



A Sysmex Group Company



Käyttöohje

VIITE: CE-LPA 003-S / CE-LPA 003

Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit



VAIN AMMATTIKÄYTTÖÖN



Lisätietoja ja muita kieliä saatavilla osoitteesta ogt.com/IFU

Käyttötarkoitus

CytoCell® Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit -koetinsarja on kvalitatiivinen, ei-automatisoitu FISH (fluorescence *in situ* hybridisation) -testi, jota käytetään kromosomialueen 13q14.2 ja kromosomialueen 21q22.1 havaitsemiseen Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikahappo) fiksoiduista soluista, jotka on johdettu lapsivesinäytteistä, laskettavissa kromosomeissa 13 ja 21 riskiraskauksissa, joissa epäillään Downin tai Patau'n oireyhtymää.

Käyttöaiheet

Tämä laite on suunniteltu käytettäväksi muiden kliinisten ja laboratoriotestien lisäksi vakiintuneissa diagnostiikan ja kliinisen hoidon hoitopoluissa, kuten ultraääniseulonnassa ja biokemiallisessa testauksessa, joissa tieto kromosomialueen 13q14.2 ja kromosomialueen 21q22.1 kopioluvun tilasta olisi tärkeää potilaan hoidolle.

Rajoitukset

Tämä laite on suunniteltu havaitsemaan kromosomiaines, johon sisältyy tämän koetinsarjan vihreiden kloonien kattama kromosomialue 13q14.2 ja oranssin kloonien kattama kromosomialue 21q22.1. Tämä laite ei ehkä havaitse kyseisten alueiden ulkopuolisia lisäyksiä tai puuttumisia tai osittaisia puuttumisia tai lisäyksiä. Tätä laitetta ei ole tarkoitettu käytettäväksi riippumattomaan diagnostiikkaan, kytkösdiaagnostiikkaan, väestöpohjaiseen seulontaan, vieritestaukseen tai itsetestaukseen, eikä sitä ole validoitu muille kuin käyttötarkoituksessa ilmoitetuille näytetyypeille, tautityypeille tai käyttökohteille.

Laitte on tarkoitettu muiden diagnostisten laboratoriotestien apuvälineeksi, eikä hoidotoimia saa käynnistää yksinomaan FISH-tuloksen perusteella.

Soveltuvan pätevyyden saaneen henkilöstön tekemän FISH-tulosten raportoinnin ja tulkinnan on oltava yhdenmukainen ammattimaisten käytäntöstandardien kanssa, ja niissä on otettava huomioon muut olennaiset testitulokset ja kliiniset ja diagnostiset tiedot.

Tämä laite on tarkoitettu ainoastaan ammattimaiseen laboratoriokäyttöön.

Mikäli protokollaa ei noudateta, se saattaa vaikuttaa suorituskyykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.

Testin periaatteet

Fluoresenssi *in situ* -hybridisaatio (FISH) on tekniikka, jonka avulla DNA-sekvenssejä voidaan havaita metafaasikromosomeista tai fiksoitujen sytogeneettisten näytteiden interfaasitumista. Tekniikassa käytetään DNA-koettimia, joiden avulla hybridisaatio koskee kokonaisia kromosomeja tai yksittäisiä, ainutkertaisia sekvenssejä ja jotka toimivat tehokkaana sytogeneettisen G-raita-analyysin apuvälineenä. Tätä tekniikkaa voidaan nyt käyttää olennaisena tutkimustyökaluna raskauden aikaiseen, hematologiseen ja kiinteiden tuumorien kromosomianalyysiin. Kohde-DNA on fiksaation ja denaturaation jälkeen saatavilla palautumiseksi samalla tavoin denaturoituu, fluoresenssimerkittyyn DNA-koettimeen, jolla on täydentävä sekvenssi. Hybridisaation jälkeen sitomaton ja muu kuin spesifisesti sidottu DNA-koetin poistetaan, ja DNA vastavärijätään

visualisointia varten. Sen jälkeen hybridisoitu koetin voidaan visualisoida fluoresenssimikroskopian avulla kohdemateriaalissa.

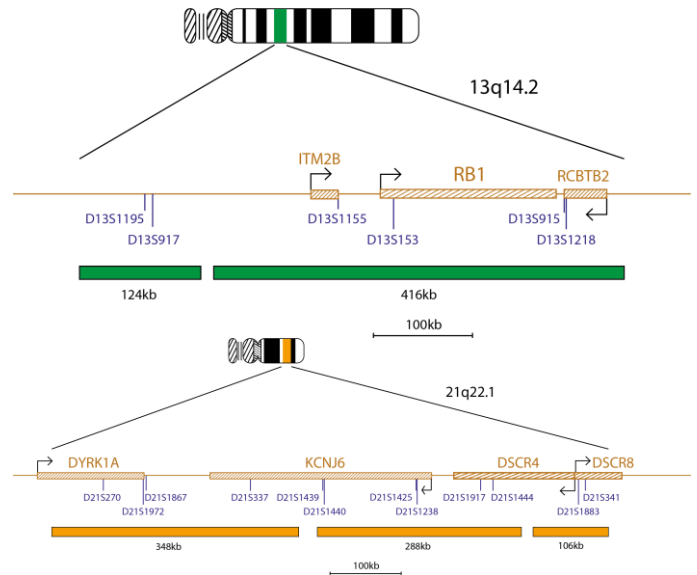
Koettimen tiedot

Downin oireyhtymä (DS) on autosomaalinen trisomia, jonka aiheuttaa kolmas (osittainen tai kokonainen) kromosomin 21 kopia ja jolle on tyypillistä vaihteleva älyllinen kehitysvammaisuus, vähentynyt lihasjänteys ja nivelten löysyys. Oireyhtymään liittyy usein myös tunnusomainen kasvojen muodon poikkeavuus ja muita poikkeamia, kuten sydämeen liittyviä, gastrointestinaalisia, neurosensorisia tai endokriinisiä vikoja.^{1,2} Downin oireyhtymä on yksi yleisimmistä älyllisen kehitysvammaisuuden syistä maailmanlaajuisesti, ja nämä potilaat kohtaavat myös monia terveysongelmia, kuten oppimisen ja muistin häiriöitä, synnynnäisiä sydänvikoja (CHD), Alzheimerin tautia (AD), leukemiaa, syöpiä ja Hirschsprungin tautia (HD)¹. Downin oireyhtymän geneettinen monimuotoisuus ja fenotyypivaihtelu on suurta¹. 16. raskausviikolla DS-raskauksien ilmaantuvuus on 1/1050 20-vuotiailla äideillä, 1/620 30-vuotiailla äideillä ja 1/70 40-vuotiailla äideillä³.

Patau oireyhtymä (PS) on kromosomipoikkeama, jonka aiheuttaa ylimääräinen kromosomi 13 ja jolle ovat tyypillisiä aivoepämuodostumat (holoprosenkefalia), kasvojen muodon poikkeavuus, silmäänomaliat, postaksiaalinen polydaktylia, sisäelinten epämuodostumat (kardiopatia) ja vaikea psykomotorinen hidastuneisuus². Patau oireyhtymän liittyy fenotyypinen holoprosenkefalia ja keskilinjän fuusion poikkeamia, jotka johtuvat prekordaalisen mesodermin virheellisestä fuusiosta alkiovaiheessa⁴. 16. raskausviikolla PS-raskauksien ilmaantuvuus on 1/11000 20-vuotiailla äideillä, 1/6500 30-vuotiailla äideillä ja 1/700 40-vuotiailla äideillä³.

Koettimen tekniset tiedot

13, ainutkertainen sekvenssi, 13q14.2, vihreä
21, ainutkertainen sekvenssi, 21q22.1, oranssi



Vihreä koetinseos sisältää 124 kb:n koettimen ja 416 kb:n koettimen, joka kattaa geenit *ITM2B*, *RB1* ja *RCBTB2*. Oranssi koetinseos kattaa 21q22.1-alueen *DYRK1A*-geenistä *DSCR8*-geeniin.

Toimitettavat materiaalit

Koetin: 50 µl pulloa kohti (5 testiä) tai 100 µl pulloa kohti (10 testiä). Koettimet toimitetaan ennalta sekoitettuna hybridisaatioliuokseen (< 65 % formamidia, < 20 mg dekstraanisulfaattia, < 10 % 20x-suolaliuos-natriumsitraattia (SSC)), ja ne ovat valmiita käytettäväksi.

Vastaväri: 150 µl pulloa kohti (15 testiä)

Vastaväri on DAPI Antifade ES (0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidiini-2-fenyli-indoli) glyserolipohjaisessa preparointiaineessa).

Varoitukset ja varotoimet

- In vitro* -diagnostiseen käyttöön. Vain ammattikäyttöön laboratoriossa.
- Koetinseokset sisältävät formamidia, joka on teratogeeni: älä hengitä höyryjä sisään tai päästä ainetta kosketuksiin ihon kanssa. Käsiteltävä varoen: käytä käsineitä ja laboratoriotakkia.
- Käsittele DAPIa varoen: käytä käsineitä ja laboratoriotakkia.
- Ei saa käyttää, jos pullo on vaurioitunut tai jos pullon sisältö on voinut vahingoittua millään tavalla.
- Hävitätä tämä tuote turvallisesti noudattaen hävittämistä koskevia paikallisia määräyksiä ja käyttöturvallisuustiedotteessa annettuja suosituksia. Tämä koskee myös vahingoittunutta testisarjan sisältöä.
- Hävitätä kaikki käyttämätön reagenssi ja muu kontaminoitunut kertakäyttömateriaali tartuntavaarallista tai mahdollisesti tartuntavaarallista jätettä koskevien ohjeistusten mukaisesti. Kunkin laboratorion vastuulla on käsitellä kiinteää ja nestemäistä jätettä sen luonteen ja vaarallisuusasteen mukaisesti ja noudattaa sen käsittelyssä ja hävittämisessä sovellettavia määräyksiä (tai varmistaa niiden noudattaminen).
- Käyttäjien on pystyttävä erottamaan toisistaan punainen, sininen ja vihreä.

- Mikäli hahmoteltua protokollaa ei noudateta ja sen mukaisia reagensseja ei käytetä, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
- Koetinta ei saa laimentaa tai sekoittaa muiden koetinten kanssa.
- Mikäli 10 µl:n koetinta ei käytetä protokollan esidenaturaatiovaiheessa, se saattaa vaikuttaa suorituskykyyn ja johtaa virheellisiin positiivisiin/negatiivisiin tuloksiin.
- Kaikki tuotteet on validoitava ennen käyttöä.
- Sisäiset kontrollit on suoritettava käyttämällä muuttumattomia solupopulaatioita testinäytteissä.

Lämpötilojen tarkemmat määritelmät

- 20 °C / pakastettu / pakastimessa: -25...-15 °C
- 37 °C: +37 °C ±1 °C
- 72 °C: +72 °C ±1 °C
- 75 °C: +75 °C ±1 °C
- Huoneenlämpötila: +15...+25 °C

Säilytys ja käsittely



Sarjaa on säilytettävä pakastimessa -25...-15 °C:n lämpötilassa sarjan etiketissä ilmoitettuun eräpäivään saakka. Koetinta ja vastaväripulloja on säilytettävä pimeässä.



FISH-koetin, DAPI Antifade ES -vastaväri ja hybridisaatioliuos pysyvät stabiileina normaalissa käytössä tapahtuvien pakastus- ja sulatusjaksojen ajan (kun yhden jakson aikana pullo poistetaan pakastimesta ja laitetaan takaisin pakastimeen) – 5 jaksoa 50 µl:n (5 testin) pullolle FISH-koetinta, 10 jaksoa 100 µl:n (10 testin) pullolle FISH-koetinta ja 15 jaksoa 150 µl:n

(15 testin) pullolle vastaväriä. Altistumista valolle on vältettävä ja minimoitava mahdollisuuksien mukaan. Säilytä komponentteja pakkauksen sisältämässä valonpitävässä säiliössä. Komponentit, joita on käytetty ja säilytetty pakkauksen ohjeista poikkeavissa olosuhteissa, eivät välttämättä toimi odotetulla tavalla ja saattavat vääristää määrittymisen tuloksia. On ryhdyttävä kaikkiin mahdollisiin toimenpiteisiin valolle ja lämpötilan muutoksille altistumisen rajoittamiseksi.

Tarvittavat laitteet ja materiaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

Kalibroituja laitteistoa on käytettävä:

- Lämpölevy (kiinteällä levyllä ja tarkalla lämpötilan hallinnalla 80 °C:n lämpötilaan saakka)
- Kalibroidut tilavuudeltaan vaihtelevat mikropipetit ja kärjet, 1–200 µl
- Vesikylypöytä tarkalla lämpötilan hallinnalla 37 °C:n ja 72 °C:n lämpötilassa
- Mikrosentrifugiletkut (0,5 ml)
- Fuoresenssimikroskooppi (katso Fluoresenssimikroskooppisuositus-osio)
- Vaihekontrastimikroskooppi
- Coplin-purkit puhdasta muovia, keramiikkaa tai lämmönkestävää lasia
- Pihdit
- Kalibroitu pH-mittari (tai pH-indikaattoriliuskat, joilla voidaan mitata 6,5–8,0:n pH-arvo)
- Kostutettu säiliö
- Fuoresenssiluokan mikroskooppilinnssin immersioöljy
- Työpöytäsentrifugi
- Mikroskooppiobjektilasi
- 24 x 24 mm:n peitelasit
- Ajastin
- 37 °C:n inkubaattori
- Kumiliuosliima
- Pyörresekoitin
- Mittasylinterit
- Magneettinen sekoitin
- Kalibroitu lämpömittari

Valinnainen laitteisto, ei sisälly pakkaukseen

- Sytogeneettinen kuivauskammio

Tarvittavat reagenssit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

- 20x suolaliuos-natriumsitraattiliuos (SSC)
- 100 % etanolia
- Tween-20
- 1M natriumhydroksidi (NaOH)
- 1M suolahappo (HCl)
- Akkuvesi

Fuoresenssimikroskooppisuositus

Käytä 100 watin elohopealamppua tai vastaavaa ja öljyimmersiosuunnitelman 60/63x- tai 100x-apokromaattiobjektiveja parhaaseen mahdolliseen visualisointiin. Tässä koetinsarjassa käytettävät loisteaineet virittyvät ja säteilevät seuraavilla aaltopituuksilla:

Loisteaine	Viritysmaks [nm]	Emissiomaks [nm]
Vihreä	495	521
Oranssi	551	572

Varmista, että mikroskooppiin on sovitettu asianmukaiset viritys- ja emissiosuodattimet, jotka kattavat yllä luetellut aallonpituudet. Kolmoisikaistanpäästösuodatin DAPI/FITC/TRITC on optimaalinen vihreän ja oranssin loisteaineen sekä vastaväriin samanaikaiseen tarkasteluun. Myös kolmoisikaistanpäästösuodatinta DAPI/FITC/Texas Red voidaan käyttää molempien loisteaineiden ja DAPIn samanaikaiseen tarkasteluun.

Tarkista fluoresenssimikroskooppi ennen käyttöä varmistaaksesi, että se toimii asianmukaisesti. Käytä immersioöljyä, joka soveltuu fluoresenssimikroskooppille ja jonka koostumus on tarkoitettu alhaiselle automaattiselle fluoresenssille. Vältä häilymistä ehkäisevän DAPIn sekoittamista mikroskoopin immersioöljyn kanssa, sillä se hämää signaaleita. Noudata valmistajien suosituksia lampun käyttöajan ja suodatinten iän suhteen.

Näytteen valmistelu

Sarja on suunniteltu käytettäväksi Carnoy'n liuokseen (3:1 metanoli/etikahappo) fiksoitujen, lapsivesinäytteistä johdettujen solujen laskettavissa kromosomeissa 13 ja 21 riskiraskauksissa, joissa epäillään Downin tai Patau'n oireyhtymää, kun solut on valmistettu laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Lapsivesinäytteet on otettava laboratorion tai laitoksen suuntaviivojen mukaisesti. Verisiltä tai ruskeilta näytettäviä näytteitä ei pidä käyttää, sillä ne voivat sisältää äidin verta ja johtaa virheellisiin tuloksiin. Valmistele ilmakuivatut näytteet mikroskoopin objektiivilaseille sytogeneettisten vakioimenpiteiden mukaisesti. AGT-sytogeneettikalibratorion opaskirja sisältää suosituksia näytteen keräämisestä, viljelystä, poiminnasta ja objektiivilasiin valmistelusta⁵.

Liuksen valmistus

Etanoliliuokset

Laimenna 100 % etanoli akkuedellä seuraavissa suhteissa ja sekoita huolellisesti:

- 70 % etanolia – 7 osaa 100 % etanolia ja 3 osaa akkuedettä
- 85 % etanolia – 8,5 osaa 100 % etanolia ja 1,5 osaa akkuedettä

Säilytä liuosta enintään 6 kuukautta huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

2 x SSC-liuos

Laimenna 1 osa 20 x SSC-liuosta 9 osaan akkuedettä ja sekoita huolellisesti. Tarkista pH ja säädä pH-arvoon 7,0 käyttäen natriumhydroksidia tai vetykloridia tarpeen mukaan. Säilytä liuosta enintään 4 viikkoa huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

0,4 x SSC-liuos

Laimenna 1 osa 20 x SSC-liuosta 49 osaan akkuedettä ja sekoita huolellisesti. Tarkista pH ja säädä pH-arvoon 7,0 käyttäen natriumhydroksidia tai vetykloridia tarpeen mukaan. Säilytä liuosta enintään 4 viikkoa huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

2 x SSC, 0,05 % Tween-20-liuos

Laimenna 1 osa 20 x SSC-liuosta 9 osaan akkuedettä. Lisää 5 µl Tween-20-liuosta 10 ml kohti ja sekoita huolellisesti. Tarkista pH ja säädä pH-arvoon 7,0 käyttäen natriumhydroksidia tai vetykloridia tarpeen mukaan. Säilytä liuosta enintään 4 viikkoa huoneenlämpötilassa ilmatiiviissä säiliössä.

Suosittelut objektiivilasiin esikäsittely⁵.

- Upota objektiivilasi, joka on valmistettu lapsivesinäytteistä johdetuista, 3:1 metanoli/etikahappofiksatiivini fiksoiduista soluista, 37 °C:n lämpöiseen 2 x SSC-liuokseen 1 tunniksi.
- Laita objektiivilasi vasta valmistettuun pepsiiniyöskentelyliuokseen (5 mg pepsiiniä 100 ml:aan suolahappoa 0,01M HCl) 13 minuutiksi 37 °C:n lämpötilaan.
- Upota objektiivilasi huoneenlämpöiseen fosfaattipuskuroituun keittosuolaliuokseen (PBS) 5 minuutiksi.
- Upota objektiivilasi huoneenlämpöiseen postfiksatiiviliuokseen (0,95 % formaldehydiä: 1,0 ml 37-prosenttista formaldehydiä, 0,18 g MgCl₂ ja 39,0 ml PBS) 5 minuutiksi.
- Upota objektiivilasi huoneenlämpöiseen PBS-liuokseen 5 minuutiksi.
- Upota objektiivilasi huoneenlämpöiseen 70-prosenttiseen etanoliin. Jätä objektiivilasi etanolikylypöydän 2 minuutiksi.
- Ota objektiivilasi 70-prosenttisestä etanolista. Toista vaihe 6 80-prosenttisellä ja sitten 100-prosenttisellä etanolilla.
- Anna kuivua.

FISH-protokolla

(Huomautus: Varmista, että koettimen ja vastaväriin altistuminen laboratoriovaloille on aina rajallista).

Objektiivilasiin valmistelu (ohita tämä vaihe, jos objektiivilasi on esikäsitelty edellä kuvatun protokollan mukaan)

- Laita pisara solunäytettä mikroskooppiobjektilasilille. Anna kuivua. (Valinnaista, jos käytetään sytogeneettistä kuivauskammioita: Kammiota on käytettävä noin 25 °C:n lämpötilassa ja 50 %:n kosteudessa, jotta solunäytepisara voidaan asettaa optimaalisesti lasille. Mikäli sytogeneettistä kuivauskammioita ei ole saatavilla, käytä vaihtoehtoisesti vetokaappia).
- Upota objektiivilasi 2 x SSC-liuokseen 2 minuutiksi huoneenlämpötilassa ravistamatta.
- Kuivaa kutakin etanolisarjassa (70 %, 85 % ja 100 %) 2 minuuttia huoneenlämpötilassa.
- Anna kuivua.

Esidenaturaatio

- Poista koetin pakastimesta ja anna sen lämmetä huoneenlämpötilaan. Sentrifugoi putkia lyhyen aikaa ennen käyttöä.
- Varmista, että koetinliuos on sekoitettu yhtenäisesti pipetillä.
- Poista 10 µl koetinta testiä kohti ja siirrä se mikrosentrifugiputkeen. Palauta jäljelle jäänyt koetin nopeasti pakastimeen.
- Aseta koetin ja näyteobjektiivilasi esilämpimään 37 °C:n (+/- 1 °C) lämpölevylle 5 minuutiksi.
- Laita 10 µl koetinseosta solunäytteelle ja aseta peitelasi varoen paikalleen. Sulje kumiliuosliimalla ja anna liiman kuivua täysin.

Denaturaatio

10. Denaturoi näyte ja koetin samanaikaisesti kuumentamalla objektiivilasia lämpölevyllä 2 minuutin ajan 75 °C:n (+/- 1 °C) lämpötilaan.

Hybridisaatio

11. Laita objektiivilasi yöksi kosteaan valonkestävään säiliöön 37 °C:n (+/- 1 °C) lämpötilaan.

Hybridisaation jälkeiset pesut

12. Poista DAPI pakastimesta ja anna sen lämmetä huoneenlämpötilaan.
13. Poista peitelasi ja kaikki liimajäljet huolellisesti.
14. Upota objektiivilasi 0,4 x SSC-liuokseen (pH 7,0) 2 minuutiksi 72 °C:n (+/- 1 °C) lämpötilassa ravistamatta.
15. Tyhjennä objektiivilasi ja upota se 30 sekunniksi 2 x SSC-liuokseen ja 0,05 % Tween-20-liuokseen huoneenlämpötilassa (pH 7,0) ravistamatta.
16. Tyhjennä objektiivilasi ja laita kuhunkin näytteeseen 10 µl häipymistä ehkäisevää DAPIa.
17. Peitä peitelasilla, poista mahdolliset kuplat ja anna värin kehittyä pimeässä 10 minuuttia.
18. Tarkastele fluoresenssimikroskoopilla (katso **Fluoresenssimikroskooppisuositus**).

Toimenpidesuosituksukset

1. Objektiivilasiin sintraaminen tai ikäännyttäminen saattaa heikentää signaalien fluoresenssia.
2. Muiden kuin Cytocell Ltd -yhtiön toimittamien tai suosittelemien reagenssien käyttö saattaa vaikuttaa haitallisesti hybridisaatio-olosuhteisiin.
3. Käytä liuosten, vesikylpyjen ja inkubaattorien lämpötilojen mittaamiseen kalibroitua lämpömittaria, sillä nämä lämpötilat ovat ratkaisevan tärkeitä tuotteen optimaalisen suorituskyvyn kannalta.
4. Pesupitoisuudet, pH-arvo ja lämpötilat ovat tärkeitä, sillä liiallinen löyhyys saattaa johtaa koettimen epäspesifiseen sitoutumiseen ja liiallinen ankaruus signaalin puuttumiseen.
5. Epätäydellinen denaturaatio saattaa johtaa signaalien puuttumiseen ja liiallinen denaturaatio saattaa myös johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen.
6. Liiallinen hybridisaatio saattaa johtaa ylimääräisiin tai odottamattomiin signaaleihin.
7. Käyttäjien on optimoitava omien näytteidensä protokolla ennen testin käyttöä diagnostiisiin tarkoituksiin.
8. Suboptimaaliset olosuhteet saattavat johtaa epäspesifiseen sitoutumiseen, jotka saatetaan tulkita koetinsignaaleiksi.

Tulosten tulkitseminen

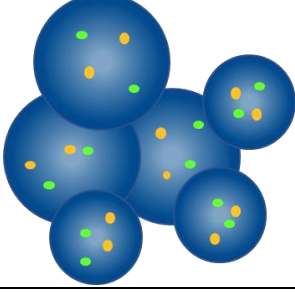
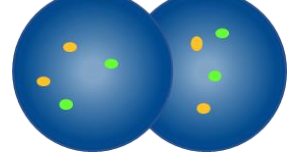
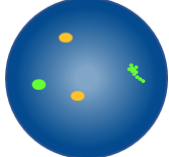
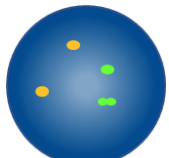
Objektiivilasin laadun arviointi

Objektiivilasia ei tarvitse analysoida, jos:

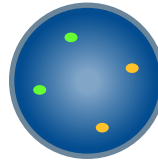
- yksittäisten suodatinten signaalit ovat liian heikkoja analysoitavaksi – jotta analyysia voidaan jatkaa, signaalien on näytävä kirkkaina, selkeinä ja helposti arvioitavina
- analyysia vaikeuttaa suuri määrä yhteen kasautuneita / päällekkäisiä soluja
- >50 % soluista ei ole hybridisoituneita
- solujen välissä on liikaa fluoresoivia hiukkasia ja/tai fluoresoivaa utua, joka häiritsee signaaleita – optimaalisissa objektiivilaseissa taustan pitäisi näkyä tummana tai mustana ja puhtaana
- solun tuman rajoja ei voida erottaa, eivätkä ne ole eheitä.

Analysointiohjeet

- Kahden analyytikon pitäisi analysoida ja tulkita jokainen näyte. Kaikki eriytyvät on annettava kolmannen analyytikon arvioitavaksi.
- Jokaisella analyytikolla on oltava sopiva pätevyys tunnustettujen kansallisten standardien mukaan.
- Jokaisen analyytikon pitäisi saada riippumattomasti riittävästi tumia kustakin näytteestä, jotta analytiikkojen yhdistetyt tulokset täyttävät laitoksen omien alueellisten tai kansallisten ohjeistusten minimikriteerit. Ensimmäisen analyytikon pitäisi käynnistää analyysi objektiivilasin vasemmalta puolelta ja toisen analyytikon oikealta puolelta.
- Kunakin analyytikon on dokumentoitava tuloksiaan erillisillä arkeilla.
- Analysoi vain eheitä tumia, ei päällekkäisiä tai yhteen kasautuneita tumia tai sellaisia tumia, jotka ovat sytoplasmajätteen peitossa tai joissa on runsaasti autofluoresenssia.
- Vältä alueita, joilla on liiallista sytoplasmajätettä tai epäspesifistä hybridisaatiota.
- Signaalien intensiteetti saattaa vaihdella yksittäisenkin tuman kohdalla. Käytä tällaisissa tapauksissa yksittäisiä suodatimia ja/tai säädä fokusosaa.
- Suboptimaalisissa olosuhteissa signaalit saattavat näyttää hajanaisilta. Jos kaksi samanväristä signaalia koskettaa toisiaan, jos niiden välinen etäisyys on enintään yhtä suuri kuin kahden signaalien leveys tai jos kahta signaalia yhdistää heikko säie, katso ne yhdeksi signaaliksi.
- Analysoitaessa kaksivärisiä irrotettavia koettimia signaalit on laskettava muiksi kuin uudelleenjärjestellyiksi/fuusioituneiksi, jos punaisen ja vihreän signaalien välinen rako on enintään kahden signaaleveyden kokoinen.
- Analysoitaessa kolmevärisiä irrotettavia koettimia signaalit on laskettava muiksi kuin uudelleenjärjestellyiksi/fuusioituneiksi, jos jonkin kolmesta signaalista (punainen, vihreä, sininen) välissä on enintään kahden signaaleveyden kokoinen rako.
- Mikäli on epäilystä siitä, voidaanko solu analysoida, älä analysoi sitä.

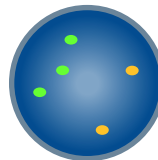
Analysointiohjeet	
	Älä laske – tumat ovat liian lähekkäin, jotta rajoja voisi määrittää
	Älä laske päällekkäisiä tumia – kummankin tuman kaikki alueet eivät ole näkyvissä
	Laske kahdeksi oranssiksi ja kahdeksi vihreäksi signaaliksi – toinen kahdesta vihreästä signaalista on hajanainen
	Laske kahdeksi oranssiksi ja kahdeksi vihreäksi signaaliksi – toisen vihreän signaalien rako on pienempi kuin kaksi signaaleveyttä

Odotettavissa oleva normaali signaalikuvio

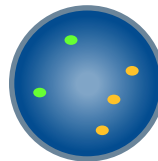


Tavallisessa solussa on odotettavissa kaksi vihreää ja kaksi oranssia signaalia (2V2O).

Odotettavissa oleva(t) epänormaali(t) signaalikuvio(t)



Solussa, jossa on 13-trisomia, on odotettavissa kolme vihreää ja kaksi oranssia signaalia (3V2O).



Solussa, jossa on 21-trisomia, on odotettavissa kaksi vihreää ja kolme oranssia signaalia (2V3O).

Muut signaalikuviot ovat mahdollisia aneuploidisissa/epätasapainoisissa näytteissä.

Tunnetut olennaiset häiriöt / häiritsevät aineet

Ei tunnettuja olennaisia häiriöitä / häiritseviä aineita.

Tunnettu ristireaktiivisuus

Ei tunnettuja ristireaktiivisuutta.

Vakavista vaaratilanteista ilmoittaminen

Potilaan / käyttäjän / kolmannen osapuolen, joka on Euroopan unionissa tai maassa, jossa on vastaava säädös (asetus (EU) 2017/746 *in vitro*-diagnostisista lääkeinnoistavista laitteista), on ilmoitettava valmistajalle ja kansalliselle

toimivaltaiselle viranomaiselle, mikäli tämän laitteen käytön aikana tai sen käytön seurauksena tapahtuu vakava vaaratilanne.

Muissa maissa tapahtuneista vakavista vaaratilanteista on ilmoitettava valmistajalle ja soveltuvin osin kansalliselle toimivaltaiselle viranomaiselle.

Valmistajan yhteystiedot vaaratilanteissa: vigilance@ogt.com

Luettelo vaaratilanteita käsittelevien EU:n kansallisten toimivaltaisten viranomaisten yhteystiedoista on seuraavassa osoitteessa:

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

Erityiset suorituskykyominaisuudet

Analyttinen spesifisyys

Analyttinen spesifisyys on niiden signaalien prosentiosuus, jotka hybridisoidaan oikeaan lokukseen eikä muihin sijainteihin. Neljä kromosomin lokusta jokaisessa 20 metafaasisolussa analysoidaan viidestä näytteestä, jolloin saatiin 400 tietopistettä. Jokaisen hybridisoituneen koettimen paikka kartoitettiin, ja oikeaan lokukseen hybridisoituneiden metafaasikromosomien FISH-signaalien lukumäärä kirjattiin.

Kunkin sarjan koettimen analyttinen spesifisyys laskettiin sellaisten metafaasikromosomien FISH-signaalien määräksi, jotka hybridisoituvat oikeaan lokukseen jaettuna hybridisoituneiden metafaasikromosomien FISH-signaalien kokonaismäärällä. Tulos kerrottiin 100:lla, ilmaistiin prosenttilukuna ja sille määritettiin 95 prosentin luottamusväli.

Taulukko 1. Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit -koetinsarjan analyttinen spesifisyys

Kohde	Hybridisoituneiden metafaasikromosomien lukumäärä	Oikein hybridisoituneiden lokusten lukumäärä	Analyttinen spesifisyys	95 %:n luottamusväli
21q22.1	200	200	100 %	98,12–100 %
13q14.2	200	200	100 %	98,12–100 %

Analyttinen herkkyys

Analyttinen herkkyys on niiden tulosten laskennassa käytettävien interfaasisolujen prosentiosuus, joiden odotettavissa oleva signaalikuviot on normaali. Vähintään 50 interfaasisolua analysoidaan jokaisesta 25 fiksoidusta solususpensiosta, jotka olivat peräisin lapsivesinäytteistä karyotyypiltään normaaleilta miehiltä tai naisilta, joilla oli vahvistettu normaali kromosomien 13 ja 21 komplementti FISH-tuloksen tai karyotyypin mukaan, jolloin saatiin vähintään 1250 tumaa näytetyypistä kohden. Herkkyydetiedot analysoidaan niiden solujen prosentimäärän perusteella, jotka osoittivat normaalia odotettavissa olevaa signaalikuviota, ja tulos ilmaistiin prosentiosuudella sekä 95 prosentin luottamusvälillä.

Taulukko 2. Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit -koetinsarjan analyttinen herkkyys

Näytteen tyyppi	Herkkyuden kriteerit	Herkkyuden tulos
Lapsivesi	>95 %	96,24 % (94,84–97,64 %)

Normaalien raja-arvojen luokittelu

Normaaliksi raja-arvoksi määritettiin niiden solujen prosentiosuus, joissa esiintyi väärä positiivinen signaalikuviot, jolloin henkilöä pidettäisiin normaalina eikä kliinisen diagnoosin mukaisena. Vähintään 50 interfaasisolua analysoidaan jokaisesta 25 fiksoidusta solususpensiosta, jotka olivat peräisin lapsivesinäytteistä karyotyypiltään normaaleilta miehiltä tai naisilta, joilla oli vahvistettu normaali kromosomien 13 ja 21 komplementti FISH-tuloksen tai karyotyypin mukaan, jolloin saatiin vähintään 1250 tumaa näytetyypistä kohden.

Raja-arvo määritettiin käyttäen MS Excelin käänteistä β -funktiota (BETAINV). Se laskettiin niiden interfaasisolujen prosentiosuutena, joissa ilmeni väärä positiivinen signaalikuviot, käyttäen tavallisen potilasnäytteen binomijakauman yksipuolisen 95 prosentin luottamusvälin ylärajaa.

Taulukko 3. Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit -koetinsarjan normaalien raja-arvojen luokittelu

Näytteen tyyppi	Raja-arvojen tulos
Lapsivesi	8,97 %

Laboratorioiden täytyy vahvistaa raja-arvot omilla tiedoillaan kaikkien diagnostisessa tilanteessa sovellettavien laitoksen omien tai alueellisten ohjeiden tai ammatillisten parhaiden käytäntöjen mukaan^{6,7}.

Tarkkuus

Tämän tuotteen tarkkuus on mitattu päivän sisäisellä tarkkuudella (näytteiden kesken), päivien välisellä tarkkuudella (päivien kesken) sekä yhden kohteen erien välisellä tarkkuudella (erien kesken).

Tämän tuotteen tarkkuus arvioitiin kolmella (3) näytteellä: yhtä normaalia lapsivesinäytettä, yhtä 13-trisomian suhteen heikosti positiivista lapsivesinäytettä (3V2O) ja yhtä 21-trisomian suhteen heikosti positiivista lapsivesinäytettä (2V3O). Heikosti positiiviset lapsivesinäytteet valmistettiin käyttämällä normaaliin lapsivesinäytteiden osuutta ja lisäämällä siihen tunnettua positiivista lapsivesinäytettä, jotta saatiin heikosti positiivisia näytteitä, joiden pitoisuus on 2–4x raja-arvo.

Päivien välisen ja päivän sisäisen tarkkuuden määrittämiseksi näytteet arvioitiin 10 ei-peräkkäisen päivän ajalta. Erien välisen tarkkuuden määrittämiseksi kolme (3) tuote-erää arvioitiin kolmesta (3) saman näytteen replikaatista. Tulokset esitettiin yleisenä yhtäpitävyytenä ennakoitujen negatiivisen luokan kanssa (negatiivisten näytteiden osalta).

Taulukko 4. Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit -koetinsarjan uusittavuus ja tarkkuus

Muuttuja	Näytteen tyyppi	Yhtäpitävyys
Päivän sisäinen ja päivien välinen tarkkuus	Lapsivesi, negatiivinen	100 %
	Lapsivesi, heikosti positiivinen 13-trisomia (3V2O)	100 %
	Lapsivesi, heikosti positiivinen 21-trisomia (2V3O)	96,7 %
Erien välinen tarkkuus	Lapsivesi, negatiivinen	88,9 %
	Lapsivesi, heikosti positiivinen 13-trisomia (3V2O)	100 %
	Lapsivesi, heikosti positiivinen 21-trisomia (2V3O)	100 %

Kliininen suorituskyky

Sen määrittämiseksi, havaitseeko tuote aiottuja uudelleenjärjestyksiä, kliininen suorituskyky määritettiin suorittamalla kolme tutkimusta edustaville otoksille tuotteen aiottua populaatioista: 3:1 metanoli/etikahappofiksatiivilla fiksoidusta jäännösmateriaalista, joka oli peräisin raskaudenaikaisista lapsivesinäytteistä. Tutkimuksen otannan koko oli 172 näytettä ja populaatio 15 positiivista ja 157 negatiivista näytettä 13-trisomian suhteen ja yhteensä 109 positiivista ja 63 negatiivista näytettä 21-trisomian suhteen. Tuloksia verrattiin näytteen tunnettuun tilaan. Koetin tunnisti oikein näytteiden tilan kaikissa tapauksissa.

Näiden testien tulokset analysoidaan, jotta saatiin kliinisen herkkyyden, kliinisen spesifisyyden ja väärin positiivisten osuuden (FPR) arvot positiivisille signaaleille, käyttäen yksidimensionaalista lähestymistapaa.

Taulukko 5. Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit -koetinsarjan kliininen suorituskyky

Muuttuja	Tulos
Kliininen herkkyys (oikeiden positiivisten osuus, TPR)	100,0 %
Kliininen spesifisyys (oikeiden negatiivisten osuus, TNR)	100,0 %
Väärin positiivisten osuus (FPR) = 1 – spesifisyys	0,00 %

Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyvystä (SSP)

SSP tulee yleisön saataville eurooppalaisen lääkinällisten laitteiden tietokannan (Eudamed) kautta, mistä se on haettavissa Basic UDI-DI -tunnisteella.

Eudamedin URL-osoite: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Basic UDI-DI: 50558449LPA003GL

Jos Eudamed ei ole täysin toiminnallinen, SSP saatetaan yleisön saataville pyynnöstä sähköpostitse osoitteeseen SSP@ogt.com.

Lisätietoja

Tuotteita koskevia lisätietoja on saatavilla ottamalla yhteyttä CytoCell teknisen tuen osastoon.3-site Inter

Puh.: +44 (0)1223 294048















Sähköposti: techsupport@cytozell.com

Verkkosivut: www.ogt.com

Viitteet

- 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, M.J. 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.

Symbolisanasto

EN ISO 15223-1:2021 – ”Lääkinnälliset laitteet – Valmistajan toimittamissa tiedoissa käytettävät symbolit. Osa 1: Yleiset vaatimukset” (© International Organization for Standardization)		
Symboli	Nimike	Viitenumero(t)
	fi: Valmistaja	5.1.1
	fi: Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisön / Euroopan unionin alueella	5.1.2
	fi: Käytön eräpäivä	5.1.4
	fi: Eräkoodi	5.1.5
	fi: Kuvastonumero	5.1.6
	fi: Pidettävä poissa auringonvalosta	5.3.2
	fi: Lämpötilaraja	5.3.7
	fi: Tutustu käyttöohjeisiin	5.4.3
 ogt.com/IFU	fi: Tutustu sähköisiin käyttöohjeisiin	5.4.3
	fi: Huomio	5.4.4
	fi: <i>In vitro</i> -diagnostinen lääkinällinen laite	5.5.1
	fi: Riittävä sisältö <n> testiin	5.5.5
	fi: Yksilöllinen laitetunniste	5.7.10
IVD-reagensseja ja -osia koskevat EDMA-symbolit, lokakuun 2009 versio		
Symboli	Nimike	Viitenumero(t)
	fi: Sisältö (tai sisältää)	–

Patentit ja tavaramerkit

CytoCell on CytoCell Limited -yhtiön rekisteröity tavaramerkki.



CytoCell Limited
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
YHDISTYNYT KUNINGASKUNTA

Puh.: +44 (0)1223 294048
F: +44 (0)1223 294986
Sähköposti: probes@cytoCell.com
Verkkosivut: www.ogt.com



Sysmex Europe SE
Bornbarch 1
22848 Norderstedt
SAKSA

Puh.: +49 40 527260
Verkkosivut: www.sysmex-europe.com

Käyttöohjeen versiohistoria

V001.00 2023-01-11: Uusi käyttöohje asetuksen (EU) 2017/746 vuoksi.