέρη απιονισμένου νερού. Προσθέστε 5 μl Tween-20 ανά 10 ml και αναμίξτε καλά. Ελέγξτε την τιμή pH και ρυθμίστε σε pH 7,0 χρησιμοποιώντας NaOH ή HCl, κατά περίπτωση. Αποθηκεύστε το διάλυμα για έως και 4 εβδομάδες σε θερμοκρασία δωματίου σε αεροστεγή περιέκτη.

Πρωτόκολλο FISH

(Σημείωση: Βεβαιωθείτε ότι η έκθεση του ιχνηθέτη στα φώτα του εργαστηρίου είναι πάντα περιορισμένη)

Προετοιμασία αντικειμενοφόρου

1. Τοποθετήστε μια κηλίδα από το κυτταρικό δείγμα σε μια γυάλινη αντικειμενοφόρο μικροσκοπίου. Αφήστε τη να στεγνώσει. (Προαιρετικά, εάν χρησιμοποιείτε κυτταρογενετικό θάλαμο ξήρανσης: Ο θάλαμος πρέπει να λειτουργεί σε θερμοκρασία περίπου 25 °C και υγρασία 50% για τη βέλτιστη λήψη κυτταρικού δείγματος. Εάν δεν υπάρχει διαθέσιμος κυτταρογενετικός θάλαμος ξήρανσης, χρησιμοποιήστε έναν απαγωγό ως εναλλακτική).
2. Βυθίστε την αντικειμενοφόρο σε διάλυμα 2xSSC για 2 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου χωρίς ανακίνηση.
3. Αφυδατώστε σε διαφορετικά ποσοστά αιθανόλης (70%, 85% και 100%), διαδοχικά, το καθένα για 2 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.
4. Αφήστε τη να στεγνώσει.

Πριν από τη μετουσίωση

5. Αφαιρέστε τον ιχνηθέτη από τον καταψύκτη και αφήστε τον να θερμανθεί σε θερμοκρασία δωματίου. Εκτελέστε σύντομη φυγοκέντρωση πριν από τη χρήση.
6. Βεβαιωθείτε ότι το διάλυμα ιχνηθέτη έχει αναμιχθεί ομοιόμορφα με τη χρήση πιπέτας.
7. Αφαιρέστε 10 μl ιχνηθέτη για κάθε εξέταση και μεταφέρετέ τα σε έναν σωλήνα μικροφυγοκέντρωσης. Τοποθετήστε γρήγορα ξανά τον υπόλοιπο ιχνηθέτη στον καταψύκτη.
8. Τοποθετήστε τον ιχνηθέτη και την αντικειμενοφόρο δείγματος σε μια θερμή πλάκα με θερμοκρασία 37 °C (+/- 1 °C) για 5 λεπτά για προθέρμανση.
9. Τοποθετήστε 10 μl μίγματος ιχνηθέτη στο κυτταρικό μίγμα και εφαρμόστε μια καλυπτρίδα προσεκτικά. Σφραγίστε με κόλλα με διάλυμα ελαστικού και αφήστε τη να στεγνώσει εντελώς.

Μετουσίωση

10. Μετουσιώστε το δείγμα και τον ιχνηθέτη ταυτόχρονα θερμαίνοντας την αντικειμενοφόρο σε μια θερμή πλάκα στους 75 °C (+/- 1 °C) για 2 λεπτά.

Υβριδισμός

11. Τοποθετήστε την αντικειμενοφόρο σε έναν υγρό, φωτοσκιερό περιέκτη σε θερμοκρασία 37 °C (+/- 1 °C) για μια ολόκληρη νύχτα.

Πλύσεις μετά τον υβριδισμό

12. Αφαιρέστε το DAPI από τον καταψύκτη και αφήστε το να θερμανθεί σε θερμοκρασία δωματίου.
13. Αφαιρέστε την καλυπτρίδα και όλα τα υπολείμματα κόλλας προσεκτικά.
14. Βυθίστε την αντικειμενοφόρο σε διάλυμα 0,4xSSC (pH 7,0) σε θερμοκρασία 72 °C (+/- 1 °C) για 2 λεπτά χωρίς ανακίνηση.
15. Αποστραγγίστε την αντικειμενοφόρο και βυθίστε τη σε διάλυμα 2xSSC, 0,05% Tween-20 σε θερμοκρασία δωματίου (pH 7,0) για 30 δευτερόλεπτα χωρίς ανακίνηση.
16. Αποστραγγίστε την αντικειμενοφόρο και τοποθετήστε 10 μl DAPI antifade σε κάθε δείγμα.
17. Καλύψτε τη με μια καλυπτρίδα, αφαιρέστε τυχόν φυσαλίδες και περιμένετε 10 λεπτά μέχρι να αναπτυχθεί το χρώμα στο σκοτάδι.
18. Παρατηρήστε σε μικροσκόπιο φθορισμού (ανατρέξτε στην ενότητα **Σύσταση για το μικροσκόπιο φθορισμού**).

Συστάσεις για τη διαδικασία

1. Η θέρμανση ή ωρίμανση των αντικειμενοφόρων μπορεί να μειώσει τον φθορισμό των σημάτων.
2. Οι συνθήκες υβριδισμού μπορεί να επηρεαστούν δυσμενώς από τη χρήση αντιδραστηρίων πέραν εκείνων που παρέχονται ή συστήνονται από τη Cytocell Ltd.

3. Χρησιμοποιήστε ένα βαθμονομημένο θερμόμετρο για τη μέτρηση θερμοκρασιών διαλυμάτων, υδατόλουτρων και επωαστήρων, καθώς οι εν λόγω θερμοκρασίες είναι κρίσιμης σημασίας για τη βέλτιστη απόδοση του προϊόντος.
4. Οι συγκεντρώσεις, οι τιμές pH και οι θερμοκρασίες πλύσης είναι σημαντικές, καθώς οι συνθήκες χαμηλής αυστηρότητας μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα μη ειδική δέσμευση του ιχνηθέτη και οι συνθήκες υπερβολικά υψηλής αυστηρότητας μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα την απώλεια σήματος.
5. Η ατελής μετουσίωση μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια σήματος και η υπερβολική μετουσίωση μπορεί επίσης να έχει ως αποτέλεσμα τη μη ειδική δέσμευση.
6. Ο υπερβολικός υβριδισμός μπορεί να οδηγήσει σε πρόσθετα ή μη αναμενόμενα σήματα.
7. Οι χρήστες θα πρέπει να βελτιστοποιούν το πρωτόκολλο για τα δείγματά τους πριν από τη χρήση της εξέτασης για διαγνωστικούς σκοπούς.
8. Τυχόν υποβέλτιστες συνθήκες μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα μη ειδική δέσμευση, η οποία μπορεί να παρερμηνευτεί ως σήμα ιχνηθέτη.

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

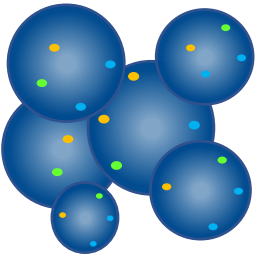
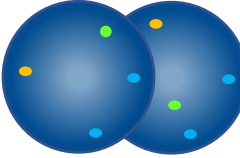
Εκτίμηση ποιότητας αντικειμενοφόρων πλακών

Η αντικειμενοφόρος δεν θα πρέπει να αναλύεται εάν:

- Τα σήματα είναι πολύ ασθενή για να πραγματοποιηθεί ανάλυση σε μεμονωμένα φίλτρα. Για να προχωρήσετε με την ανάλυση, τα σήματα θα πρέπει να είναι φωτεινά, διακριτά και εύκολα αξιολογήσιμα
- Υπάρχει μεγάλος αριθμός συσταδοποιημένων/αλληλοεπικαλυπτόμενων κυττάρων που εμποδίζουν την ανάλυση
- >50% των κυττάρων δεν έχουν υβριδοποιηθεί
- Υπάρχει περίσσεια φθορίζοντων σωματιδίων μεταξύ των κυττάρων ή/και φθορίζουσα αχλή που προκαλεί παρεμβολές στα σήματα. Ιδανικά, το υπόβαθρο των αντικειμενοφόρων θα πρέπει να φαίνεται σκοτεινό ή μαύρο και καθαρό
- Τα όρια του κυτταρικού πυρήνα δεν είναι διακριτά και δεν είναι άθικτα

Κατευθυντήριες οδηγίες για την ανάλυση

- Κάθε δείγμα θα πρέπει να αναλύεται και να ερμηνεύεται από δύο αναλυτές. Τυχόν ασυμφωνίες θα πρέπει να επιλύονται μέσω εκτίμησης από τρίτο αναλυτή
- Κάθε αναλυτής θα πρέπει να είναι κατάλληλα εξειδικευμένος σύμφωνα με τα αναγνωρισμένα εθνικά πρότυπα
- Κάθε αναλυτής θα πρέπει να βαθμολογεί ανεξάρτητα επαρκείς πυρήνες από κάθε δείγμα, έτσι ώστε οι συνδυασμένες βαθμολογίες των αναλυτών να πληρούν τα ελάχιστα κριτήρια, όπως ορίζονται από τις θεσμικές, περιφερειακές ή εθνικές οδηγίες. Ο πρώτος αναλυτής θα πρέπει να ξεκινά την ανάλυση από την αριστερή πλευρά της αντικειμενοφόρου και ο δεύτερος αναλυτής από τη δεξιά πλευρά
- Κάθε αναλυτής θα πρέπει να τεκμηριώνει τα αποτελέσματά του σε χωριστά έντυπα
- Αναλύετε μόνο άθικτους πυρήνες και όχι επικαλυπτόμενους ή συσσωρευμένους πυρήνες ή πυρήνες που καλύπτονται από κυτταροπλασματικά υπολείμματα ή υψηλό επίπεδο αυτοφθορισμού
- Αποφεύγετε περιοχές με περίσσεια κυτταροπλασματικών υπολειμμάτων ή μη ειδικό υβριδισμό
- Η ένταση των σημάτων μπορεί να ποικίλλει, ακόμα και στην περίπτωση ενός μόνο πυρήνα. Σε τέτοιες περιπτώσεις, να χρησιμοποιείτε μονά φίλτρα ή/και να ρυθμίζετε το εστιακό επίπεδο
- Σε υποβέλτιστες συνθήκες, τα σήματα μπορεί να φαίνονται διάχυτα. Εάν δύο σήματα του ίδιου χρώματος βρίσκονται σε επαφή μεταξύ τους, ή η απόσταση μεταξύ τους δεν είναι μεγαλύτερη από δύο πλάτη σήματος, ή συνδέονται με ένα αχνό νήμα, μετρήστε τα ως ένα σήμα
- Εάν έχετε αμφιβολίες για το εάν ένα κύτταρο μπορεί να αναλυθεί ή όχι, μην προχωρήσετε στην ανάλυσή του

Οδηγίες για την ανάλυση – LPA002	
	Μην προσμετράτε - οι πυρήνες είναι υπερβολικά κοντά ο ένας στον άλλον για τον καθορισμό ορίων
	Μη προσμετράτε αλληλοκαλυπτόμενους πυρήνες - δεν είναι ορατή ολόκληρη η έκταση και των δύο πυρήνων

	Προσμετρήστε ως ένα πράσινο, ένα πορτοκαλί και δύο γαλάζια σήματα - το πράσινο σήμα είναι διάχυτο
	Προσμετρήστε ως ένα πράσινο, ένα πορτοκαλί και δύο γαλάζια σήματα - το πορτοκαλί σήμα είναι διάχυτο
	Προσμετρήστε ως ένα πράσινο, ένα πορτοκαλί και δύο γαλάζια σήματα - ένα από τα γαλάζια σήματα είναι διάχυτο
	Προσμετρήστε ως ένα πράσινο, ένα πορτοκαλί και δύο γαλάζια σήματα - το διάστημα στο γαλάζιο σήμα είναι μικρότερο από τα πλήρη δύο ιχνηθετών

Οδηγίες για την ανάλυση – LPA003	
	Μην προσμετράτε - οι πυρήνες είναι υπερβολικά κοντά ο ένας στον άλλον για τον καθορισμό ορίων
	Μη προσμετράτε αλληλοκαλυπτόμενους πυρήνες - δεν είναι ορατή ολόκληρη η έκταση και των δύο πυρήνων
	Προσμετρήστε ως δύο πορτοκαλί και δύο πράσινα σήματα - ένα από τα δύο πράσινα σήματα είναι διάχυτο
	Προσμετρήστε ως δύο πορτοκαλί και δύο πράσινα σήματα - το διάστημα στο ένα πράσινο σήμα είναι μικρότερο από τα πλήρη δύο σημάτων

Απαιτήσεις τρίτου αναλυτή

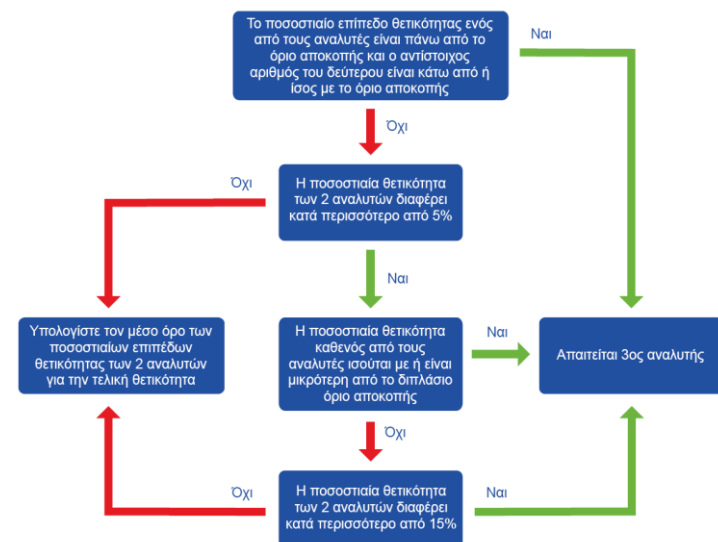
Ανάλογα με τον αριθμό των μη φυσιολογικών πυρήνων που έχει δει ο κάθε αναλυτής, ενδέχεται να χρειάζεται και τρίτος αναλυτής. Ο τρίτος αναλυτής θα αναλύσει τον ίδιο αριθμό πυρήνων με τους δύο πρώτους αναλυτές, όπως ορίζεται από τις θεσμικές, περιφερειακές ή εθνικές οδηγίες. Οι κανόνες που ισχύουν για τον τρίτο αναλυτή παρουσιάζονται λεπτομερώς στο κείμενο και στο διάγραμμα ροής παρακάτω.

Απαιτείται τρίτος αναλυτής εάν:

- Η ποσοστιαία θετικότητα ενός από τους αναλυτές είναι πάνω από το όριο αποκοπής και ο αντίστοιχος αριθμός του δεύτερου είναι κάτω από ή ίσος με το όριο αποκοπής.
- Η ποσοστιαία θετικότητα των δύο αναλυτών διαφέρει κατά περισσότερο από 5% και το ποσοστό θετικότητας καθενός από τους αναλυτές είναι ίσο με ή χαμηλότερο από το διπλάσιο όριο αποκοπής.

- Η ποσοστιαία θετικότητα των δύο αναλυτών διαφέρει κατά περισσότερο από 15%.

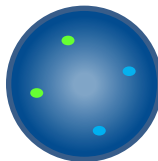
Από τις τρεις βαθμολογίες που λαμβάνονται, οι δύο πλησιέστερες θετικές ποσοστιαίες τιμές θα υπολογιστούν ως μέσοι όροι για την τελική θετικότητα. Εάν οι 3 βαθμολογίες είναι ισαπέχουσες, τότε θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί η διάμεση τιμή θετικότητας.



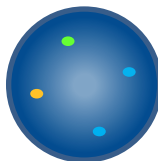
Αναμενόμενα αποτελέσματα

LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Αναμενόμενα φυσιολογικά πρότυπα σημάτων

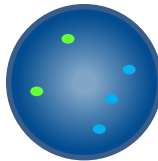


Σε ένα φυσιολογικό θηλυκό κύτταρο, αναμένονται δύο πράσινα και δύο γαλάζια σήματα. (2Pr2M).

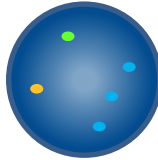


Σε ένα φυσιολογικό αρσενικό κύτταρο, αναμένονται ένα πράσινο, ένα πορτοκαλί και δύο γαλάζια σήματα (1Pr1Por2M).

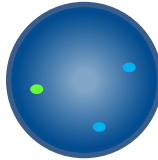
Αναμενόμενα μη φυσιολογικά πρότυπα σημάτων



Σε ένα θηλυκό κύτταρο με τρισωμία 18, το αναμενόμενο πρότυπο σημάτων θα είναι δύο πράσινα σήματα και τρία γαλάζια σήματα (2Pr3M).

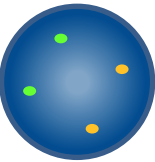


Σε ένα αρσενικό κύτταρο με τρισωμία 18, το αναμενόμενο πρότυπο σημάτων θα είναι ένα πράσινο σήμα, ένα πορτοκαλί σήμα και τρία γαλάζια σήματα (1Pr1Por3M).



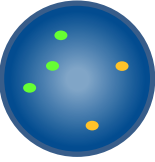
Σε ένα κύτταρο με σύνδρομο Turner, το αναμενόμενο πρότυπο σημάτων θα είναι ένα πράσινο σήμα και δύο γαλάζια σήματα (1Pr2M).

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe
Αναμενόμενο φυσιολογικό πρότυπο σημάτων

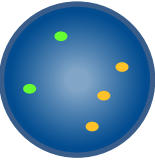


Σε ένα φυσιολογικό κύτταρο, αναμένονται δύο πράσινα και δύο πορτοκαλί σήματα (2Πρ2Πορ).

Αναμενόμενα μη φυσιολογικά πρότυπα σημάτων



Σε ένα κύτταρο με τρισωμία 13, αναμένονται τρία πράσινα σήματα και δύο πορτοκαλί σήματα (3Πρ2Πορ).



Σε ένα κύτταρο με τρισωμία 21, αναμένονται δύο πράσινα σήματα και τρία πορτοκαλί σήματα (2Πρ3Πορ).

Μπορούν να προκύψουν και άλλα πρότυπα σημάτων σε ανευπλοειδή/μη ισορροπημένα δείγματα.

Γνωστές σχετικές παρεμβολές / παρεμβαλλόμενες ουσίες
Δεν υπάρχουν γνωστές σχετικές παρεμβολές / παρεμβαλλόμενες ουσίες.

Γνωστή διασταυρούμενη αντιδραστικότητα
Ο ιχνηθέτης DXZ1 μπορεί να εμφανίσει διασταυρούμενο υβριδισμό στα κεντρομερή των χρωμοσωμάτων 1, 11, 17 και Υ.
Ο ιχνηθέτης DYZ3 μπορεί να εμφανίσει διασταυρούμενο υβριδισμό στα κεντρομερή των χρωμοσωμάτων 13, 14, 15, 20, 21, 22 και Χ.
Ο ιχνηθέτης D18Z1 μπορεί να εμφανίσει διασταυρούμενο υβριδισμό στα κεντρομερή των χρωμοσωμάτων 2, 4, 8, 9, 13, 14, 15, 20, 21 και 22.

Αναφορά σοβαρών περιστατικών
Για ασθενή/χρήστη/τρίτο μέρος στην Ευρωπαϊκή Ένωση και σε χώρες με το ίδιο ρυθμιστικό καθεστώς (Κανονισμός (ΕΕ) 2017/746 για τα *in vitro* διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα). Εάν, κατά τη χρήση αυτής της συσκευής ή ως αποτέλεσμα της χρήσης της, έχει προκύψει κάποιο σοβαρό περιστατικό, αναφέρετε το στον κατασκευαστή και στην αρμόδια αρχή της χώρας σας.
Για σοβαρά περιστατικά σε άλλες χώρες, αναφέρετέ το στον κατασκευαστή και, εάν υπάρχει, στην αρμόδια αρχή της χώρας σας.
Επικοινωνία για θέματα επαγρύπνησης κατασκευαστή: vigilance@ogt.com
Για αρμόδιες εθνικές αρχές της ΕΕ, μπορείτε να βρείτε τον κατάλογο με τα σημεία επικοινωνίας για θέματα επαγρύπνησης στο: https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Ειδικά χαρακτηριστικά απόδοσης
Αναλυτική ειδικότητα
LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Η αναλυτική ειδικότητα ορίζεται ως το ποσοστό των σημάτων που υβριδοποιούνται μόνο στη σωστή θέση και σε καμία άλλη θέση. Αναλύθηκαν 4 χρωμοσωμικές θέσεις σε καθένα από τα 20 μεταφασικά κύτταρα από 5 δείγματα, δίνοντας 100 σημεία δεδομένων το καθένα για το χρωμόσωμα Χ και Υ και 200 σημεία δεδομένων για το χρωμόσωμα 18. Χαρτογραφήθηκε η τοποθεσία κάθε υβριδοποιημένου ιχνηθέτη και καταγράφηκε ο αριθμός των σημάτων FISH μεταφασικών χρωμοσωμάτων που υβριδοποιήθηκαν στη σωστή θέση.

Η αναλυτική ειδικότητα κάθε ιχνηθέτη στο kit υπολογίστηκε ως ο αριθμός των σημάτων FISH μεταφασικών χρωμοσωμάτων που υβριδοποιήθηκαν στη σωστή θέση διαιρεμένος με τον συνολικό αριθμό υβριδοποιημένων σημάτων FISH μεταφασικών χρωμοσωμάτων. Αυτό το αποτέλεσμα εκφράστηκε ως ποσοστό με διάστημα εμπιστοσύνης 95%.

Πίνακας 1. Αναλυτική ειδικότητα του LPA002 Prenatal X, Y, and 18 Enumeration Probe

Στόχος	Αριθμός υβριδοποιημένων μεταφασικών χρωμοσωμάτων	Αριθμός σωστά υβριδοποιημένων θέσεων	Αναλυτική ειδικότητα	Διάστημα εμπιστοσύνης 95%
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
Η αναλυτική ειδικότητα ορίζεται ως το ποσοστό των σημάτων που υβριδοποιούνται μόνο στη σωστή θέση και σε καμία άλλη θέση. Αναλύθηκαν 4 χρωμοσωμικές θέσεις σε καθένα από τα 20 μεταφασικά κύτταρα από 5 δείγματα, δίνοντας 200 σημεία δεδομένων το καθένα για τα χρωμοσώματα 13 και 21. Χαρτογραφήθηκε η τοποθεσία κάθε υβριδοποιημένου ιχνηθέτη και καταγράφηκε ο αριθμός των σημάτων FISH μεταφασικών χρωμοσωμάτων που υβριδοποιήθηκαν στη σωστή θέση.

Η αναλυτική ειδικότητα κάθε ιχνηθέτη στο kit υπολογίστηκε ως ο αριθμός των σημάτων FISH μεταφασικών χρωμοσωμάτων που υβριδοποιήθηκαν στη σωστή θέση διαιρεμένος με τον συνολικό αριθμό υβριδοποιημένων σημάτων FISH μεταφασικών χρωμοσωμάτων. Αυτό το αποτέλεσμα εκφράστηκε ως ποσοστό με διάστημα εμπιστοσύνης 95%.

Πίνακας 2. Αναλυτική ειδικότητα του LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Στόχος	Αριθμός υβριδοποιημένων μεταφασικών χρωμοσωμάτων	Αριθμός σωστά υβριδοποιημένων θέσεων	Αναλυτική ειδικότητα	Διάστημα εμπιστοσύνης 95%
13q14.2	200	200	100%	98,12%–100%
21q22.1	200	200	100%	98,12%–100%

Αναλυτική ευαισθησία
LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Η αναλυτική ευαισθησία είναι το ποσοστό των αξιολογήσιμων μεσοφασικών κυττάρων με το αναμενόμενο πρότυπο φυσιολογικών σημάτων. Αναλύθηκαν τουλάχιστον 50 μεσοφασικά κύτταρα για καθένα από τα 25 μονιμοποιημένα κυτταρικά εναιωρήματα από δείγματα αμνιακού υγρού από καρυοτυπικά φυσιολογικά αρσενικά έμβρυα και 25 καρυοτυπικά φυσιολογικά θηλυκά έμβρυα που κρίθηκε ότι έχουν φυσιολογικό συμπλήρωμα του χρωμοσώματος 18, με αποτέλεσμα να βαθμολογηθούν συνολικά τουλάχιστον 2.500 πυρήνες. Τα δεδομένα για την ευαισθησία αναλύθηκαν βάσει του ποσοστού κυττάρων που έδειξαν φυσιολογικό αναμενόμενο πρότυπο σημάτων και εκφράστηκαν ως ποσοστό με διάστημα εμπιστοσύνης 95%.

Πίνακας 3. Αναλυτική ευαισθησία του LPA002 Prenatal X, Y, and 18 Enumeration Probe

Είδος δείγματος	Κριτήρια ευαισθησίας	Αποτέλεσμα ευαισθησίας
Αμνιακό υγρό	>95%	95,99% (95,15–96,69%)

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Η αναλυτική ευαισθησία είναι το ποσοστό των αξιολογήσιμων μεσοφασικών κυττάρων με το αναμενόμενο πρότυπο φυσιολογικών σημάτων. Αναλύθηκαν τουλάχιστον 50 μεσοφασικά κύτταρα για καθένα από τα 25 μονιμοποιημένα κυτταρικά εναιωρήματα από δείγματα αμνιακού υγρού από καρυοτυπικά φυσιολογικά αρσενικά ή θηλυκά έμβρυα που κρίθηκε ότι είχαν φυσιολογικό συμπλήρωμα χρωμοσωμάτων 13 και 21, με αποτέλεσμα να βαθμολογηθούν τουλάχιστον 1.250 πυρήνες για κάθε τύπο δείγματος. Τα δεδομένα για την ευαισθησία αναλύθηκαν βάσει του ποσοστού κυττάρων που έδειξαν φυσιολογικό αναμενόμενο πρότυπο σημάτων και εκφράστηκαν ως ποσοστό με διάστημα εμπιστοσύνης 95%.

Πίνακας 4. Αναλυτική ευαισθησία για το LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Είδος δείγματος	Κριτήρια ευαισθησίας	Αποτέλεσμα ευαισθησίας
Αμνιακό υγρό	>95%	96,24% (94,84–97,64%)

Χαρακτηρισμός των φυσιολογικών τιμών αποκοπής
LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Η φυσιολογική αποκοπή ορίζεται ως το ποσοστό κυττάρων που εμφανίζουν ψευδώς θετικό πρότυπο σημάτων βάσει του οποίου ένα άτομο θα θεωρούταν φυσιολογικό σε αντίθεση με την κλινική διάγνωση. Αναλύθηκαν τουλάχιστον 50 μεσοφασικά κύτταρα για καθένα από τα 25 μονιμοποιημένα κυτταρικά εναιωρήματα από δείγματα αμνιακού υγρού από καρυοτυπικά φυσιολογικά αρσενικά έμβρυα και 25 καρυοτυπικά φυσιολογικά θηλυκά έμβρυα που κρίθηκε ότι

έχουν φυσιολογικό συμπλήρωμα του χρωμοσώματος 18, με αποτέλεσμα να βαθμολογηθούν συνολικά τουλάχιστον 2.500 πυρήνες.

Η τιμή αποκοπής προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας τη β ανάστροφη (BETAINV) συνάρτηση στο MS Excel. Υπολογίστηκε ως το ποσοστό μεσοφασικών κυττάρων που έδειξαν ψευδώς θετικό πρότυπο σημάτων χρησιμοποιώντας το ανώτερο όριο ενός μονόπλευρου διαστήματος εμπιστοσύνης 95% της διωνυμικής κατανομής φυσιολογικού δείγματος ασθενούς.

Πίνακας 5. Χαρακτηρισμός των φυσιολογικών τιμών αποκοπής του LPA002 Prenatal X, Y, and 18 Enumeration Probe

Είδος δείγματος	Πρότυπο σημάτων	Αποτέλεσμα αποκοπής
Αμνιακό υγρό	1Πρ1Πορ3Μ	11,62%
	2Πρ3Μ	8,97%
	1Πρ2Μ	13,98%

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Η φυσιολογική αποκοπή ορίζεται ως το ποσοστό κυττάρων που εμφανίζουν ψευδώς θετικό πρότυπο σημάτων βάσει του οποίου ένα άτομο θα θεωρούταν φυσιολογικό σε αντίθεση με την κλινική διάγνωση. Αναλύθηκαν τουλάχιστον 50 μεσοφασικά κύτταρα για καθένα από τα κυτταρικά εναιωρήματα αμνιακού υγρού από 25 καρωτυπικά φυσιολογικά αρσενικά ή θηλυκά έμβρυα, με αποτέλεσμα να βαθμολογηθούν τουλάχιστον 1.250 πυρήνες για κάθε τύπο δείγματος.

Η τιμή αποκοπής προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας τη β ανάστροφη (BETAINV) συνάρτηση στο MS Excel. Υπολογίστηκε ως το ποσοστό μεσοφασικών κυττάρων που έδειξαν ψευδώς θετικό πρότυπο σημάτων χρησιμοποιώντας το ανώτερο όριο ενός μονόπλευρου διαστήματος εμπιστοσύνης 95% της διωνυμικής κατανομής φυσιολογικού δείγματος ασθενούς.

Πίνακας 6. Χαρακτηρισμός των φυσιολογικών τιμών αποκοπής για το LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Είδος δείγματος	Πρότυπο σημάτων	Αποτέλεσμα αποκοπής
Αμνιακό υγρό	2Πρ3Πορ	8,97%
	3Πρ2Πορ	

Τα εργαστήρια πρέπει να επιβεβαιώνουν τις τιμές αποκοπής χρησιμοποιώντας τα δικά τους δεδομένα.^{13,14}

Ακρίβεια LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Η ακρίβεια αυτού του προϊόντος έχει μετρηθεί σε σχέση με την ακρίβεια εντός ημέρας (από δείγμα σε δείγμα), την ακρίβεια μεταξύ ημερών (από ημέρα σε ημέρα) και την ακρίβεια μεταξύ παρτίδων σε ένα κέντρο (από παρτίδα σε παρτίδα).

Χρησιμοποιήθηκαν 3 δείγματα για την αξιολόγηση της ακρίβειας αυτού του προϊόντος: 1 φυσιολογικό αρσενικό δείγμα αμνιακού υγρού που κρίθηκε ως XY και με φυσιολογικό συμπλήρωμα χρωμοσώματος 18, 1 φυσιολογικό θηλυκό δείγμα αμνιακού υγρού που κρίθηκε ως XX και με φυσιολογικό συμπλήρωμα χρωμοσώματος 18, και 1 θηλυκό δείγμα αμνιακού υγρού με χαμηλή θετικότητα για τρισωμία 18.

Η ακρίβεια μεταξύ ημερών και εντός της ίδιας ημέρας αξιολογήθηκε με εξέταση δειγμάτων εις τριπλούν σε 10 μη διαδοχικές ημέρες. Η ακρίβεια μεταξύ παρτίδων αξιολογήθηκε με εξέταση 3 ανεξάρτητων παρτίδων προϊόντων εις τριπλούν με τα ίδια δείγματα. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως συνολική συμφωνία με την αναμενόμενη ταξινόμηση (θετική ή αρνητική).

Πίνακας 7. Αναπαραγωγιμότητα και ακρίβεια για το LPA002 Prenatal X, Y, and 18 Enumeration Probe

Μεταβλητή	Είδος δείγματος	Συμφωνία
Εντός ημέρας	Αρνητικό αμνιακό υγρό θηλυκών εμβρύων	100,0%
	Αμνιακό υγρό θηλυκών εμβρύων με τρισωμία 18	90,0%
Μεταξύ ημερών	Αρνητικό αμνιακό υγρό θηλυκών εμβρύων	100,0%
	Αμνιακό υγρό θηλυκών εμβρύων με τρισωμία 18	90,0%
	Αρνητικό αμνιακό υγρό αρσενικών εμβρύων	100,0%
Μεταξύ παρτίδων	Αρνητικό αμνιακό υγρό θηλυκών εμβρύων	100,0%
	Αμνιακό υγρό θηλυκών εμβρύων με τρισωμία 18	100,0%
	Αρνητικό αμνιακό υγρό αρσενικών εμβρύων	100,0%

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Η ακρίβεια αυτού του προϊόντος έχει μετρηθεί σε σχέση με την ακρίβεια εντός ημέρας (από δείγμα σε δείγμα), την ακρίβεια μεταξύ ημερών (από ημέρα σε ημέρα) και την ακρίβεια μεταξύ παρτίδων σε ένα κέντρο (από παρτίδα σε παρτίδα).

Χρησιμοποιήθηκαν 3 δείγματα για την αξιολόγηση της ακρίβειας αυτού του προϊόντος: 1 φυσιολογικό δείγμα αμνιακού υγρού που κρίθηκε ότι έχει φυσιολογικό συμπλήρωμα χρωμοσωμάτων 13 και 21, 1 δείγμα αμνιακού υγρού με χαμηλή

θετικότητα για τρισωμία 13 και 1 δείγμα αμνιακού υγρού με χαμηλή θετικότητα για τρισωμία 21.

Η ακρίβεια μεταξύ ημερών και εντός της ίδιας ημέρας αξιολογήθηκε με εξέταση δειγμάτων εις τριπλούν σε 10 μη διαδοχικές ημέρες. Η ακρίβεια μεταξύ παρτίδων αξιολογήθηκε με εξέταση 3 ανεξάρτητων παρτίδων προϊόντων εις τριπλούν με τα ίδια δείγματα. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως συνολική συμφωνία με την αναμενόμενη ταξινόμηση (θετική ή αρνητική).

Πίνακας 8. Αναπαραγωγιμότητα και ακρίβεια για το LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Μεταβλητή	Είδος δείγματος	Συμφωνία
Ακρίβεια εντός ημέρας και μεταξύ ημερών	Αρνητικό αμνιακό υγρό	100,0%
	Αμνιακό υγρό με χαμηλή θετικότητα για τρισωμία 13	100,0%
	Αμνιακό υγρό με χαμηλή θετικότητα για τρισωμία 21	96,7%
Μεταξύ παρτίδων	Αρνητικό αμνιακό υγρό	88,9%
	Αμνιακό υγρό με χαμηλή θετικότητα για τρισωμία 13	100,0%
	Αμνιακό υγρό με χαμηλή θετικότητα για τρισωμία 21	100,0%

Κλινική απόδοση LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Για να διασφαλιστεί ότι το Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe ανιχνεύει τις προβλεπόμενες αναδιατάξεις, η κλινική απόδοση προσδιορίστηκε με μία μελέτη αντιπροσωπευτικών δειγμάτων του προβλεπόμενου πληθυσμού του προϊόντος: Υπολειμματικό υλικό μονιμοποιημένο με μεθανόλη/οξικό οξύ 3:1 από δείγματα προγεννητικού αμνιακού υγρού. Το μέγεθος του δείγματος για τη μελέτη ήταν 71 δείγματα, με πληθυσμό 3 δειγμάτων θετικών για τρισωμία 18, 2 δειγμάτων θετικών για μονοσωμία X και 66 αρνητικών δειγμάτων. Αφαιρέθηκε η ταυτότητα όλων των δειγμάτων και τυχαιοποιήθηκαν για την αποφυγή μεροληψίας στην ανάλυση. Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με τη γνωστή κατάσταση του δείγματος. Ο ιχνηθέτης αναγνώρισε σωστά την κατάσταση των δειγμάτων σε όλες τις περιπτώσεις.

Τα αποτελέσματα των δοκιμών αυτών αναλύθηκαν προκειμένου να υπολογιστεί η κλινική ευαισθησία, η κλινική ειδικότητα και το ποσοστό ψευδώς θετικών (FPR) τιμών για τα θετικά σήματα, χρησιμοποιώντας μια προσέγγιση μίας διάστασης.

Πίνακας 9. Κλινική απόδοση για το Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Μεταβλητή	Αποτέλεσμα
Κλινική ευαισθησία (ποσοστό αληθώς θετικών, TPR)	100,0%
Κλινική ειδικότητα (ποσοστό αληθώς αρνητικών, TNR)	100,0%
Ποσοστό ψευδώς θετικών (FPR) = 1 – Ειδικότητα	0,0%

LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Για να διασφαλιστεί ότι το Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe ανιχνεύει τις προβλεπόμενες αναδιατάξεις, η κλινική απόδοση προσδιορίστηκε με τρεις μελέτες αντιπροσωπευτικών δειγμάτων του προβλεπόμενου πληθυσμού του προϊόντος: Υπολειμματικό υλικό μονιμοποιημένο με μεθανόλη/οξικό οξύ 3:1 από δείγματα προγεννητικού αμνιακού υγρού. Το μέγεθος του δείγματος για τη μελέτη ήταν 172 δείγματα, με πληθυσμό 15 δειγμάτων θετικών για τρισωμία 13 και 157 δειγμάτων αρνητικών για τρισωμία 13 και συνολικά 109 δειγμάτων θετικών για τρισωμία 21 και 63 δειγμάτων αρνητικών για τρισωμία 13. Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με τη γνωστή κατάσταση του δείγματος. Ο ιχνηθέτης αναγνώρισε σωστά την κατάσταση των δειγμάτων σε όλες τις περιπτώσεις.

Τα αποτελέσματα των δοκιμών αυτών αναλύθηκαν προκειμένου να υπολογιστεί η κλινική ευαισθησία, η κλινική ειδικότητα και το ποσοστό ψευδώς θετικών (FPR) τιμών για τα θετικά σήματα, χρησιμοποιώντας μια προσέγγιση μίας διάστασης.

Πίνακας 10. Κλινική απόδοση για το Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Μεταβλητή	Αποτέλεσμα
Κλινική ευαισθησία (ποσοστό αληθώς θετικών, TPR)	100,0%
Κλινική ειδικότητα (ποσοστό αληθώς αρνητικών, TNR)	100,0%
Ποσοστό ψευδώς θετικών (FPR) = 1 – Ειδικότητα	0,0%

Σύνοψη Ασφάλειας και Απόδοσης (SSP)

Η SSP θα διατίθεται στο κοινό μέσω της ευρωπαϊκής βάσης δεδομένων για τα ιατροτεχνολογικά προϊόντα (Eudamed), όπου συνδέεται με το βασικό UDI-DI. URL Eudamed: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> Βασικό UDI-DI: 50558449LPA001GG

Εάν το Eudamed δεν είναι πλήρως λειτουργικό, η SSP θα διατίθεται στο κοινό κατόπιν αιτήματος μέσω ηλεκτρονικού ταχυδρομείου στη διεύθυνση SSP@oat.com.

Πρόσθετες πληροφορίες
Για πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με το προϊόν, επικοινωνήστε με το Τμήμα Τεχνικής Υποστήριξης της CytoCell.
Τηλ: +44(0)1223 294048
Email: techsupport@cytozell.com
Ιστότοπος: www.oqt.com

Βιβλιογραφικές αναφορές

1. Alliance G,(2010). Chromosomal Abnormalities [Internet]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK132134/>.
2. Dey M, et al., (2013). Prenatal screening methods for aneuploidies. North American Journal of Medical Sciences.
3. Antonarakis SE, Strydom A., (2020). Down Syndrome. Nature Reviews Disease Primers.
4. Orphanet: Down syndrome [Internet]. www.orpha.net. Available from: <https://www.orpha.net/en/disease/detail/870>.
5. Orphanet: Trisomy 13 [Internet]. www.orpha.net. Available from: <https://www.orpha.net/en/disease/detail/3378>.
6. Pyle AK, et al. (2025) Guidance for Caring for Infants and Children With Trisomy 13 and Trisomy 18: Clinical Report. PEDIATRICS.
7. Balasundaram P, et al. (2023). Edwards syndrome. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan–. Updated 2025 Feb 15. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570597/>.
8. Shankar Kikkeri N, et al., (2023). Turner Syndrome; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554621/>.
9. Best Practice Guidelines (2024). The Association for Clinical Genomic Science (ACGS). Cytogenetics Constitutional Guidelines.
10. NHS England - National genomic test directory for rare and inherited disease. Available from: <https://www.england.nhs.uk/publication/national-genomic-test-directories/>
11. Silva M. et al. (2019) European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. European Journal of Human Genetics.
12. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc. References
13. 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.
14. 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.

Γλωσσάρι συμβόλων

EN ISO 15223-1:2021 — «Προϊόντα για ιατρική χρήση — Σύμβολα που πρέπει να χρησιμοποιούνται με τις πληροφορίες που πρέπει να παρέχονται από τον κατασκευαστή — Μέρος 1: Γενικές απαιτήσεις» (© Διεθνής Οργανισμός Τυποποίησης)		
Σύμβολο	Τίτλος	Αριθμοί αναφοράς
	el: Κατασκευαστής	5.1.1
	el: Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα/Ευρωπαϊκή Ένωση	5.1.2
	el: Ημερομηνία λήξης	5.1.4
	el: Αριθμός παρτίδας	5.1.5
	el: Αριθμός καταλόγου	5.1.6
	el: Να διατηρείται μακριά από το ηλιακό φως	5.3.2
	el: Όριο θερμοκρασίας	5.3.7
	el: Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	5.4.3
 oqt.com/IFU	el: Συμβουλευτείτε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης	5.4.3
	el: Προσοχή	5.4.4
	el: <i>In vitro</i> διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν	5.5.1
	el: Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις	5.5.5

	el: Αποκλειστικό αναγνωριστικό τεχνολογικού προϊόντος	5.7.10
Σύμβολα EDMA για αντιδραστήρια και συστατικά IVD, αναθεώρηση Οκτωβρίου 2009		
Σύμβολο	Τίτλος	Αριθμοί αναφοράς
	el: Περιεχόμενα (ή περιέχει)	A/A

Διπλώματα ευρεσιτεχνίας και εμπορικά σήματα
Το CytoCell είναι σήμα κατατεθέν της Cytozell Limited.



Cytozell Limited
Oxford Gene Technology,
418 Cambridge Science Park,
Milton Road,
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
ΗΝΩΜΕΝΟ ΒΑΣΙΛΕΙΟ

Τηλ.: +44 (0)1223 294048
Email: probes@cytozell.com
Ιστότοπος: www.oqt.com



Sysmex Europe SE
Deelbøge 19 D
22297 Hamburg
ΓΕΡΜΑΝΙΑ

Ιστότοπος: www.sysmex-europe.com

Ιστορικό έκδοσης ΟΧ
V001 09-03-2026: Νέες ΟΧ για τον Κανονισμό (ΕΕ) 2017/746