



A Sysmex Group Company



Instrucțiuni de utilizare (IFU)

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

Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit



NUMAI PENTRU UTILIZARE PROFESIONALĂ



Informații suplimentare și în alte limbi sunt disponibile pe ogt.com/IFU

Destinație de utilizare

CytoCell® Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit este un test calitativ, ne-automatizat de hibridizare fluorescență in situ (FISH), utilizat pentru detecția regiunii cromozomiale 13q14.2 și a regiunii cromozomiale 21q22.1 în celule fixate în soluție Carnoy (metanol/acid acetic 3:1) obținute din probe de lichid amniotic, la enumerarea cromozomilor 13 și 21 în cazul sarcinilor cu risc înalt, unde se suspectează prezența sindromului Down sau Patau.

Indicații de utilizare

Acest dispozitiv este conceput pentru a fi utilizat complementar la alte teste clinice și de laborator în cadrul algoritmilor stabiliți de diagnostic și tratament, cum sunt screening-ul ultrasonic și testele biochimice, în situațiile în care cunoașterea stării privind numărul de copii ale regiunii cromozomiale 13q14.2 și regiunii cromozomiale 21q22.1 poate fi importantă pentru alegerea strategiei de gestionare clinică.

Limitări

Acest dispozitiv este conceput pentru a detecta materialul cromozomial care include regiunea cromozomială 13q14.2 și regiunea cromozomială 21q22.1 la care se atașează clonele verde și portocalii din acest set de sonde, respectiv. Este posibil ca inserțiile sau delețiile unor fragmente din afara acestor regiuni sau inserțiile sau delețiile parțiale în aceste regiuni să nu fie detectate cu acest dispozitiv.

Acest dispozitiv nu este destinat pentru: utilizarea ca mijloc de diagnosticare de sine stătător, utilizarea ca mijloc de diagnosticare auxiliar, screening la nivel de populație, testare la locul de acordare a asistenței medicale sau autotestare și nu a fost validat pentru tipuri de probe, tipuri de boli sau în alte scopuri decât cele declarate în scopul propus.

Acest dispozitiv este destinat ca test complementar altor teste diagnostice de laborator, iar acțiunea terapeutică nu trebuie inițiată exclusiv pe baza rezultatului FISH.

Raportarea și interpretarea rezultatelor FISH trebuie să fie făcute de către personal calificat corespunzător, concordante cu standardele de practică profesională și trebuie să ia în considerare alte rezultate ale testelor relevante, informații clinice și diagnostice.

Acest dispozitiv este destinat numai pentru utilizare profesională de laborator.

Nerespectarea protocolului poate afecta performanța și poate duce la rezultate fals pozitive/negative.

Principiul testului

Hibridizarea fluorescență *in situ* (FISH) este o tehnică care permite detecția secvențelor de ADN pe cromozomii în metafază sau nucleii în interfază din probe citogenetice fixate. Această tehnică presupune utilizarea sondelor de ADN care se hibridizează la cromozomi întregi sau la secvențe unice separate și servește ca un important test complementar analizei citogenetice cu bandare G. Această tehnică poate fi aplicată în prezent ca instrument de investigație esențial în cadrul analizei cromozomiale prenatale, hematologice și a tumorilor solide. ADN-ul țintă, după

fixare și denaturare, este disponibil pentru aliniere la o sondă de ADN denaturată în mod similar și marcată fluorescent, care are o secvență complementară. După hibridizare, sonda de ADN nelegată și legată în mod nespecific este îndepărtată, iar ADN-ul este contracolorat pentru vizualizare. După aceea, microscopia de fluorescență permite vizualizarea sondei hibridizate pe materialul țintă.

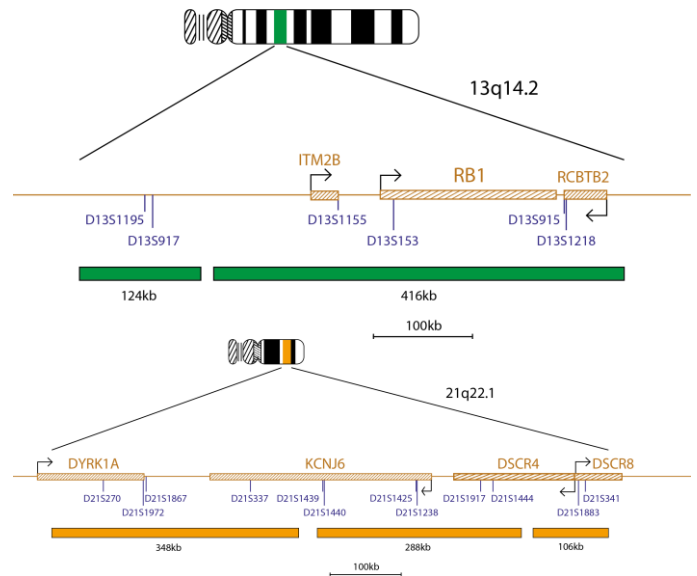
Informații privind sonda

Sindromul Down (SD) este o trisomie autosomală cauzată de prezența unei a treia copii (parțiale sau totale) a cromozomului 21 și se caracterizează prin dizabilitate intelectuală variabilă, hipotonie musculară și laxitate articulară, adesea asociată cu un dismorfism facial caracteristic și diverse anomalii, cum ar fi defecte cardiace, gastrointestinale, neurosenzoriale sau endocrine^{1,2}. SD este una dintre principalele cauze ale dizabilității intelectuale la nivel mondial, iar acești pacienți se confruntă, de asemenea, cu diverse probleme de sănătate, inclusiv probleme de învățare și memorie, boli cardiace congenitale (CHD), boala Alzheimer (AD), leucemie, cancer și boala Hirschsprung (HD)¹. SD are o complexitate genetică și o variabilitate fenotipică ridicată¹. La 16 săptămâni de gestație, incidența sarcinilor cu SD este de 1 la 1050 pentru mamele în vârstă de 20 de ani, 1 la 620 pentru mamele în vârstă de 30 de ani și 1 la 70 pentru mamele în vârstă de 40 de ani³. Sindromul Patau (SP) este o anomalie cromozomială cauzată de prezența unui cromozom 13 în plus și se caracterizează prin malformații cerebrale (holoprosencefalie), dismorfism facial, anomalii oculare, polidactilia postaxială, malformații viscerale (cardiopatie) și retard psihomotor sever². SP este asociat cu holoprosencefalie fenotipică și anomalii de fuziune a liniei mediane datorate fuziunii defectuoase a mezodermului precordial în stadiul embrionar⁴. La 16 săptămâni de gestație, incidența sarcinilor cu SP este de 1 la 11000 pentru mamele în vârstă de 20 de ani, 1 la 6500 pentru mamele în vârstă de 30 de ani și 1 la 700 pentru mamele în vârstă de 40 de ani³.

Specificații privind sonda

13 secvență unică, 13q14.2 Verde

21 secvență unică, 21q22.1 Portocalii



Setul de sonde verzi constă dintr-o sondă de 124 kb și o sondă de 416 kb, care include genele *ITM2B*, *RB1* și *RCBTB2*. Setul de sonde portocalii se atașează de o regiune pe 21q22.1 de la gena *DYRK1A* la gena *DSCR8*.

Materiale furnizate

Sonda: 50 µl per flacon (5 teste) sau 100 µl per flacon (10 teste).

Sondele sunt furnizate pre-amestecate în soluție de hibridizare (< 65% formamidă; < 20 mg dextran sulfat; < 10% de soluție salină - citrat de sodiu (SSC)) 20x și sunt gata de utilizare.

Contracolorant: 150 µl per flacon (15 teste)

Contracolorantul este DAPI Antifade ES (0,125µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol)) în mediu de montare pe bază de glicerol).

Atenționări și precauții

1. Pentru diagnosticare *in vitro*. Numai pentru utilizare profesională în laborator.
2. Amestecurile de sonde conțin formamidă, care este teratogen; nu inhalați vaporii și nu permiteți contactul cu pielea. Manevrați cu atenție; purtați mănuși și halat de laborator.
3. Manevrați DAPI cu atenție; purtați mănuși și halat de laborator.
4. Nu utilizați dacă flaconul/flacoanele este/sunt deteriorat/e sau conținutul flaconului este compromis în orice fel.
5. Respectați reglementările locale de eliminare pentru locația dvs., împreună cu recomandările din fișa cu date de securitate, pentru a determina modul sigur de eliminare a acestui produs. Acest lucru este valabil și pentru conținutul deteriorat al kitului de testare.
6. Eliminați toți reactivii utilizați și orice alte materiale de unică folosință contaminate în conformitate cu procedurile pentru deșeurile infecțioase sau potențial infecțioase. Este responsabilitatea fiecărui laborator să manipuleze deșeurile solide și lichide în funcție de natura și gradul lor de periculozitate și

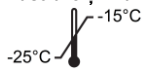
să le trateze și să le elimine (sau să dispună tratarea și eliminarea lor) în conformitate cu toate reglementările aplicabile.

- Operatorii trebuie să fie capabili să distingă culorile roșu, albastru și verde.
- Nerespectarea protocolului specificat, inclusiv a indicațiilor privind reactivii, poate afecta performanța și poate duce la rezultate fals pozitive/negative.
- Sonda nu trebuie diluată sau amestecată cu alte sonde.
- Neutilizarea a 10 μl de sondă la etapa de pre-denaturare a protocolului poate afecta performanța și poate duce la rezultate fals pozitive/negative.
- Toate produsele trebuie validate înainte de utilizare.
- Controalele interne trebuie efectuate prin utilizarea unor populații de celule neafectate în probele de testare.

Definiții pentru temperatură

- 20 °C / Congelat / În congelator: între -25 °C și -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Temperatura camerei (TC): între +15 °C și +25 °C

Păstrare și manevrare



Kitul trebuie păstrat la temperaturi cuprinse între -25 °C și -15 °C în congelator până la data de expirare indicată pe eticheta kitului. Flacoanele cu sondă și contracolorant trebuie păstrate la întuneric.



Sonda FISH, contracolorantul DAPI Antifade ES și soluția de hibridizare rămân stabile de-a lungul ciclurilor de congelare-decongelare prin care trec în timpul utilizării normale (unde un ciclu reprezintă scoaterea flaconului din congelator și repunerea acestuia în congelator) - 5 cicluri pentru flaconul de 50 μl (5 teste) de sondă FISH, 10 cicluri pentru flaconul de 100 μl (10 teste) de sondă FISH și 15 cicluri pentru flaconul de 150 μl (15 teste) de contracolorant. Expunerea la lumină trebuie să fie redusă la minimum și evitată ori de câte ori este posibil. Păstrați componentele în recipientul rezistent la lumină furnizat. Componentele utilizate și păstrate în alte condiții decât cele menționate pe etichetă pot să nu funcționeze conform așteptărilor și pot afecta negativ rezultatele analizei. Trebuie depuse toate eforturile pentru a limita expunerea la lumină și modificările de temperatură.

Echipamente și materiale necesare, dar neincluse în setul de livrare

Trebuie utilizate echipamente calibrate:

- Placă fierbinte (cu placă solidă și control precis al temperaturii până la 80 °C)
- Micropipete cu volum variabil, calibrate și vârfuri, în intervalul 1 μl - 200 μl
- Baie de apă cu control precis al temperaturii la 37 °C și 72 °C
- Eprubete de microcentrifugă (0,5 ml)
- Microscop de fluorescență (vă rugăm să consultați secțiunea Recomandare privind microscopul de fluorescență)
- Microscop în contrast de fază
- Vase Coplin din plastic, ceramică sau sticlă rezistentă la căldură, curate
- Pensă
- pH-metru calibrat (sau benzi indicatoare de pH capabile să măsoare valori ale pH-ului de 6,5 - 8,0)
- Recipient umidificat
- Ulei de imersie pentru lentile de microscop de grad de fluorescență
- Centrifugă pentru banc de lucru
- Lame de microscop
- Lamele de 24x24 mm
- Cronometru
- Incubator la 37 °C
- Adeziv din soluție de cauciuc
- Mixer vortex
- Cilindri gradați
- Agitator magnetic
- Termometru calibrat

Echipamente opționale, care nu sunt furnizate

- Cameră de uscare de citogenetică

Reactivi necesari, dar care nu sunt furnizați

- Soluție salină - citrat de sodiu (SSC - saline-sodium citrate) 20x
- Etanol 100%
- Tween-20
- Hidroxid de sodiu (NaOH) 1M
- Acid clorhidric (HCl) 1M
- Apă purificată

Recomandare privind microscopul de fluorescență

Utilizați o lampă cu mercur de 100 wați sau echivalent și obiective plane apocromate cu imersie în ulei de 60/63x sau 100x pentru vizualizare optimă. Fluoroforii utilizați în acest set de sonde vor fi excitați și vor emite la următoarele lungimi de undă:

Fluorofor	Excitația _{max} [nm]	Emisia _{max} [nm]
Verde	495	521
Portocaliu	551	572

Asigurați-vă de atașarea la microscop a unor filtre de excitație și emisie adecvate care acoperă lungimile de undă enumerate mai sus. Filtrul cu trei benzi de trecere DAPI/FITC/TRITC este optim pentru vizualizarea simultană a fluoroforilor verzi și portocalii, precum și a contracolorantului. Filtrul cu trei benzi de trecere

DAPI/FITC/Texas Red poate fi, de asemenea, utilizat pentru a vizualiza simultan atât fluoroforii, cât și DAPI.

Verificați microscopul de fluorescență înainte de utilizare, pentru a vă asigura că acesta funcționează corect. Utilizați ulei de imersie care este adecvat pentru microscopia de fluorescență și este formulat pentru autofluorescență redusă. Evitați amestecul agentului anti-diminuare a colorării DAPI cu uleiul de imersie pentru microscop, deoarece acest lucru ar estompa semnalele. Urmați recomandările producătorului cu privire la durata de viață a lămpii și vârsta filtrelor.

Prepararea probelor

Kitul este destinat pentru utilizare pe celule fixate în soluție Carnoy (metanol/acid acetic 3:1) obținute din probe de lichid amniotic, la enumerarea cromozomilor 13 și 21 în cazul sarcinilor cu risc înalt, unde se suspectează prezența sindromului Down sau Patau, care sunt preparate în conformitate cu ghidurile laboratorului sau instituției. Recoltarea probei de lichid amniotic trebuie efectuată în conformitate cu ghidurile laboratorului sau ale instituției. Probele cu aspect sângeros sau maroniu nu trebuie folosite, deoarece pot conține sânge matern și pot duce la rezultate false. Preparați probele uscate la aer pe lame de microscop în conformitate cu procedurile standard de citogenetică. *Manualul de laborator de analize citogenetice (Cytogenetics Laboratory Manual)* al AGT (Association of Genetic Technologists) conține recomandări pentru colectarea speciimenelor, cultura, recoltarea și crearea lamelor⁵.

Prepararea soluțiilor

Soluțiile de etanol

Diluati etanol 100% cu apă purificată prin utilizarea următoarelor proporții și amestecați temeinic:

- Etanol 70% - 7 părți etanol 100% la 3 părți apă purificată
- Etanol 85% - 8,5 părți etanol 100% la 1,5 părți apă purificată

Păstrați soluțiile timp de maximum 6 luni la temperatura camerei, într-un recipient ermetic.

Soluție SSC 2x

Diluati 1 parte soluție SSC 20x cu 9 părți apă purificată și amestecați temeinic. Verificați pH-ul și ajustați la pH de 7,0 prin utilizarea de NaOH sau HCl, după cum este necesar. Păstrați soluția timp de maximum 4 săptămâni la temperatura camerei într-un recipient ermetic.

Soluție SSC 0,4x

Diluati 1 parte soluție SSC 20x cu 49 părți apă purificată și amestecați temeinic. Verificați pH-ul și ajustați la pH de 7,0 prin utilizarea de NaOH sau HCl, după cum este necesar. Păstrați soluția timp de maximum 4 săptămâni la temperatura camerei într-un recipient ermetic.

Soluție SSC 2x, Tween-20 0,05%

Diluati 1 parte soluție SSC 20x cu 9 părți apă purificată. Adăugați 5 μl de Tween-20 per 10 ml și amestecați temeinic. Verificați pH-ul și ajustați la pH de 7,0 prin utilizarea de NaOH sau HCl, după cum este necesar. Păstrați soluția timp de maximum 4 săptămâni la temperatura camerei într-un recipient ermetic.

Pretratarea recomandată a lamelor⁵.

- Scufundați lama preparată cu celule fixate în metanol/acid acetic 3:1 obținute din probe de lichid amniotic în 2xSSC timp de 1 oră la 37°C.
- Plasați lama în soluție de lucru cu pepsină proaspăt preparată (5 mg de pepsină adăugată la 100 ml de HCl 0,01M) timp de 13 minute la 37°C.
- Imersați lama în soluție salină tamponată cu fosfat (PBS) la TC timp de 5 minute.
- Scufundați lama în soluție de postfixare (0,95% formaldehidă: 1,0 ml de formaldehidă 37%, 0,18 g de MgCl₂ și 39,0 ml de PBS) timp de 5 minute la TC.
- Imersați lama în PBS la TC timp de 5 minute.
- Imersați lama în etanol 70% la TC. Lăsați lama să stea în soluție de spălare cu etanol timp de 2 minute.
- Scoateți lama din soluția de etanol 70%. Repetați pasul 6 cu etanol 80%, urmat de etanol 100%.
- Lăsați să se usuce la aer.

Protocolul FISH

(Notă: Asigurați-vă de faptul că expunerea sondei și a contracolorantului la luminile din laborator este limitată în toate momentele temporale.)

Prepararea lamei (săriți acest pas dacă lamele au fost pretratate conform protocolului de mai sus)

- Depuneți punctiform proba de celule pe o lamă de microscop din sticlă. Lăsați să se usuce. (Opțional, dacă utilizați o cameră de uscare destinată analizelor citogenetice: Camera trebuie să funcționeze la aproximativ 25 °C și umiditate de 50% pentru depunerea punctiformă optimă a probei de celule. Dacă nu este disponibilă o cameră de uscare de citogenetică, utilizați ca alternativă o hotă.)
- Imersați lama în SSC 2x timp de 2 minute la temperatura camerei (RT - room temperature), fără agitare.
- Deshidratați în serii de etanol (70%, 85% și 100%), fiecare timp de 2 minute la RT.
- Lăsați să se usuce.

Pre-denaturarea

- Scoateți sonda din congelator și lăsați-o să se încălzească până la temperatura camerei. Centrifugați scurt eprubetele înainte de utilizare.
- Asigurați-vă de faptul că soluția de sondă este amestecată uniform, cu o pipetă.

7. Îndepărtați 10 µl de sondă per test și transferați într-o eprubetă de microcentrifugă. Puneți rapid la loc în congelator sonda rămasă.
8. Plasați sonda și lama cu probă pentru preîncălzire pe o placă fierbinte de 37 °C (+/- 1 °C) timp de 5 minute.
9. Depuneți punctiform 10 µl de amestec de sondă pe proba de celule și aplicați cu atenție o lamelă. Sigilați cu adeziv din soluție de cauciuc și lăsați adezivul să se usuce complet.

Denaturarea

10. Denaturați simultan proba și sonda prin încălzirea lamei pe o placă fierbinte la 75 °C (+/- 1 °C) timp de 2 minute.

Hibridizarea

11. Plasați lama într-un recipient umed, impermeabil pentru lumină, la 37 °C (+/- 1 °C) și lăsați-o să stea peste noapte.

Spălările post-hibridizare

12. Scoateți DAPI din congelator și lăsați să se încălzească la RT.
13. Îndepărtați cu atenție lamela și toate urmele de adeziv.
14. Imersați lama în SSC 0,4x (pH 7,0) la 72 °C (+/- 1 °C) timp de 2 minute fără agitare.
15. Lăsați lama să se scurgă și imersați-o în SSC x2, Tween-20 0,05% la RT (pH 7,0) timp de 30 secunde fără agitare.
16. Lăsați lama să se scurgă și aplicați 10 µl de agent anti-diminuare a colorării DAPI pe fiecare probă.
17. Acoperiți cu o lamelă, îndepărtați orice eventuale bule și lăsați culoarea să se dezvolte la întuneric timp de 10 minute.
18. Vizualizați cu un microscop de fluorescență (consultați **secțiunea Recomandare privind microscopul de fluorescență**).

Recomandări procedurale

1. Coacerea sau îmbătrânirea lamelor poate reduce semnalul de fluorescență.
2. Condițiile de hibridizare pot fi influențate în mod negativ de utilizarea unor reactivi diferiți de cei furnizați sau recomandați de Cytocell Ltd.
3. Utilizați un termometru calibrat pentru măsurarea temperaturilor soluțiilor, băilor de apă și incubatoarelor, deoarece aceste temperaturi sunt critice pentru performanța optimă a produsului.
4. Concentrațiile, pH-ul și temperaturile de spălare sunt importante, deoarece o strictețe redusă poate avea ca rezultat legarea nespecifică a sondei, iar o strictețe prea mare poate avea ca rezultat lipsa de semnal.
5. Denaturarea incompletă poate avea ca rezultat lipsa de semnal, iar denaturarea exagerată poate avea ca rezultat, de asemenea, legarea nespecifică.
6. Hibridizarea exagerată poate avea ca rezultat semnale suplimentare sau neașteptate.
7. Utilizatorii trebuie să optimizeze protocolul pentru propriile lor probe înainte de utilizarea testului în scopuri diagnostice.
8. Condițiile suboptimale pot avea ca rezultat legarea nespecifică, care poate fi interpretată eronat ca semnal al sondei.

Interpretarea rezultatelor

Evaluarea calității lamei

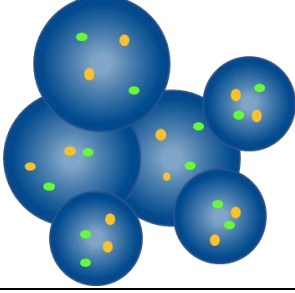
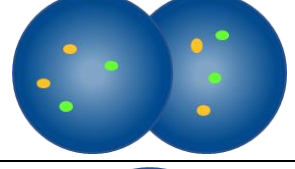
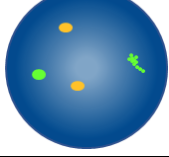
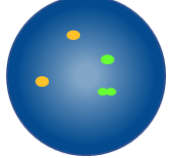
Lama nu trebuie analizată dacă:

- Semnalele sunt prea slabe pentru a fi analizate în filtre unice - pentru a continua analiza, semnalele trebuie să apară luminoase, distincte și ușor evaluabile
- Există un număr mare de celule agregate/suprapuse care obstrucționează analiza
- >50% dintre celule nu sunt hibridizate
- Există un exces de particule fluorescente între celule și/sau o ceață fluorescentă care interferează cu semnalele - în lamele optime, fundalul trebuie să apară întunecat sau negru și curat
- Marginile nucleilor celulelor nu pot fi distinse și nu sunt intacte

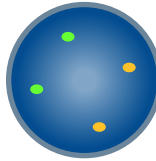
Linii directoare privind analiza

- Fiecare probă trebuie analizată și interpretată de doi analiști. Orice discrepanță trebuie rezolvată prin evaluarea de către un al treilea analist
- Fiecare analist trebuie să fie calificat adecvat în conformitate cu standardele recunoscute la nivel național
- Fiecare analist ar trebui să evalueze independent un număr suficient de nuclei din fiecare probă, astfel încât scorurile combinate ale analiștilor să îndeplinească criteriile minime specificate în ghidurile instituționale, regionale sau naționale. Primul analist trebuie să înceapă analiza din partea stângă a lamei, iar de-al doilea analist, din partea dreaptă.
- Fiecare analist trebuie să își documenteze rezultatele în fișe separate
- Analizați numai nucleii intacti, nu și pe cei suprapuși sau aglomerați sau nucleii acoperiți de resturi citoplasmice sau cu un grad ridicat de autofluorescență
- Evitați zonele în care există un exces de resturi citoplasmice sau hibridizare nespecifică
- Intensitatea semnalului poate varia, chiar și în cazul unui singur nucleu. În astfel de cazuri, utilizați filtre unice și/sau ajustați planul focal
- În condiții suboptimale, semnalele pot apărea difuze. Dacă două semnale de aceeași culoare se ating unul pe celălalt, sau dacă distanța dintre ele nu este mai mare decât două lățimi de semnal, sau atunci când există un fir slab care conectează cele două semnale, considerați ca un singur semnal
- La analizarea sondelor de separare în două culori, dacă există o breșă nu mai mare decât lățimea a 2 semnale între semnalele roșu și verde, considerați ca semnal fără rearanjament/fuziune
- La analizarea sondelor de separare în trei culori, dacă există o breșă nu mai mare decât lățimea a 2 semnale între oricare dintre cele 3 semnale (roșu, verde, albastru) considerați ca semnal fără rearanjament/fuziune

- Dacă aveți orice dubii cu privire la caracterul analizabil al unei celule, nu o analizați

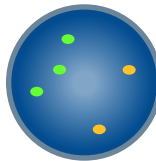
Linii directoare privind analiza	
	Nu se analizează — nucleele se află prea aproape unele de celelalte pentru a le putea determina hotarele
	Nucleele suprapuse nu se analizează — nu sunt vizibile toate zonele celor două nuclee
	Considerați ca două semnale portocalii și două semnale verzi – unul dintre cele două semnale verzi este difuz
	Considerați ca două semnale portocalii și două semnale verzi — breșa din unul dintre semnalele verzi este mai mică decât lățimea a două semnale

Tiparul de semnale normal așteptat

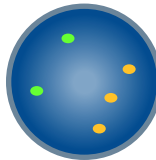


Într-o celulă normală se așteaptă detectarea a două semnale verzi și două semnale portocalii (2V2P).

Tiparul (tiparele) de semnale anormal(e) așteptat(e)



Într-o celulă cu trisomie 13, modelul așteptat de semnale este: trei semnale verzi și două semnale portocalii (3V2P).



Într-o celulă cu trisomie 21, modelul așteptat de semnale este: două semnale verzi și trei semnale portocalii (2V3P).

În specimene cu aneuploidie/neechilibrate sunt posibile și alte modele de semnale.

Interferențe/Substanțe interferente cunoscute relevante

Nu se cunosc interferențe/substanțe interferente relevante.

Reactivitate încrucișată cunoscută

Nu este cunoscută nicio reactivitate încrucișată.

Raportarea incidentelor grave

Pentru un pacient/utilizator/terț din Uniunea Europeană și din țările cu un regim de reglementare identic (Regulamentul (UE) 2017/746 privind dispozitivele medicale

de diagnostic *in vitro*); dacă, în timpul utilizării acestui dispozitiv sau ca urmare a utilizării acestuia, a avut loc un incident grav, vă rugăm să îl raportați producătorului și autorității naționale competente din țara dvs.

Pentru incidente grave în alte țări, vă rugăm să le raportați producătorului și, dacă este cazul, autorității naționale competente din țara dvs.

Punct de contact de vigență al producătorului: vigilance@ogt.com

Pentru autoritățile naționale competente din UE, o listă de puncte de contact de vigență se găsește la:

https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Caracteristici de performanță specifice

Specificitatea analitică

Specificitatea analitică este definită ca procentul de semnale care se hibridizează la locusul corect și nu în altă locație. Au fost analizate patru locusuri cromozomiale în fiecare dintre 20 de celule în metafază din cinci probe, rezultând 400 puncte de date. Locația fiecărei sonde hibridizate a fost mapată și a fost înregistrat numărul de semnale FISH de cromozomi în metafază care s-au hibridizat în locusul corect.

Specificitatea analitică a fiecărei sonde din kit a fost calculată ca numărul de semnale FISH de cromozomi în metafază hibridizați la locusul corect împărțit la numărul total de semnale FISH de cromozomi în metafază hibridizați; acest rezultat a fost înmulțit cu 100, a fost exprimat ca procent și i-a fost atribuit un interval de încredere de 95%.

Tabelul 1. Specificitatea analitică a Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Ținta	Numărul de cromozomi în metafază hibridizați	Numărul de locusuri cu hibridizare corectă	Specificitatea analitică	Interval de încredere de 95%
21q22.1	200	200	100%	98,12% - 100%
13q14.2	200	200	100%	98,12% - 100%

Sensibilitatea analitică

Sensibilitatea analitică este procentul de celule de interfază cărora li se poate atribui un scor cu tiparul de semnale normal așteptat. A fost analizat un minim de 50 celule în interfază pentru fiecare 25 de suspensii de celule fixate provenite din probe de lichid amniotic de la subiecți de sex masculin și feminin normali din punct de vedere cariotipic, care au fost confirmați ca având un complement normal de cromozomi 13 și 21 prin FISH și cariotipare, rezultând un minim de 1250 de nuclei cărora li s-a atribuit un scor pentru fiecare tip de probă. Datele privind sensibilitatea au fost analizate pe baza procentului de celule care prezintă un model așteptat de semnale normal și au fost exprimate ca procent cu un interval de încredere de 95%.

Tabelul 2. Sensibilitatea analitică a Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Tip de probă	Criterii de sensibilitate	Rezultat de sensibilitate
Lichid amniotic	>95%	96,24% (94,84-97,64%)

Caracterizarea valorilor limită de normalitate

Valoarea normală de referință este definită ca procentul de celule care prezintă un model de semnale fals pozitive la care o persoană ar fi considerată normală și care nu este concordant cu un diagnostic clinic. A fost analizat un minim de 50 celule în interfază pentru fiecare 25 de suspensii de celule fixate provenite din probe de lichid amniotic de la subiecți de sex masculin și feminin normali din punct de vedere cariotipic, care au fost confirmați ca având un complement normal de cromozomi 13 și 21 prin FISH și cariotipare, rezultând un minim de 1250 de nuclei cărora li s-a atribuit un scor pentru fiecare tip de probă.

Valoarea normală de referință a fost determinată prin utilizarea funcției β -inversă (BETAINV) din MS Excel. Aceasta a fost calculată ca procentul de celule în interfază care prezintă un model de semnale fals pozitive prin utilizarea limitei superioare a unui interval de încredere de 95% unilateral al distribuției binomiale într-o probă de la un pacient normal.

Tabelul 3. Caracterizarea valorilor limită de normalitate ale Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Tip de probă	Rezultat de referință
Lichid amniotic	8,97%

Laboratoarele trebuie să verifice valorile de referință în baza propriilor date și în conformitate cu orice ghiduri de bună practică instituționale, regionale sau profesionale care s-ar putea aplica în cadrul mediului lor de diagnostic^{6,7}.

Precizia

Precizia acestui produs a fost măsurată în termeni de precizie în cadrul aceleiași zile (între probe), precizie între zile diferite (între zile) și precizie între loturi diferite în cadrul aceleiași centru (între loturi).

Pentru evaluarea preciziei produsului au fost utilizate trei (3) probe: una de lichid amniotic normal, una de lichid amniotic slab pozitivă pentru trisomie 13 (3V2P) și una de lichid amniotic slab pozitivă pentru trisomie 21 (2V3P). Probele de lichid amniotic slab pozitive au fost obținute prin utilizarea unei proporții de probe de lichid amniotic normal și însămânțarea acestuia cu o probă de lichid amniotic cunoscută ca pozitivă, cu scopul de a crea probe slab pozitive în intervalul 2-4x față de referință.

Pentru a stabili precizia între zile diferite și în cadrul aceleiași zile, probele au fost evaluate la 10 date care nu au fost consecutive, iar pentru a stabili precizia între

loturi, au fost evaluate trei (3) loturi de produs pe trei (3) replicare ale aceluiași probe. Rezultatele au fost prezentate ca fiind concordanța globală cu clasa negativă prezisă (pentru probele negative).

Tabelul 4. Reproducibilitatea și precizia Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Variabilă	Tip de probă	Concordanța
Precizia între zile diferite și în cadrul aceleiași zile	Lichid amniotic Negativ	100%
	Lichid amniotic Slab pozitiv Trisomie 13 (3V2P)	100%
	Lichid amniotic Slab pozitiv Trisomie 21 (2V3P)	96,7%
Precizia între loturi	Lichid amniotic Negativ	88,9%
	Lichid amniotic Slab pozitiv Trisomie 13 (3V2P)	100%
	Lichid amniotic Slab pozitiv Trisomie 21 (2V3P)	100%

Performanța clinică

Pentru a asigura faptul că produsul detectează rearanjamentele de destinație, performanța clinică a fost stabilită în cadrul a trei studii efectuate pe probe reprezentative ale populației de destinație pentru produs: Material rezidual fixat în metanol / acid acetic 3:1 din probe de lichid amniotic prenatal. Dimensiunea eșantionului pentru studiu a fost de 172 de specimene, cu o populație de 15 specimene pozitive la trisomia 13 și 157 de specimene negative la trisomia 13 și un total de 109 specimene pozitive la trisomia 21 și 63 de specimene negative la trisomia 21. Rezultatele au fost comparate cu statutul cunoscut al probei. Sonda a identificat corect statutul probelor în toate cazurile.

Rezultatele acestor teste au fost analizate pentru a furniza valorile privind sensibilitatea clinică, specificitatea clinică și rata de rezultate fals pozitive (FPR, false positive rate) pentru semnalele pozitive, prin utilizarea unei abordări unidimensionale.

Tabelul 5. Performanța clinică a Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Variabilă	Rezultat
Sensibilitate clinică (rata de rezultate adevărat pozitive - TPR, true positive rate)	100,0%
Specificitate clinică (rata de rezultate adevărat negative - TNR, true negative rate)	100,0%
Rata de rezultate fals pozitive (FPR, false positive rate) = 1 - specificitatea	0,00%

Rezumatul de siguranță și performanță (SSP)

SSP trebuie să fie pus la dispoziția publicului prin Baza de date europeană a dispozitivelor medicale (Eudamed), unde este pus în legătură cu UDI-DI de bază. URL Eudamed: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>
UDI-DI de bază: 50558449LPA003GL

Dacă Eudamed nu este complet funcțională, SSP trebuie să fie pus la dispoziția publicului, la cerere, prin solicitare la adresa SSP@ogt.com.

Informații suplimentare

Pentru informații suplimentare referitoare la produs, vă rugăm să contactați departamentul de asistență tehnică CytoCell.

Tel: +44 (0)1223 294048

E: techsupport@cytozell.com















Internet: www.ogt.com

Referințe

- Asim A, Kumar A et al. Down syndrome an insight of the Disease. Journal of Biomedical Science, 2015;22(41):1-9
<https://www.orpha.net/>
- Gardner, R. and Amor, D. Gardner and Sutherland's Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling. 5th ed: OUP USA, 2018
- Noriega MA, Siddik AB. s.l. Trisomy 13 : StatPearls[Internet], Treasure Island[FL], updated 2021.
- Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
- Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16-23.

Glosarul simbolurilor

**EN ISO 15223-1:2021 - „Dispozitive medicale - Simboluri care trebuie utilizate împreună cu informațiile care trebuie furnizate de către producător - Partea 1: Cerințe generale”
(© Organizația Internațională pentru Standardizare)**

Simbol	Titlu	Număr/numere de referință
	ro: Producător	5.1.1
	ro: Reprezentant autorizat pentru Comunitatea Europeană/Uniunea Europeană	5.1.2
	ro: Data de expirare	5.1.4
	ro: Seria de fabricație	5.1.5
	ro: Număr de catalog	5.1.6
	ro: A se feri de lumina solară	5.3.2
	ro: Limită de temperatură	5.3.7
	ro: Consultați instrucțiunile de utilizare	5.4.3
	ro: Consultați instrucțiunile de utilizare electronice	5.4.3
	ro: Precauție	5.4.4
	ro: Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro	5.5.1
	ro: Conține o cantitate suficientă pentru <n> teste	5.5.5
	ro: Identificator unic al dispozitivului	5.7.10
Simboluri EDMA pentru reactivi și componente IVD, revizie octombrie 2009		
Simbol	Titlu	Număr/numere de referință
	ro: Conținut (sau conținuturi)	Nu este cazul

Brevete și mărci comerciale

Cytocell este marcă comercială înregistrată a Cytocell Ltd.



Cytocell Limited

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

Tel: +44 (0)1223 294048

Fax: +44 (0)1223 294986

E: probes@cytocell.com

W: www.ogt.com



Sysmex Europe SE

Bornbarch 1
22848 Norderstedt
GERMANIA

Tel: +49 40 527260

W: www.sysmex-europe.com

Istoricul versiunilor IFU

V001.00 2023-01-11: Noi IFU pentru Regulamentul (UE) 2017/746.