



A Sysmex Group Company



Brugsanvisning

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

Prenatal 13 og 21 Enumeration Probe Kit



KUN TIL ERHVERVSMÆSSIG BRUG



Yderligere information og andre sprog findes på ogt.com/IFU

Tilsigtet formål

CytoCell® Prenatal 13 og 21 Enumeration Probe Kit er en kvalitativ, ikke-automatiseret FISH-test (fluorescens *in situ* hybridisering), der anvendes til at detektere kromosom 13q14.2-regionen og kromosom 21q22.1-regionen i celler fikseret i Carnoys opløsning (3:1 methanol/eddikesyre) deriveteret fra fostervandsprøver i optælling af kromosom 13 og 21 i højrisikograviditeter, hvor der er mistanke om Downs eller Patau syndrom.

Indikationer for brug

Denne enhed er designet som et supplement til andre kliniske og laboratorietests i anerkendte diagnostiske og kliniske plejeforløb såsom ultralydsscreening og biokemisk test, hvor viden om kopinummerstatus for kromosom 13q14.2-regionen og kromosom 21q22.1-regionen er vigtig for patienthåndteringen.

Begrænsninger

Denne enhed er designet til at detektere kromosommateriale, hvilket inkluderer de kromosom 13q14.2- og kromosom 21q22.1-regioner, der er dækket af henholdsvis grønne og orange kloner i dette probesæt. Genomske gevinster eller tab uden for disse regioner eller delvise tab eller gevinster i disse regioner kan muligvis ikke detekteres med denne enhed.

Denne enhed er ikke beregnet til: brug som det eneste diagnostiske værktøj, brug som supplerende diagnostisk værktøj, populationsbaseret screening, test i nærheden af patienter eller selvtestning og er ikke valideret til prøvetyper, sygdomstyper eller formål ud over dem, der er angivet i det tilsigtede formål.

Denne enhed er beregnet til brug som supplement til andre diagnostiske laboratorietests, og en behandling bør ikke indledes udelukkende på grundlag af FISH-resultatet.

Rapportering og fortolkning af FISH-resultater skal udføres af tilstrækkeligt kvalificeret personale, være i overensstemmelse med professionel standardpraksis og bør tage hensyn til andre relevante testresultater, kliniske og diagnostiske informationer.

Denne enhed er udelukkende beregnet til brug af faguddannet laboratoriepersonale.

Hvis protokollen ikke overholdes, kan det have indflydelse på funktionsevnen og føre til falsk positive/negative resultater.

Testens principper

Fluorescens *in situ*-hybridisering (FISH) er en teknik, der gør det muligt at detektere DNA-sekvenser på metafasekromosomer eller interfasekerner i fikserede cytogenetiske prøver. Teknikken gør brug af DNA-prøver, som hybridiserer hele kromosomer eller enkelte unikke sekvenser, og er et stærkt supplement til cytogenetisk analyse med G-banding-teknik. Denne teknik kan nu anvendes som et essentielt investigativt værktøj i forbindelse med prænatal analyse, hæmatologiske analyser og kromosomanalyser af solide tumorer. Mål-DNA'et er, efter fiksering og denaturering, klar til hybridisering til en lignende denatureret, fluorescens-mærket DNA-probe med en komplementærsekvens. Efter hybridisering fjernes den ubundne og ikke-specifikt bundne DNA-probe, og DNA'et

kontrastfarves med henblik på visualisering. Et fluorescensmikroskop gør det derefter muligt at visualisere den hybridiserede probe på mål-materialet.

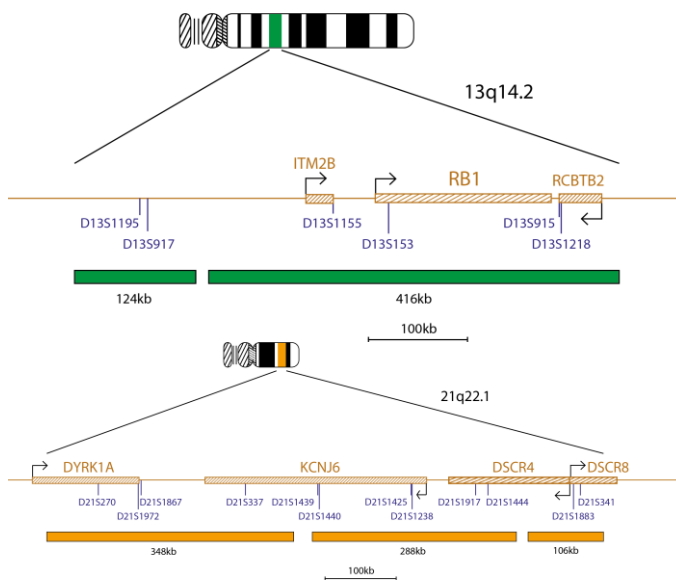
Probe-information

Downs syndrom (DS) er en autosomal trisomi forårsaget af tilstedeværelsen af en tredje (delvis eller total) kopi af kromosom 21 og er kendetegnet ved variabel intellektuel funktionsnedsættelse, muskelhypotoni og ledslaphed, ofte forbundet med en karakteristisk ansigtsdysmorfologi og forskellige anomalier såsom gastrointestinale, neurosensoriske eller endokrine defekter^{1,2}. DS er en af de førende årsager til intellektuelt handicap på verdensplan, og disse patienter står også over for forskellige sundhedsproblemer, herunder indlæring og hukommelse, medfødte hjertesygdomme (CHD), Alzheimers sygdom (AD), leukæmi, former for cancer og Hirschsprungs sygdom (HD)¹. DS har høj genetisk kompleksitet og fænotypevariabilitet¹. Efter 16 ugers graviditet er forekomsten af DS-graviditeter 1 ud af 1.050 for mødre i alderen 20 år, 1 ud af 620 for mødre i alderen 30 år og 1 ud af 70 for mødre i alderen 40 år³.

Patau syndrom (PS) er en kromosomal anomali forårsaget af tilstedeværelsen af et ekstra kromosom 13 og er karakteriseret ved hjernemisdannelser (holoprosencefali), ansigtsdysmorfologi, okulære anomalier, postaksial polydaktyli, viscerale misdannelser (kardiopati) og alvorlig psykomotorisk retardering². PS er forbundet med fænotypisk holoprosencefali og midline fusion-abnormiteter på grund af defekt fusion af den præchordale mesoderm i fosterstadiet⁴. Efter 16 ugers graviditet er forekomsten af PS-graviditeter 1 ud af 11.000 for mødre i alderen 20 år, 1 ud af 6.500 for mødre i alderen 30 år og 1 ud af 700 for mødre i alderen 40 år³.

Probe-specifikation

13 unik sekvens, 13q14.2 grøn
21 unik sekvens, 21q22.1 orange



Den grønne probeblanding indeholder en 124 kb-probe og en 416 kb-probe som dækker *ITM2B*-, *RB1*- og *RCBTB2*-generne. Den orangeblanding dækker en region på 21q22.1 fra *DYRK1A*-genet til *DSCR8*-genet.

Medleveret materiale

Probe: 50 µl pr. hætteglas (5 tests) eller 100 µl pr. hætteglas (10 tests).

Proberne leveres i en færdigblandet hybridiserings-opløsning (<65 % formamid, <20 mg dextransulfat og < 10 % 20x saline-natriumcitrat (SSC)) og er klar til brug.

Kontrastfarvning: 150 µl pr. hætteglas (15 tests)

Kontrastfarvningen er DAPI-antifade-opløsning ES (0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-phenylindole) i glycerol-baseret monteringsmedie).

Advarsler og forsigtighedsregler

1. Til brug til *in vitro*-diagnostik. Må kun anvendes af faguddannet laboratoriepersonale.
2. Probe-blandinger indeholder formamid, som er teratogent: undgå hudkontakt og at indånde dampe. Håndter med omtanke, bær handsker og laboratoriekittel.
3. Håndter DAPI med omtanke, bær handsker og laboratoriekittel.
4. Må ikke anvendes, hvis hætteglasset/-glassene er beskadiget, eller deres indhold er kompromitteret på nogen måde.
5. Følg lokale bortskaffelsesregler for din lokalitet samt anbefalingerne i sikkerhedsdatabladet for at bestemme sikker bortskaffelse af dette produkt. Dette gælder også for indholdet af beskadigede testkits.
6. Bortskaf alle brugte reagenser og alle andre kontaminerede engangsmaterialer ved at følge procedureerne for infektøst eller potentielt infektøst affald. Det er det enkelte laboratoriums ansvar at håndtere fast og flydende affald i henhold til dets art og grad af farlighed og behandle og bortskaffe det (eller få det behandlet og bortskaffet) i overensstemmelse med gældende regler.
7. Brugerne skal kunne skelne mellem farverne rød, blå og grøn.

8. Hvis den beskrevne protokol og de beskrevne reagenser ikke overholdes, kan det have indflydelse på funktionsevnen og føre til falske positive/negative resultater.
9. Proben må ikke fortyndes eller blandes med andre prober.
10. Hvis der ikke anvendes 10 µl af proben under præ-denatureringen, som beskrevet i protokollen, kan det have indflydelse på funktionsevnen og føre til falske positive/negative resultater.
11. Alle produkter bør valideres før brug.
12. Der bør udføres interne kontroller ved brug af upåvirkede cellepopulationer i testprøver.

Temperaturdefinitioner

- -20 °C/frossen/i fryseren: -25 °C til -15 °C
- 37 °C: +37 °C ± 1 °C
- 72 °C: +72 °C ± 1 °C
- 75 °C: +75 °C ± 1 °C
- Rumtemperatur (RT): +15 °C til +25 °C

Opbevaring og håndtering



Kittet skal opbevares mellem -25 °C og -15 °C i en fryser indtil den udløbsdag, der er anført på kittets etiket. Proben og hætteglas med kontrastfarve skal opbevares mørkt.



FISH-proben, DAPI Antifade ES-kontrastfarvning og Hybridisation Solution forbliver stabil under fryse-optøningscyklusser i forbindelse med normal brug (hvor en cyklus omfatter hætteglassets udtagning fra og genindsætning i fryseren) – 5 cyklusser for 50 µl (5 tests) hætteglas med FISH-probe, 10 cyklusser for 100 µl (10 tests) hætteglas med FISH-

probe og 15 cyklusser for 150 µl (15 tests) hætteglas med kontrastvæske. Udsættelse for lys bør minimeres og undgås, hvor det er muligt. Opbevar komponenter i den medfølgende lysbestandige beholder. Komponent, som anvendes og opbevares under andre forhold end dem, der er angivet på mærkningen, fungerer muligvis ikke som forventet og kan påvirke analyseresultaterne negativt. Man skal bestræbe sig på at begrænse lyspåvirkning og temperaturforandringer.

Nødvendigt udstyr og materialer, som ikke medleveres

Der skal anvendes kalibreret udstyr:

1. Varmeplade (med en fast plade og nøjagtig temperaturkontrol op til 80 °C)
2. Kalibrerede mikropipetter med variabel volumen og spidser fra 1 µl til 200 µl
3. Vandbad med nøjagtig temperaturkontrol ved 37 °C og 72 °C
4. Mikrocentrifugerør (0,5 ml)
5. Fluorescensmikroskop (jf. anbefalingerne i kapitlet om fluorescensmikroskopi)
6. Fasekontrast-mikroskop
7. Rene plastik, keramiske eller varmeresistente Coplin-glas
8. Tænger
9. Kalibreret pH-Meter (eller pH-indikatorstrips, der kan måle pH 6,5-8,0)
10. Befugtningsbeholder
11. Immersionsolie til fluorescensmikroskoplinser
12. Bordcentrifuge
13. Mikroskop-objektglas
14. Dækglas på 24x24 mm
15. Timer
16. Inkubator på 37 °C
17. Gummiopløsning (til forsejling af objektglas)
18. Vortex-blander
19. Måleglas
20. Magnetomrører
21. Kalibreret termometer

Optionalt udstyr, der ikke medleveres

1. Cytogenetisk tørrekammer

Nødvendige reagenser, der ikke medleveres

1. 20x saltvand-natriumcitrat-(SSC)-opløsning
2. 100 % ethanol
3. Tween-20
4. 1M natriumhydroxid (NaOH)
5. 1M saltsyre (HCl)
6. Renset vand

Anbefalinger til fluorescensmikroskopi

Der bør anvendes en 100-Watt kviksølv-lampe eller tilsvarende og olie-immersions-apochromat-objektiver, plan, 60/63 eller 100x for at opnå optimal visualisering. De fluoroforer, der benyttes i denne probe, vil excitere og udsende lys ved følgende bølglængder:

| Fluorofor | Excitation _{maks.} [nm] | Emission _{maks.} [nm] |
|-----------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| Grøn | 495 | 521 |
| Orange | 551 | 572 |

Sørg for, at mikroskopet har passende excitation- og emissionsfiltre, som dækker de ovenfor nævnte bølglængder. Det tredobbelte båndpasfilter DAPI/FITC/TRITC er optimalt til samtidig visning af de grønne og orange fluoroforer samt kontrastfarve. Det tredobbelte båndpasfilter DAPI/FITC/Texas Red kan også bruges til samtidig visning af både fluoroforer og DAPI.

Efterprøv før brug, at fluorescensmikroskopet virker korrekt. Benyt immersionsolie, der er beregnet til fluorescensmikroskopi og formuleret til lav automatisk fluorescens. Undgå at blande DAPI-antifade med mikroskopi-immersionsolie, da

det vil sløre signalerne. Følg producentens anbefaling angående lampens levetid og filterens alder.

Prøveklargøring

Kittet er designet til brug på celler fikseret i Carnoys opløsning (3:1 methanol/eddikesyre) derivet fra fostervandsprøver i optælling af kromosom 13 og 21 i højrisikograviditeter, hvor der er mistanke om Downs eller Patau syndrom, som er klargjort i henhold til laboratoriets eller institutionens vejledninger. Indsamling af fostervandsprøver bør udføres i henhold til laboratoriets eller institutionens retningslinjer. Prøver, der er blodige eller brune, bør ikke bruges, da de kan indeholde moderblod og kan føre til falske resultater. Præparér lufttørrede prøver på objektglas i henhold til cytogenetiske standardprocedurer. The AGT Cytogenetics Laboratory Manual indeholder anbefalinger angående prøveindsamling, dyrkning, høst og præparering af objektglas⁵.

Klaring af opløsning

Ethanolopløsninger

Fortynd 100 % ethanol med rensat vand ved at anvende følgende blandingsforhold, og bland omhyggeligt:

- 70 % ethanol – 7 dele 100 % ethanol til 3 dele rensat vand
- 85 % ethanol – 8,5 dele 100 % ethanol til 1,5 dele rensat vand

Opløsningerne kan opbevares i op til 6 måneder ved rumtemperatur i en lufttæt beholder.

2xSSC-opløsning

Fortynd 1 del 20xSSC-opløsning med 9 dele rensat vand, og bland omhyggeligt. Efterprøv pH-værdien, og juster til pH 7,0 ved at bruge NaOH eller HCl efter behov. Opløsningen kan opbevares i op til 4 uger ved rumtemperatur i en lufttæt beholder.

0.4xSSC-opløsning

Fortynd 1 del 20xSSC-opløsning med 49 dele rensat vand, og bland omhyggeligt. Efterprøv pH-værdien, og juster til pH 7,0 ved at bruge NaOH eller HCl efter behov. Opløsningen kan opbevares i op til 4 uger ved rumtemperatur i en lufttæt beholder.

2xSSC; 0,05 % Tween-20-opløsning

Fortynd 1 del 20xSSC-opløsning med 9 dele rensat vand. Tilsæt 5 µl Tween-20 pr. 10 ml, og bland omhyggeligt. Efterprøv pH-værdien, og justér til pH 7,0 ved at bruge NaOH eller HCl efter behov. Opløsningen kan opbevares i op til 4 uger ved rumtemperatur i en lufttæt beholder.

Anbefalet forbehandling af objektglas⁵.

1. Nedsænk objektglasset klargjort med celler fikseret i 3:1 methanol/eddikesyre derivet fra fostervandsprøver i 2xSSC i 1 time ved 37 °C.
2. Anbring objektglasset i en frisklavet pepsin-arbejdsopløsning (5 mg pepsin føjet til 100 ml 0,01M HCl) i 13 minutter ved 37 °C.
3. Nedsænk objektglasset i fosfatbufret saltvand (PBS) ved RT i 5 minutter.
4. Nedsænk objektglasset i efterfikseringsopløsning (0,95 % formaldehyd: 1,0 ml 37 % formaldehyd, 0,18 g MgCl₂ og 39,0 ml PBS) i 5 minutter ved RT.
5. Nedsænk objektglasset i PBS ved RT i 5 minutter.
6. Nedsænk objektglasset i 70 % ethanol ved RT. Lad objektglasset stå i ethanolbadet i 2 minutter.
7. Fjern objektglasset fra 70 % ethanol. Gentag trin 6 med 80 % ethanol efterfulgt af 100 % ethanol.
8. Lad det lufttørre.

FISH-Protokol

(Bemærk: Probens og kontrastfarvningens eksponering for laboratorielys skal hele tiden begrænses så meget som muligt).

Forberedelse af objektglas (spring dette trin over, hvis objektglasset blev forbehandlet i henhold til protokollen ovenfor)

1. Dryp celleprøven på et objektglas. Lad det tørre. (Valgfrit, hvis der anvendes et cytogenetisk tørrekabinet: Tørrekammeret bør anvendes ved cirka 25 °C og 50 % luftfugtighed for at få optimale celleprøver. Hvis der ikke er et cytogenetisk tørrekabinet til rådighed, kan der alternativt anvendes et stinkskab.)
2. Nedsænk objektglasset i 2xSSC i 2 minutter ved rumtemperatur (RT) uden omrystning.
3. Dehydrer i ethanol i stigende koncentrationer (70 %, 85 % og 100 %), hver i 2 minutter ved RT.
4. Lad det tørre.

Præ-denaturering

5. Tag proben ud af fryseren, og lad den opná RT. Centrifuger kort rørene inden brug.
6. Sørg for, at probeopløsningen er ensartet blandet med en pipette.
7. Udtag 10 µl af proben pr. test, og transferer til et mikrocentrifugerør. Sæt hurtigt det resterende probemateriale tilbage i fryseren.
8. Sæt proben og prøveobjektglasset til opvarmning på en varmeplade ved 37 °C (+/- 1 °C) i 5 minutter.
9. Dryp 10 µl af probemixingen på celleprøven, og dæk forsigtigt med et dækglas. Forsegl med gummiopløsning, og lad det tørre fuldstændigt.

Denaturering

10. Denaturer prøve og probe samtidigt ved at varme objektglasset på en varmeplade ved 75 °C (+/- 1 °C) i 2 minutter.

Hybridisering

11. Anbring objektglasset i en fugtig, lystæt beholder ved 37 °C (+/- 1 °C) natten over.

Vask efter hybridisering

12. Tag DAPI ud af fryseren, og lad det opnå RT.
13. Fjern omhyggeligt dækglasset og alle spor af gummiopløsningen.
14. Nedsænk objektglasset i 0,4xSSC (pH 7,0) ved 72 °C (+/- 1 °C) i 2 minutter uden omrystning.
15. Lad objektglasset tørre, og nedsænk det i 2xSSC, 0,05 % Tween-20 ved RT (pH 7,0) i 30 sekunder uden omrystning.
16. Lad objektglasset tørre, og tilsæt 10 µl DAPI-antifade på hver prøve.
17. Dæk med et dækglass, fjern alle eventuelle bobler, og lad farven udvikle sig i mørke i 10 minutter.
18. Undersøg med et fluorescensmikroskop (jf. anbefalingerne i kapitlet om fluorescensmikroskopi).

Anbefalinger til proceduren

1. Det kan nedsætte signalflorescensen, hvis objektglassene får for meget varme eller er gamle.
2. Hybridiseringsbetingelserne kan påvirkes negativt, hvis der bruges andre reagenser end dem, der anbefales eller leveres af CytoCELL Ltd.
3. Der skal anvendes et kalibreret termometer til at måle temperaturerne i opløsninger, vandbade og inkubatorer, da disse temperaturer er vigtige for at opnå bedst mulige resultater.
4. Stringens ved vaskekonzentrationerne, pH og temperaturerne er vigtigt, da for lav stringens kan føre til ikke-specifik binding af proben, og for høj stringens kan føre til tab af signaler.
5. Ikke-komplet denaturering kan føre til tab af signaler, og for høj denaturering kan også føre til ikke-specifik binding.
6. Overhybridisering kan føre til yderligere eller uventede signaler.
7. Brugere bør optimere protokollen til egne prøver, før testen bruges til diagnostiske formål.
8. Suboptimale betingelser kan føre til ikke-specifik binding, som kan mistolkes som et probesignal.

Fortolkning af resultater

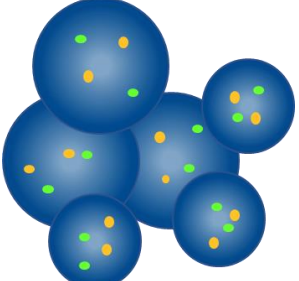
Vurdering af objektglaskvaliteten

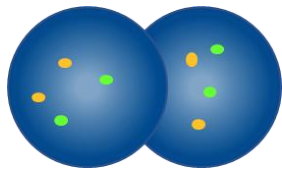
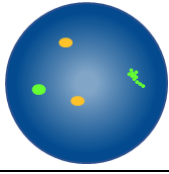
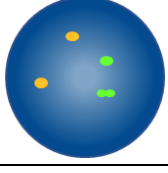
Objektglasset bør ikke analyseres, hvis:

- Signalerne er for svage til, at de enkelte filtre kan analyseres – for at fortsætte med en analyse skal signalerne være lyse, klare og nemme at vurdere
- Der er et højt antal af klumpende/overlappende celler, som slører analysen
- >50 % af cellerne ikke er hybridiseret
- der er for mange fluorescenspartikler mellem cellerne og/eller en fluorescerende dis, der forstyrrer signalerne – optimale objektglas har en enten mørk eller sort og ren baggrund
- cellekernernes omrids ikke kan skelnes og ikke er intakt

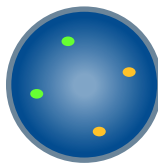
Analysevejledninger

- Der skal altid være to brugere til at analysere og fortolke hver prøve. Enhver diskrepans skal afklares ved en vurdering fra en tredje bruger
- Hver bruger skal have passende faglige kvalifikationer i overensstemmelse med anerkendte nationale standarder
- Hver bruger bør uafhængigt bedømme et tilstrækkeligt antal kerner fra hver prøve, så brugernes kombinerede bedømmelser opfylder minimumskriterierne specificeret af institutionelle, regionale eller nationale retningslinjer. Den ene bruger starter analysen fra venstre side af objektglasset, og den anden bruger starter fra højre side.
- Brugere skal dokumentere deres resultater skriftligt hver for sig
- Der skal kun analyseres intakte kerner, ingen overlappende eller klumpende kerner, der er dækket af cytoplasmisk debris eller har en høj grad af autofluorescens
- Undgå områder med overskud af cytoplasmisk debris eller ikke-specifik hybridisering
- Signalintensiteten kan variere, selv for den enkelte kerne. I sådanne tilfælde anvendes enkeltfiltre og/eller justering af det fokale plan
- Ved suboptimale betingelser kan signalerne virke diffuse. Hvis to signaler med samme farve berører hinanden, eller afstanden mellem dem ikke er større end bredden på to signaler, eller hvis der er en svag streng, der forbinder de to signaler, tælles de som ét signal
- Når der analyseres tofarvede "break-apart"-prober, og der er et hul mellem de røde og grønne signaler, som ikke er større end 2 signalers bredde, tælles det som et ikke-rearrangeret/fusioneret signal
- Når der analyseres trefarvede "break-apart"-prober, og der er et hul mellem nogen af de 3 signaler (røde, grønne og blå signaler), som ikke er større end 2 signalers bredde, tælles det som et ikke-rearrangeret/fusioneret signal
- Hvis man er i tvivl, om en celle kan analyseres eller ej, så analyseres den ikke

| Analysevejledninger | |
|--|---|
|  | Tæl ikke - cellekernerne er for tæt på hinanden til, at der kan bestemmes grænser |

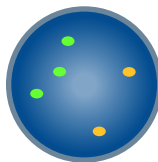
| | |
|--|---|
|  | Tæl ikke cellekerner, der overlapper hinanden – det er ikke alle områder af de to cellekerner, der er synlige |
|  | Tæl som to orange og to grønne signaler – et af de to grønne signaler er diffuse |
|  | Tæl som to orange og to grønne signaler – hullet i det ene grønne signal er mindre end to signalers bredde |

Forventet normalt signalmønster

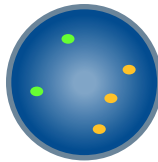


I en normal celle forventes der to grønne og to orange (2G2O).

Forventede abnorme signalmønstre



I en celle med trisomi 13 forventes der tre grønne og to orange signaler (3G2O).



I en celle med trisomi 21 forventes der to grønne og tre orange signaler (2G3O).

Andre signalmønstre er mulige i aneuploide/ubalancerede prøver.

Kendte relevante interferencer/interfererende stoffer

Ingen kendte relevante interferencer/interfererende stoffer.

Kendt krydsreaktion

Ingen kendt krydsreaktion.

Indberetning af alvorlige hændelser

For patienter/brugere/tredjeparter i EU og lande med identisk reguleringsordning (forordning (EU) 2017/746 om *in vitro*-diagnostisk medicinsk udstyr) gælder det, at hvis der er opstået en alvorlig hændelse under brugen af denne enhed eller som følge af dens brug, skal det rapporteres til producenten og til den nationale kompetente myndighed.

Alvorlige hændelser i andre lande skal rapporteres til producenten og, hvis det er relevant, til den nationale kompetente myndighed.

Producentens vigilance-kontakt: vigilance@ogt.com

En liste med vigilance-kontaktsteder for nationale kompetente myndigheder i EU kan findes på:

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

Særlige ydelseskarakteristika

Analytisk specificitet

Analytisk specificitet er defineret som procentdelen af signaler, som kun hybridiserer til det korrekte locus og ingen anden lokalitet. Der blev analyseret fire kromosomale loci i hver af 20 metafaseceller fra fem prøver, hvilket gav 400 data points. Lokationen for hver hybridiseret probe blev kortlagt, og antallet af FISH metafasekromosomsignaler, som hybridiseredes til det korrekte locus, blev registreret.

Den analytiske specificitet af hver probe i kittet blev beregnet som antallet af FISH-metasekromosomsignaler, som hybridiseredes til det rette locus, delt med det samlede antal af hybridiserede FISH-metasekromosomsignaler, og dette resultat

blev multipliceret med 100, udtrykt som procentdel og givet med et konfidensinterval på 95 %.

Table 1. Analytisk specificitet for Prenatal 13 og 21 Enumeration Probe Kit

| Mål | Antal hybridiserede metafasekromosomer | Antal korrekt hybridiserede loci | Analytisk specificitet | 95 % konfidensinterval |
|---------|--|----------------------------------|------------------------|------------------------|
| 21q22.1 | 200 | 200 | 100 % | 98,12 % – 100 % |
| 13q14.2 | 200 | 200 | 100 % | 98,12 % – 100 % |

Analytisk sensitivitet

Analytisk sensitivitet er procentdelen af de interfaseceller, der kan tælles med det forventede normale signalmønster. Der blev analyseret mindst 50 interfaseceller for hver af 25 fikserede cellesuspensioner fra fostervandsprøver fra karyotypisk normale mænd eller kvinder, der blev bekræftet som havende et normalt komplement af kromosom 13 og 21 af FISH eller karyotype, hvilket resulterede i minimum 1.250 kerner i en score for hver prøvetype. Følsomhedsdata blev analyseret på grundlag af procentdelen af celler, der viste et normalt, forventet signalmønster, og blev udtrykt som en procentdel med et konfidensinterval på 95 %.

Table 2. Analytisk sensitivitet af Prenatal 13 og 21 Enumeration Probe Kit

| Prøvetype | Sensitivitetskriterier | Sensitivitetsresultater |
|------------|------------------------|-------------------------|
| Fostervand | >95 % | 96,24 % (94,84-97,64 %) |

Karakterisering af normale cut-off-værdier

Normalt cut-off er defineret som procentdelen af celler, der udviser et falskt-positiv signalmønster, der fører til, at det hos en person ville blive betragtet som normalt og ikke svarende til en klinisk diagnose. Der blev analyseret mindst 50 interfaseceller for hver af 25 fikserede cellesuspensioner fra fostervandsprøver fra karyotypisk normale mænd eller kvinder, der blev bekræftet som havende et normalt komplement af kromosom 13 og 21 af FISH eller karyotype, hvilket resulterede i minimum 1.250 kerner i en score for hver prøvetype.

Cut-off-værdien blev bestemt ved brug af β -invers-funktionen (BETAINV) i MS Excel. Den blev beregnet som procentdelen af interfaseceller, der viste et falskt-positiv signalmønster ved brug af den øvre grænse af et en-sidet konfidensinterval på 95 % af den binomiale fordeling i en normal patientprøve.

Table 3. Karakterisering af normale cut-off-værdier for Prenatal 13 og 21 Enumeration Probe Kit

| Prøvetype | Cut-off-resultater |
|------------|--------------------|
| Fostervand | 8,97 % |

Laboratorier skal verificere cut-off-værdier ved at bruge deres egne data og i overensstemmelse med eventuelle institutionelle, regionale eller fagmæssige retningslinjer for bedste praksis, som måtte gælde inden for deres diagnostiske rammer^{6,7}.

Præcision

Præcisionen af dette produkt er blevet målt i forhold til intra-dag-præcision (prøve-til-prøve) inter-dag-præcision (dag-til-dag) og enkelt-hospital inter-lot-præcision (lot-til-lot).

Der blev anvendt tre (3) prøver til at bestemme præcisionen for dette produkt: en normal fostervandsprøve, en lav-positiv trisomi 13-fostervandsprøve (3G2O) og en lav-positiv trisomi 21-fostervandsprøve (2G3O). De lav-positiv aminovæskeprøver blev klargjort ved at bruge en andel af den normale fostervandsprøve og forstærke denne med en kendt positiv fostervandsprøve med det formål at skabe en lav-positiv prøve i området 2-4x cut-off.

Prøverne blev evalueret over 10 ikke-følgende dage for at etablere inter-dag- og intra-dag-præcision, og for at etablere lot-til-lot-præcision blev tre (3) produktlots evalueret på tre (3) replikater af de samme prøver. Resultaterne blev præsenteret som samlet overensstemmelse med den forudsagte negative klasse (for de negative prøver).

Table 4. Reproducerbarhed og præcision af Prenatal 13 og 21 Enumeration Probe Kit

| Variabel | Prøvetype | Overensstemmelse |
|-----------------------------------|---|------------------|
| Intra-dag- og inter-dag-præcision | Fostervand, negativ | 100 % |
| | Fostervand, lav-positiv trisomi 13 (3G2O) | 100 % |
| | Fostervand, lav-positiv trisomi 21 (2G3O) | 96,7 % |
| Lot-til-lot præcision | Fostervand, negativ | 88,9 % |
| | Fostervand, lav-positiv trisomi 13 (3G2O) | 100 % |
| | Fostervand, lav-positiv trisomi 21 (2G3O) | 100 % |

Klinisk ydeevne

For at sikre, at produktet detekterer de påtænkte rearrangementer, blev den kliniske ydeevne fastslået ved tre undersøgelser af repræsentative prøver fra den

påtænkte population for produktet: Restmateriale fikseret i 3:1 methano/eddikesyre fra prenatale fostervandsprøver. Prøvestørrelsen for undersøgelsen var 172 prøver med en population på 15 trisomi 13-positiv og 157 trisomi 13-negativ prøver og i alt 109 trisomi 21-positiv og 63 trisomi 21-negativ prøver. Resultaterne blev derefter sammenlignet med den kendte status for prøven. Proben identificerede korrekt status for alle prøver i alle instanser.

Resultatet af disse tests blev analyseret for at se klinisk følsomhed, klinisk specificitet og værdier for falsk-positiv-raten (FPR) af positive signaler ved brug af en endimensional fremgangsmåde.

Table 5. Klinisk ydeevne for Prenatal 13 og 21 Enumeration Probe Kit

| Variabel | Resultat |
|--|----------|
| Klinisk sensitivitet (sand positiv rate, TPR [True Positive rate]) | 100,0 % |
| Klinisk specificitet (sand negativ rate, TNR [True Negative rate]) | 100,0 % |
| Falsk positiv rate (FPR, False Positive rate) = 1 – Specificitet | 0,00 % |

Sammenfatning af sikkerhed og ydeevne (SSP)

SSP'et skal gøres tilgængeligt for offentligheden via den europæiske database over medicinsk udstyr (Eudamed), hvor det knyttes til Basic UDI-DI'et. Eudamed-URL: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> Basic UDI-DI: 50558449LPA003GL

Hvis Eudamed ikke er fuldt funktionelt, skal SSP'et gøres tilgængeligt for offentligheden på anmodning ved at sende en e-mail til SSP@ogt.com.

Yderligere information

Kontakt CytoCell Technical Support Department, hvis du ønsker yderligere produktinformationer.

T: +44 (0)1223 294048









E: techsupport@cytoCell.com







W: www.ogt.com

Referencer

- 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.

Symbolordliste

| EN ISO 15223-1:2021 – "Medicinsk udstyr – symboler, der skal bruges sammen med oplysninger fra producenten – del 1: Generelle krav" (© International Organization for Standardization) | | |
|---|---|-----------------------|
| Symbol | Titel | Referencenummer/numre |
|  | da: Producent | 5.1.1 |
|  | da: Autoriseret repræsentant i Det Europæiske Fællesskab/EU | 5.1.2 |
|  | da: Sidste anvendelsesdato | 5.1.4 |
|  | da: Batch-kode | 5.1.5 |
|  | da: Katalognummer | 5.1.6 |
|  | da: Holdes væk fra sollys | 5.3.2 |
|  | da: Temperaturgrænse | 5.3.7 |
|  | da: Se brugsanvisningen | 5.4.3 |

| | | |
|---|---|-------------------------------|
|  ogt.com/IFU | da: Se den elektroniske udgave af brugsanvisningen | 5.4.3 |
|  | da: Forsigtig | 5.4.4 |
|  | da: Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik | 5.5.1 |
|  | da: Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests | 5.5.5 |
|  | da: Unik enhedsidentifikator | 5.7.10 |
| EDMA-symboler til IVD-reagenser og -komponenter, revision fra oktober 2009 | | |
| Symbol | Titel | Referencenummer/-numre |
|  | da: Indhold (eller indeholder) | N/A |

Patenter og varemærker

CytoCell er et registreret varemærke tilhørende CytoCell Limited.



CytoCell Limited

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

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



Sysmex Europe SE

Bornbarch 1
22848 Norderstedt
TYSKLAND

T: +49 40 527260
W: www.sysmex-europe.com

IFU-versionshistorik

V001.00 2023-01-11: Ny IFU til forordning (EU) 2017/746.