



A Sysmex Group Company



Návod k použití (IFU)

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

## Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit



POUZE K PROFESIONÁLNÍMU POUŽITÍ



Další informace a více jazyků k dispozici na [ogt.com/IFU](http://ogt.com/IFU)

### Zamýšlený účel

Sada CytoCell® Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit je kvalitativní, neautomatizovaný, fluorescenční *in situ* hybridizační test (FISH) používaný k detekci oblasti chromozomu 13q14.2 a oblasti chromozomu 21q22.1 v buňkách fixovaných Carnoyovým roztokem (3 : 1 metanol / kyselina octová) získaných ze vzorků plodové vody při enumeraci chromozomů 13 a 21 u vysoce rizikových těhotenství s podezřením na Downův nebo Patauův syndrom.

### Indikace k použití

Tento produkt byl vytvořen jako doplněk k dalším klinickým a laboratorním testům v rámci uznávaných diagnostických postupů a postupů klinické péče, jako je vyšetření ultrazvukem nebo biochemické testy, a to v případech, kde by znalost stavu počtu kopií oblasti chromozomu 13q14.2 a oblasti chromozomu 21q22.1 byla důležitá pro léčbu pacientky.

### Omezení

Tento prostředek je navržen tak, aby detekoval chromozomální materiál, který zahrnuje oblasti chromozomu 13q14.2 a chromozomu 21q22.1, které jsou pokryty zelenými a oranžovými kopiemi v této sadě sond. Genomové zisky nebo ztráty mimo tyto oblasti nebo částečné ztráty nebo zisky těchto oblastí nemusí být tímto prostředkem detekovány.

Tento prostředek není určen k použití v rámci samostatné diagnostiky, doprovodné diagnostiky, skrínungu populace, testování přímo u pacientů nebo provádění autotestování a nebyl validován pro typy vzorků, chorob nebo účely jiné, než ty, které jsou uvedeny v zamýšleném účelu.

Tento prostředek je koncipován jako doplněk dalších diagnostických laboratorních testů. Terapeutické postupy nesmí být zahajovány pouze na základě výsledků testů FISH.

Hlášení a interpretace výsledků FISH musejí být prováděny kvalifikovanými pracovníky v souladu s profesionálními standardy praxe a měly by zohledňovat další relevantní výsledky testů, a také klinické a diagnostické informace.

Tento prostředek je určen pouze k laboratornímu profesionálnímu použití.

Nedodržení protokolu může ovlivnit funkci a vést k falešně pozitivním/negativním výsledkům.

### Principy testu

Fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) je technika umožňující detekovat sekvence DNA na metafázových chromozomech nebo v interfázních jádrech z fixovaných cytogenetických vzorků. Tato technika využívá sondy DNA, které hybridizují na celé chromozomy nebo na jednotlivé jedinečné sekvence, a slouží jako důležitý doplněk cytogenetické analýzy pomocí G-pruhování. Tuto techniku je nyní možno aplikovat jako základní vyšetřovací nástroj při prenatalním a hematologickém vyšetření a při chromozomální analýze solidního tumoru. Po fixování a denaturaci je cílová DNA k dispozici pro reasociaci na podobně denaturovanou, fluorescenčně označenou sondu DNA, která má komplementární sekvenci. Po hybridizaci se nevázaná a nespecificky vázaná DNA sonda odstraní

a DNA se barevně označí pro účely vizualizace. Fluorescenční mikroskopie potom umožňuje vizualizaci hybridizované sondy na cílovém materiálu.

### Informace o sondě

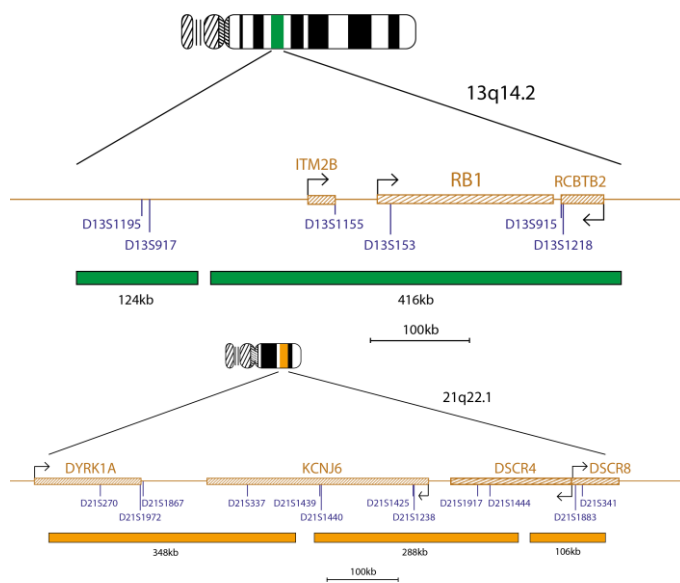
Downův syndrom (DS) je autozomální trizomie, která je způsobena přítomností třetí (částečné nebo úplné) kopie chromozomu 21 a je charakterizována variabilním mentálním postižením, svalovou hypotonií a ochablostí kloubů, často spojenou s charakteristickým obličejovým dysmorfismem a různými anomáliemi, jako jsou srdeční, gastrointestinální, neurosenzorické nebo endokrinní defekty<sup>1,2</sup>. DS je celosvětově jednou z hlavních příčin mentálního postižení a tyto pacienti se také potýkají s různými zdravotními problémy, včetně problémů s učením a pamětí, vrozených srdečních vad (VSV), Alzheimerovy choroby (ACH), leukémie, rakoviny a Hirschsprungovy choroby (HD)<sup>1</sup>. DS se vyznačuje vysokou genetickou komplexností a fenotypovou variabilitou<sup>1</sup>. V 16. týdnu těhotenství je výskyt těhotenství s DS 1 z 1 050 u matek ve věku 20 let, 1 z 620 u matek ve věku 30 let a 1 ze 70 u matek ve věku 40 let<sup>3</sup>.

Patauův syndrom (PS) je chromozomální anomálie způsobená přítomností třetího chromozomu 13 a je charakterizována malformacemi mozku (holoprosencefalie), obličejovým dysmorfismem, očními anomáliemi, postaxiální polydaktylií, viscerálními malformacemi (kardiopatie) a těžkou psychomotorickou retardací<sup>2</sup>. PS je spojen s fenotypovou holoprosencefalií a abnormalitami úzce střední linie v důsledku defektní úzce prechordálního mezodermy v embryonálním stádiu<sup>4</sup>. V 16. týdnu těhotenství je výskyt těhotenství s PS 1 z 11 000 u matek ve věku 20 let, 1 z 6 500 u matek ve věku 30 let a 1 ze 700 u matek ve věku 40 let<sup>3</sup>.

### Parametry sondy

13 unikátní sekvence, 13q14.2 zelená

21 unikátní sekvence, 21q22.1 oranžová



Mix zelených sond obsahuje sondu o délce 124 kb a sondu o délce 416 kb, která zahrnuje geny *ITM2B*, *RB1* a *RCBTB2*. Mix oranžových sond pokrývá oblast na 21q22.1 od genu *DYRK1A* až ke genu *DSCR8*.

### Dodaný materiál

**Sonda:** 50 µl v jedné lahvičce (5 testů) nebo 100 µl v jedné lahvičce (10 testů).

Sondy jsou dodávány předem smíchané v hybridizačním roztoku (<65 % formamid; <20 mg dextran sulfátu; <10 % 20x solného roztoku citrátů sodného (SSC)) a jsou připraveny k použití.

**Kontrastní barvivo:** 150 µl v jedné lahvičce (15 testů)

Kontrastním barvivem je DAPI Antifade ES (0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenylinol) v montážním médiu na bázi glycerolu).

### Varování a bezpečnostní pokyny


- Pro diagnostické použití *in vitro*. Výhradně k laboratornímu profesionálnímu použití.
- Směsi v sondách obsahují formamid, což je teratogen; nevdechujte výpary a zamezte kontaktu s pokožkou. Zacházejte s ním opatrně; noste rukavice a laboratorní plášť.
- Zacházejte s DAPI opatrně; noste rukavice a laboratorní plášť.
- Nepoužívejte, pokud jsou lahvičky poškozeny nebo je obsah lahvičky jakkoli znehodnocen.
- Při výběru bezpečné likvidace tohoto produktu se řiďte místními předpisy pro likvidaci ve vaší lokalitě spolu s doporučeními uvedenými v bezpečnostním listu. To platí i pro poškozený obsah testovací sady.
- Všechny použité reagenty a další kontaminované materiály na jedno použití zlikvidujte podle postupů pro infekční nebo potenciálně infekční odpad. Každá laboratoř je odpovědná za nakládání s pevným a kapalným odpadem podle jeho povahy a stupně nebezpečnosti a za jeho zpracování a likvidaci (nebo za zajištění jeho zpracování a likvidace) v souladu s platnými předpisy.
- Pracovníci musí být schopni rozlišit červenou, modrou a zelenou barvu.
- Nedodržení předepsaného protokolu a reagentů může ovlivnit funkci a vést k falešně pozitivním/negativním výsledkům.

- Sonda se nesmí ředit ani míchat s jinými sondami.
- Není-li během kroku predenaturace v rámci protokolu použito 10 µl sondy, může to ovlivnit funkci a vést k falešně pozitivním/negativním výsledkům.
- Všechny produkty by měly být před použitím validovány.
- Interní kontroly by měly být prováděny pomocí nedotčených buněčných populací v testovacích vzorcích.

#### Definice teploty

- 20 °C / zmražené / v mrazničce: -25 °C až -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Pokojevá teplota (RT): +15 °C až +25 °C

#### Uchovávání a manipulace

 Sadu je třeba uchovávat v mrazničce při teplotách -25 °C až -15 °C až do data expirace, uvedeného na štítku sady. Sonda a lahvičky s kontrastními barvivy musí být uloženy v temnu.



Sonda FISH, kontrastní barvivo DAPI Antifade ES a hybridizační roztok zůstávají při běžném používání stabilní po celou dobu cyklů zmrazování a rozmrazování (přičemž jeden cyklus představuje vyjmutí lahvičky z mrazničky a její vložení zpět) – 5 cyklů pro 50 µl (5 testů) lahvičku sondy FISH, 10 cyklů pro 100 µl (10 testů) lahvičku sondy FISH a 15 cyklů pro 150 µl (15 testů) lahvičku kontrastního barviva. Je třeba minimalizovat vystavení světlu a pokud možno se mu zcela vyhnout. Složky skladujte v dodané nádobě odolné vůči působení světla. Složky použité a skladované za jiných podmínek, než jaké jsou uvedeny na etiketě, nemusí fungovat podle očekávání a mohou nepříznivě ovlivnit výsledky testu. Je třeba vynaložit veškeré úsilí na omezení expozice světlu a teplotním změnám.

#### Potřebné vybavení a materiál, které nejsou součástí dodávky

Je nutné používat kalibrovaná zařízení:

- Varná deska (s pevnou plotnou a přesným ovládním teploty do 80 °C)
- Kalibrované mikropipety s různým objemem a špičkami v rozsahu od 1 µl do 200 µl
- Vodní lázeň s přesným ovládním teploty od 37 °C do 72 °C
- Mikrocentrifugační zkumavky (0,5 ml)
- Fluorescenční mikroskop (viz oddíl Doporučení ohledně fluorescenčního mikroskopu)
- Mikroskop s fázovým kontrastem
- Čisté plastové, keramické nebo skleněné (z ohnivzdorného skla) lahvičky typu „ocplin“
- Chirurgické kleště
- Kalibrovaný pH metr (nebo pH indikační proužky schopné měřit pH v rozmezí 6,5–8,0)
- Vlhčená nádoba
- Imerzní olej na objektiv fluorescenčního mikroskopu
- Stolní odstředivka
- Mikroskopová sklička
- Krycí sklička 24 × 24 mm
- Stopky
- Inkubátor 37 °C
- Lepidlo na bázi kaučukového roztoku
- Vířivý mixér
- Odměrné válce
- Magnetická míchačka
- Kalibrovaný teploměr

#### Volitelné vybavení, které není součástí dodávky

- Cyto genetická sušicí komora

#### Potřebné reagenty, které nejsou součástí dodávky

- 20x fyziologický roztok citrátu sodného (SSC)
- 100 % etanol
- Tween-20
- 1M hydroxid sodný (NaOH)
- 1M kyselina chlorovodíková (HCl)
- Demineralizovaná voda

#### Doporučení ohledně fluorescenčního mikroskopu

Pro optimální vizualizaci použijte 100wattovou rtuťovou lampu nebo její ekvivalent a apochromatické objektivy 60/63x nebo 100x s imerzním olejem. Fluorofory použité v této sadě sondy budou excitovat a emitovat při následujících vlnových délkách:

Fluorofor	Excitace <sub>max</sub> [nm]	Emise <sub>max</sub> [nm]
Zelená	495	521
Oranžová	551	572

Zajistěte, aby byl mikroskop vybaven příslušnými excitačními a emisními filtry, které pokrývají výše uvedené vlnové délky. Třípásmový filtr DAPI/FITC/TRITC je optimální pro současné sledování zelených a oranžových fluoroforů i kontrastního barviva. Třípásmový filtr DAPI/FITC/Texas Red lze také použít k současnému sledování obou fluoroforů a DAPI.

Před použitím zkontrolujte správnou funkci fluorescenčního mikroskopu. Použijte imerzní olej vhodný pro fluorescenční mikroskopy připravený pro nízkou autofluorescenci. Dbejte na to, aby nedošlo ke smíchání barviva DAPI antifade

s imerzním olejem do mikroskopu, protože by tak došlo k zastření signálů. Dodržujte doporučení výrobce týkající se životnosti lampy a stáří filtrů.

#### Příprava vzorků

Tato sada je určena k použití s buňkami fixovanými Carnoyovým roztokem (3 : 1 metanol / kyselina octová), získanými ze vzorků plodové vody při enumeraci chromozomů 13 a 21 u vysoce rizikových těhotenství s podezřením na Downův nebo Patauův syndrom, které jsou připraveny v souladu s pokyny laboratoře nebo zdravotnického zařízení. Odběr vzorků plodové vody by měl být prováděn v souladu s pokyny laboratoře nebo zdravotnického zařízení. Vzorky, které jsou na pohled krvavé nebo hnědé, by se neměly používat, protože mohou obsahovat krev matky a mohou vést k falešným výsledkům. Na mikroskopová sklička naneste vzorky usušené na vzduchu v souladu se standardními cytogenetickými postupy. *Cytogenetics Laboratory Manual AGT* (Příručka pro cytogenetické laboratoře) obsahuje doporučení pro odběr, kultivaci a získávání vzorků a pro přípravu sklíček<sup>5</sup>.

#### Příprava roztoků

##### Etanolové roztoky

Rozředte 100 % etanol demineralizovanou vodou v následujících poměrech a řádně promíchejte:

- 70 % etanol – 7 dílů 100 % etanolu na 3 díly demineralizované vody
- 85 % etanol – 8,5 dílů 100 % etanolu na 1,5 díly demineralizované vody

Roztoky skladujte až 6 měsíců při pokojové teplotě ve vzduchotěsné nádobě.

##### Roztok 2xSSC

Zředte 1 díl roztoku 20xSSC 9 díly demineralizované vody a řádně promíchejte. Zkontrolujte pH a pomocí NaOH nebo HCl podle potřeby upravte na pH 7,0. Roztok skladujte ve vzduchotěsné nádobě při pokojové teplotě po dobu až 4 týdnů.

##### Roztok 0,4xSSC

Zředte 1 díl roztoku 20xSSC 49 díly demineralizované vody a řádně promíchejte. Zkontrolujte pH a pomocí NaOH nebo HCl podle potřeby upravte na pH 7,0. Roztok skladujte ve vzduchotěsné nádobě při pokojové teplotě po dobu až 4 týdnů.

##### Roztok 2xSSC, 0,05 % roztok Tween-20

Zředte 1 díl roztoku 20xSSC 9 díly demineralizované vody. Na 10 ml přidejte 5 µl roztoku Tween-20 a řádně promíchejte. Zkontrolujte pH a pomocí NaOH nebo HCl podle potřeby upravte na pH 7,0. Roztok skladujte ve vzduchotěsné nádobě při pokojové teplotě po dobu až 4 týdnů.

#### Doporučená předúprava sklíček<sup>5</sup>.

- Sklíčko připravené z buněk fixovaných metanolem / kyselinou octovou v poměru 3 : 1 a získaných ze vzorků plodové vody ponořte na 1 hodinu do 2xSSC při 37 °C.
- Vložte sklíčko do čerstvě připraveného pracovního roztoku pepsinu (5 mg pepsinu přidaného do 100 ml 0,01M HCl) na 13 minut při 37 °C.
- Ponořte sklíčko do solného roztoku fosfátového pufru (PBS) na 5 minut při pokojové teplotě.
- Ponořte sklíčko do postfixačního roztoku (0,95 % formaldehyd: 1,0 ml 37 % formaldehydu, 0,18 g MgCl<sub>2</sub> a 39,0 ml PBS) na 5 minut při pokojové teplotě.
- Ponořte sklíčko do PBS na 5 minut při pokojové teplotě.
- Ponořte sklíčko do 70 % ethanolu při pokojové teplotě. Nechte sklíčko stát v ethanolové lázni po dobu 2 minut.
- Vyjměte sklíčko ze 70 % ethanolu. Opakujte krok 6 s 80 % ethanolem a následně se 100 % ethanolem.
- Nechte jej na vzduchu oschnout.

#### Protokol FISH

(Poznámka: Dbejte na to, aby vždy byla omezena expozice sondy a kontrastních barviv vůči osvětlení v laboratoři).

#### Příprava sklíček (tento krok přeskočte, pokud bylo sklíčko předupraveno podle výše uvedeného protokolu)

- Naneste buněčný vzorek na mikroskopové sklíčko. Nechte ho uschnout. (Volitelně při použití cyto genetické sušicí komory: K optimálnímu nanesení buněčných vzorků by měla komora pracovat při teplotě přibližně 25 °C a 50 % vlhkosti. Pokud cyto genetickou sušicí komoru nemáte, použijte jako alternativu digestoř.)
- Sklíčko ponořte na 2 minuty do roztoku 2xSSC při pokojové teplotě. Neprotřepávejte.
- Dehydratujte pomocí etanolové série (70 %, 85 % a 100 %), vždy po dobu 2 minut při pokojové teplotě.
- Nechte ho uschnout.

#### Predenaturace

- Vyjměte sondu z mrazničky a nechejte ji zahřát na pokojovou teplotu. Laboratorní lahvičky před použitím krátce odstředte.
- Dbejte, aby byl roztok sondy rovnoměrně promíchán pipetou.
- Na každý test odeberte 10 µl sondy a přeneste ji do mikrocentrifugační zkumavky. Zbytek sondy vraťte rychle do mrazničky.
- Sondu a sklíčko se vzorkem umístěte na varnou desku a předehejte po dobu 5 minut při teplotě 37 °C (+/- 1 °C).
- Kápněte 10 µl směsi sondy na buněčný vzorek a opatrně jej překryjte krycím sklíčkem. Neprodyšně uzavřete pomocí lepidla na bázi kaučukového roztoku a nechejte lepidlo úplně uschnout.

#### Denaturace

- Zahříváním sklíčka na varné desce po dobu 2 minut při teplotě 75 °C (+/- 1 °C) vzorek a sondu souběžně denaturujte.

### Hybridizace

11. Sklíčko uložte na noc do vlhké neprůsvitné nádoby při teplotě 37 °C (+/- 1 °C).

### Post-hybridizační vymývání

12. Vypalování DAPI z mrazničky a nechejte ho zahřát na pokojovou teplotu.
13. Opatrně sejměte krycí sklíčko a odstraňte všechny zbytky lepidla.
14. Sklíčko ponořte na 2 minuty do roztoku 0,4×SSC (pH 7,0) při teplotě 72 °C (+/- 1 °C). Neprotřepávejte.
15. Sklíčko osušte a na 30 sekund ponořte do roztoku 2×SSC, 0,05 % Tween-20 při pokojové teplotě (pH 7,0). Neprotřepávejte.
16. Sklíčko osušte a na každý vzorek naneste 10 µl DAPI antifade.
17. Přikryjte krycím sklíčkem, odstraňte veškeré bubliny, uložte do temna a po dobu 10 minut nechejte vyvíjet barvu.
18. Zkontrolujte pomocí fluorescenčního mikroskopu (viz **Doporučení ohledně fluorescenčního mikroskopu**).

### Doporučení pro zpracování

1. Vypalování nebo stárnutí sklíček může redukovat fluorescenční signál.
2. Podmínky hybridizace mohou být nepříznivě ovlivněny použitím reagentů, které nedodává nebo nedoporučuje společnost Cytocell Ltd.
3. K měření teplot roztoků, vodních lázní a inkubátorů používejte kalibrovaný teploměr, protože tyto teploty jsou velmi důležité k zajištění optimální funkce produktu.
4. Koncentrace promývacího roztoku, pH a teplota jsou důležité, protože nedostatečná důslednost může vést k nespecifickému vázání sondy a přílišná důslednost naopak k nedostatečnému signálu.
5. Neúplná denaturace může vést k nedostatečnému signálu a příliš dlouhá denaturace může rovněž způsobit nespecifické vázání.
6. Nadměrná hybridizace může vést k dodatečným nebo neočekávaným signálům.
7. Uživatelé musejí před použitím testu pro diagnostické účely optimalizovat protokol pro své vlastní vzorky.
8. Neoptimální podmínky mohou vést k nespecifickému vázání, které může být nesprávně interpretováno jako signál sondy.

### Interpretace výsledků

#### Vyhodnocení kvality sklíčka

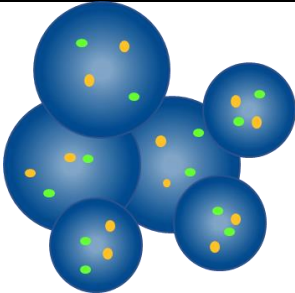
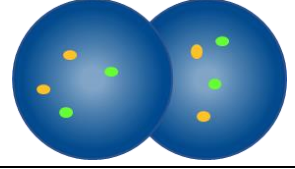
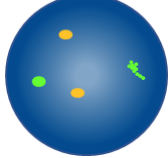
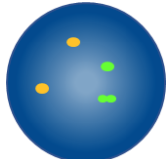
Sklíčko by se nemělo analyzovat, jestliže:

- jsou signály příliš slabé a nelze je proto analyzovat jednoduchými filtry – pro pokračování v analýze musejí být signály jasné, výrazné a snadno hodnotitelné;
- analýze brání velký počet shluků buněk nebo překrývajících se buněk;
- nebylo hybridizováno >50 % buněk;
- mezi buňkami se nachází příliš mnoho fluorescenčních částic a/nebo fluorescenčního zákalu, který ruší signály – u optimálních sklíček by mělo být pozadí tmavé nebo černé a čiré;
- není možné rozlišit hranice buněčných jader a hranice nejsou nepoškozené.

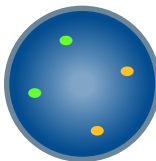
### Pokyny pro analýzu

- Každý vzorek musí analyzovat a vyhodnotit dva analytici. Jakékoliv nesrovnalosti se musí vyřešit hodnocením třetího analytika.
- Všichni analytici musí mít odpovídající kvalifikaci v souladu s uznávanými národními standardy.
- Každý analytik by měl nezávisle vyhodnotit dostatečný počet jader z každého vzorku tak, aby kombinované výsledky analytiků splňovaly minimální kritéria stanovená regionálními nebo národními pokyny nebo pokyny zdravotnického zařízení. První analytik musí začít provádět analýzu z levé strany sklíčka a druhý analytik z pravé strany.
- Každý analytik musí zdokumentovat své výsledky na samostatných listech.
- Analyzujte pouze nepoškozená jádra, nikoli překrývající se nebo nahromaděná jádra ani jádra překrytá cytoplazmatickým odpadem či jádra s vysokým stupněm autofluorescence.
- Vyhněte se místům, kde je příliš mnoho cytoplazmatického odpadu nebo kde se vyskytuje nespecifická hybridizace.
- Intenzita signálu se může lišit, dokonce i v rámci jediného jádra. V takových případech použijte jednoduché filtry a/nebo upravte ohniskovou rovinu.
- Za neoptimálních podmínek se mohou signály jevit jako rozptýlené. Jestliže se dva signály stejné barvy vzájemně dotýkají, nebo je mezi nimi vzdálenost menší než dvě šířky signálu, nebo pokud dva signály spojuje slabý pruh, počítejte je jako jeden signál.
- Pokud při analýze dvoubarevných zlomových sond není mezera mezi červeným a zeleným signálem větší než 2 šířky signálu, počítejte to jako nepřeskupený/fúzní signál.
- Pokud není při analýze třibarevných zlomových sond mezi kterýmkoliv ze 3 signálů (červený, zelený, modrý) mezera větší než 2 signály na šířku, počítejte to jako nepřeskupený/fúzní signál.
- Pokud si nejste jisti, zda lze buňku analyzovat či nikoli, analýzu neprovádějte.

### Pokyny pro analýzu

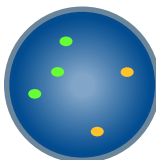
	Nepočítejte – jádra jsou příliš těsně u sebe, takže není možno určit hranice
	Nepočítejte překrývající se jádra – všechny oblasti obou jader nejsou viditelné
	Počítejte jako dva oranžové a dva zelené signály – jeden ze dvou zelených signálů je difúzní
	Počítejte jako dva oranžové a dva zelené signály – mezera v jednom zeleném signálu je menší než dvě šířky signálu

### Předpokládaný vzorec normálního signálu

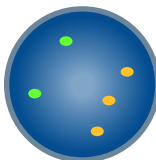


U normální buňky se předpokládají dva zelené a dva oranžové (2Z2O).

### Předpokládaný vzorec (Předpokládané vzorce) abnormálního signálu



V buňce s trizomií 13 se očekávají tři zelené a dva oranžové signály (3Z2O).



V buňce s trizomií 21 se očekávají dva zelené a tři oranžové signály (2Z3O).

U aneuploidních/nevyvážených vzorků jsou možné jiné vzory signálů.

### Znamé relevantní interference / interferující látky

Nejsou známy žádné relevantní interference / interferující látky.

### Znamá zkřížená reaktivita

Zkřížená reaktivita není známa.

## Hlášení závažných událostí

Pro pacienta / uživatele / třetí stranu v Evropské unii a v zemích se shodným regulačním režimem (nařízení (EU) 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích *in vitro*); pokud během používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání došlo k závažné události, nahláste ji výrobci a svému příslušnému národnímu orgánu.

Pokud došlo k závažným událostem v jiných zemích, nahláste je prosím výrobci a případně svému příslušnému národnímu orgánu.

Kontaktní osoba pro vigilanci výrobce: [vigilance@ogt.com](mailto:vigilance@ogt.com)

Pro příslušné národní orgány v EU je seznam kontaktních míst pro vigilanci k dispozici na adrese:

[https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts\\_en](https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en)

## Specifické funkční charakteristiky

### Analytická specifická

Analytická specifická je definována jako procento signálů, které hybridizují do správného lokusu a na žádné jiné místo. Byly analyzovány čtyři chromozomální lokusy v každé z 20 metafázových buněk z pěti vzorků, což znamená celkem 400 datových bodů. Bylo zmapováno umístění všech hybridizovaných sond a byl zaznamenán počet FISH signálů metafázových chromozomů hybridizovaných na správný lokus.

Analytická specifická jednotlivých sond v sadě byla vypočtena jako počet signálů FISH metafázového chromozomu hybridizovaných na správný lokus vydělený celkovým počtem hybridizovaných FISH signálů metafázového chromozomu, tento výsledek byl vynásoben číslem 100 a vyjádřen jako procento s intervalem spolehlivosti 95 %.

Tabulka 1. Analytická specifická sady Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Cíl	Počet hybridizovaných metafázových chromozomů	Počet správně hybridizovaných lokusů	Analytická specifická	Interval spolehlivosti 95 %
21q22.1	200	200	100 %	98,12 % – 100 %
13q14.2	200	200	100 %	98,12 % – 100 %

### Analytická citlivost

Analytická citlivost je procento započítatelných interfázních buněk s předpokládaným vzorcem normálního signálu. U každé z 25 fixovaných buněčných suspenzí ze vzorků plodové vody od karyotypové normálních mužů nebo žen, u kterých byl potvrzen normální komplement chromozomů 13 a 21 pomocí FISH nebo karyotypu, bylo analyzováno minimálně 50 interfázních buněk, což pro každý typ vzorku znamenalo minimálně 1 250 hodnocených jader. Byly analyzovány údaje o citlivosti na základě procenta buněk vykazujících normální předpokládaný signální vzorec, a byly vyjádřeny jako procento s 95 % intervalem spolehlivosti.

Tabulka 2. Analytická citlivost sady Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Typ vzorku	Kritéria citlivosti	Výsledek citlivosti
Plodová voda	>95 %	96,24 % (94,84–97,64 %)

### Charakteristika normálních mezních hodnot

Normální mezní data jsou definována jako procento buněk vykazujících falešně pozitivní signální vzorec, při němž by hodnota u pacienta byla považována za normální a neodpovídala klinické diagnóze. U každé z 25 fixovaných buněčných suspenzí ze vzorků plodové vody od karyotypové normálních mužů nebo žen, u kterých byl potvrzen normální komplement chromozomů 13 a 21 pomocí FISH nebo karyotypu, bylo analyzováno minimálně 50 interfázních buněk, což pro každý typ vzorku znamenalo minimálně 1 250 hodnocených jader.

Mezní hodnota byla určena pomocí funkce  $\beta$ -inverse (BETAINV) v MS Excel. Byla vypočtena jako procento interfázních buněk vykazujících falešně pozitivní signální vzorec pomocí horní hranice jednostranného 95 % intervalu spolehlivosti binomického rozdělení u vzorku normálního pacienta.

Tabulka 3. Charakteristika normálních mezních hodnot sady Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Typ vzorku	Mezní výsledky
Plodová voda	8,97 %

Laboratoře si **musí** ověřit mezní hodnoty pomocí vlastních dat a v souladu s regionálními nebo odbornými pokyny nebo pokyny zdravotnického zařízení, které se mohou vztahovat na jejich diagnostické prostředí <sup>6,7</sup>.

### Přesnost

Byla měřena přesnost tohoto produktu pokud jde o přesnost v rámci jednoho dne (mezi vzorky), přesnost v různých dnech (mezi dny) a přesnost v rámci různých šarží na jednom pracovišti (mezi šaržemi).

K hodnocení přesnosti produktu byly použity tři (3) vzorky: jeden vzorek normální plodové vody, jeden vzorek plodové vody s nízkou pozitivitou na trizomii 13 (3Z2O) a jeden vzorek plodové vody s nízkou pozitivitou na trizomii 21 (2Z3O). Vzorky plodové vody s nízkou pozitivitou byly vytvořeny tak, že se použila část normální plodové vody, ke které se přidal známý pozitivní vzorek plodové vody, s cílem vytvořit níže pozitivní vzorec v rozmezí 2–4násobku mezní hodnoty.

Pro stanovení přesnosti v rámci různých dnů / v rámci jednoho dne byly vzorky hodnoceny v rozmezí 10 dnů, které nenásledovaly po sobě; pro stanovení přesnosti mezi šaržemi byly hodnoceny tři (3) šarže produktu v rámci tří (3) opakování stejných vzorků. Výsledky byly prezentovány jako všeobecná shoda s předpokládanou negativní klasifikací (u negativních vzorků).

Tabulka 4. Reprodukovatelnost a přesnost sady Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Variabilní	Typ vzorku	Shoda
Přesnost v rámci jednoho dne / v různých dnech	Negativní plodová voda	100 %
	Plodová voda s nízkou pozitivitou na trizomii 13 (3Z2O)	100 %
	Plodová voda s nízkou pozitivitou na trizomii 21 (2Z3O)	96,7 %
Mezi šaržemi v různých dnech	Negativní plodová voda	88,9 %
	Plodová voda s nízkou pozitivitou na trizomii 13 (3Z2O)	100 %
	Plodová voda s nízkou pozitivitou na trizomii 21 (2Z3O)	100 %

### Klinická funkce

Aby bylo zajištěno, že produkt odhalí záměrná přeskupení, byla pro tento produkt stanovena pomocí tří studií klinická funkce na reprezentativních vzorcích určené populace: Zbytkový materiál fixovaný v poměru 3 : 1 pomocí methanolu / kyseliny octové ze vzorků prenatalní plodové vody. Velikost souboru v rámci této studie činila 172 vzorků, přičemž populace obsahovala 15 vzorků pozitivních na trizomii 13, 157 vzorků negativních na trizomii 13 a celkem 109 vzorků pozitivních na trizomii 21 a 63 vzorků negativních na trizomii 21. Výsledky byly porovnány se známým stavem vzorku. Sonda správně určila stav vzorků ve všech případech.

Výsledky těchto testů byly analyzovány, aby poskytl hodnoty klinické citlivosti, klinické specifické a míru falešné positivity (FPR) pozitivních signálů pomocí jednodimenzního přístupu.

Tabulka 5. Klinická funkce sady Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Variabilní	Výsledek
Klinická senzitivita (míra skutečné positivity, TPR)	100,0 %
Klinická specifická (míra skutečné negativity, TNR)	100,0 %
Míra falešné positivity (FPR) = 1–specifická	0,00 %

### Souhrn bezpečnosti a funkce (SSP)

SSP je zpřístupněn veřejnosti prostřednictvím evropské databáze zdravotnických prostředků (Eudamed), kde je propojen se základním UDI-DI.

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

Základní UDI-DI: 50558449LPA003GL

Pokud není systém Eudamed plně funkční, musí být SSP zpřístupněn veřejnosti na základě žádosti zasláné e-mailem na adresu [SSP@ogt.com](mailto:SSP@ogt.com).

### Další informace

Další informace o produktu vám sdělí oddělení technické podpory společnosti CytoCell.

T: +44 (0)1223 294048















E: [techsupport@cytozell.com](mailto:techsupport@cytozell.com)

W: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)

### Reference

- 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.

## Slovníček symbolů

EN ISO 15223-1:2021–, „Zdravotnické prostředky–Symboly, které se budou používat s informacemi, dodá výrobce– Část 1: Všeobecné požadavky“ (© International Organization for Standardization (Mezinárodní organizace pro normalizaci))		
Symbol	Název	Referenční číslo/čísla
	cs: Výrobce	5.1.1
	cs: Zplnomocněný zástupce v Evropském společenství / Evropské unii	5.2.1
	cs: Datum spotřeby	5.4.1
	cs: Kód šarže	5.5.1
	cs: Katalogové číslo	5.6.1
	cs: Chraňte před slunečním světlem	5.3.2
	cs: Omezení teploty	5.3.7
	cs: Viz návod k použití	5.4.3
 ogt.com/IFU	cs: Přečtěte si elektronický návod k použití	5.4.3
	cs: Upozornění	5.4.4
	cs: <i>In vitro</i> zdravotnický diagnostický prostředek	5.5.1
	cs: Množství dostačuje k provedení <n> testů	5.5.5
	cs: Jedinečný identifikátor prostředku	5.7.10
<b>Symbole EDMA pro IVD reagentie a složky, revize říjen 2009</b>		
Symbol	Název	Referenční číslo/čísla
	cs: Obsah (nebo obsahuje)	N/A

## Patenty a ochranné známky

CytoCell je registrovaná ochranná známka společnosti CytoCell Limited.



**Cytocell Limited**  
Oxford Gene Technology  
418 Cambridge Science Park  
Milton Road  
CAMBRIDGE  
CB4 0PZ  
SPOJENÉ KRÁLOVSTVÍ

T: +44 (0)1223 294048  
F: +44 (0)1223 294986  
E: [probes@cytoCell.com](mailto:probes@cytoCell.com)  
W: [www.ogt.com](http://www.ogt.com)



**Sysmex Europe SE**  
Bornbarch 1  
22848 Norderstedt  
NĚMECKO

T: +49 40 527260  
W: [www.sysmex-europe.com](http://www.sysmex-europe.com)

## Historie verzí IFU

V001.00 2023-01-11: Nový IFU z důvodu nařízení (EU) 2017/746.