



A Sysmex Group Company



Instrucciones de uso (IFU)

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

Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit



SOLO PARA USO PROFESIONAL



Más información y otros idiomas disponibles en ogt.com/IFU

Uso previsto

El kit CytoCell® Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit es un ensayo cualitativo no automatizado de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) que permite detectar las regiones cromosómicas 13q14.2 y 21q22.1 en células derivadas de muestras de líquido amniótico fijadas en solución fijadora de Carnoy (3:1 metanol/ácido acético) durante la enumeración de los cromosomas 13 y 21 en embarazos de alto riesgo en los que se sospecha la presencia de síndrome de Down o de Patau.

Indicaciones de uso

Este dispositivo se ha diseñado como complemento de otras pruebas clínicas y de laboratorio en protocolos diagnósticos clínicos reconocidos, como las pruebas de detección ecográficas y bioquímicas, en los que el conocimiento del estado de número de copias de las regiones cromosómicas 13q14.2 y 21q22.1 resultaría relevante para el tratamiento del paciente.

Limitaciones

El dispositivo se ha diseñado para detectar el material cromosómico que se encuentra en las regiones cromosómicas 13q14.2 y 21q22.1 cubiertas por los clones verde y naranja, respectivamente, de este conjunto de sondas. Es posible que con este dispositivo no se detecten ganancias o pérdidas genómicas fuera de estas regiones ni ganancias o pérdidas parciales de las mismas.

El dispositivo no se ha concebido para: su uso como única prueba de diagnóstico, su uso como prueba de diagnóstico complementaria, como cribado de poblaciones, llevar a cabo pruebas en uno mismo o con el paciente presente ni se ha validado con tipos de muestras, tipos de enfermedades ni finalidades que no sean las que se describen en el uso previsto.

Este dispositivo se ha concebido como prueba complementaria de otras pruebas diagnósticas de laboratorio, y no se deben poner en práctica las opciones de tratamiento únicamente basándose en el resultado de la prueba FISH.

La interpretación de los resultados de FISH y la elaboración de informes al respecto debe llevarlas a cabo el personal debidamente cualificado, debe ser coherente con las normativas de la práctica profesional y es necesario que se tengan en cuenta los resultados de otras pruebas pertinentes, así como otra información clínica y de diagnóstico.

El dispositivo está destinado exclusivamente para uso profesional en laboratorio. No respetar el protocolo puede afectar al rendimiento de la prueba y dar lugar a resultados falsos positivos y negativos.

Principios de la prueba

La hibridación *in situ* fluorescente (FISH) es un método que permite la detección de secuencias de ADN en los cromosomas de la metafase o en los núcleos de la interfase de muestras citogenéticas fijadas. Este método emplea sondas de ADN que se hibridan con cromosomas completos o secuencias sencillas únicas, y sirve como prueba complementaria de gran utilidad al análisis citogenético con bandas G. El método se puede aplicar ahora como herramienta esencial de investigación en el análisis cromosómico prenatal, hematológico y de tumores sólidos. El ADN diana, tras la fijación y desnaturalización, queda disponible para su alineamiento

con una sonda de ADN con marcado fluorescente y desnaturalizada de forma parecida que cuente con la secuencia complementaria. Después de la hibridación, se elimina la sonda de ADN que no se ha fijado y cuya fijación no es específica y se lleva a cabo una contratinción del ADN para su visualización. La microscopía de fluorescencia permite entonces la visualización de la sonda hibridada con el material diana.

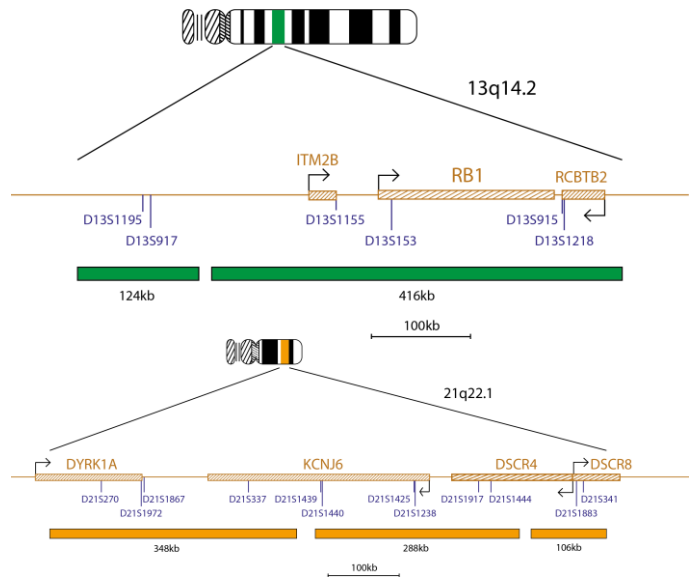
Información sobre la sonda

El síndrome de Down (SD) es una trisomía autosómica que provoca la presencia de una tercera copia (parcial o total) del cromosoma 21 y que se caracteriza por diferentes discapacidades intelectuales, hipotonía muscular y laxitud articular, a menudo asociadas a un dismorfismo facial característico y a varias anomalías, como las lesiones cardíacas, gastrointestinales, neurosensoriales o endocrinas^{1,2}. El síndrome de Down es una de las principales causas de la presencia de discapacidades intelectuales a nivel mundial y los pacientes se enfrentan a diferentes problemas de salud, como las enfermedades que afectan al ámbito del aprendizaje y la memoria, las cardiopatías congénitas (CHD, por sus siglas en inglés), las enfermedades de Alzheimer, la leucemia, diferentes tipos de cáncer y la enfermedad de Hirschsprung (HD)¹. El síndrome de Down se caracteriza por su elevada complejidad genética y su variabilidad fenotípica¹. En la semana 16 de gestación, la incidencia de embarazos de síndrome de Down es de 1 en 1050 en madres con una edad de 20 años; de 1 en 620 en madres con 30 años y de 1 en 70 en madres con 40 años de edad³.

El síndrome de Patau es una anomalía cromosómica que provoca la presencia de un cromosoma 13 adicional y se caracteriza por las malformaciones cerebrales (holoprosencefalia), el dismorfismo facial, las anomalías oculares, la polidactilia ostaxial, malformaciones en los órganos (cardiopatías) y retraso psicomotor grave². El síndrome de Patau se asocia con la holoprosencefalia fenotípica y las anomalías en la fusión de la línea media que provoca la fusión defectuosa del mesodermo precordial en la fase embrionaria⁴. En la semana 16 de gestación, la incidencia de embarazos de síndrome de Patau es de 1 en 11.000 en madres con una edad de 20 años; de 1 en 6500 en madres con 30 años y de 1 en 700 en madres con 40 años de edad³.

Especificación de la sonda

Secuencia única 13, 13q14.2 en verde
Secuencia única 21, 21q22.1 en naranja



La mezcla de la sonda verde contiene una sonda de 124 kb y una sonda de 416 kb que abarcan los genes *ITM2B*, *RB1* y *RCBTB2*. La mezcla de la sonda naranja cubre una región de 21q22.1 desde el gen *DYRK1A* hasta el gen *DSCR8*.

Materiales suministrados

Sonda: 50 µl en cada vial (5 pruebas) o 100 µl en cada vial (10 pruebas). Las sondas se suministran premezcladas en disolución de hibridación (< 65 % de formamida; < 20 mg de sulfato de dextrano; < 10 % de citrato de sodio salino [SSC] a 20x) y vienen listas para su uso.

Contratinción: 150 µl en cada vial (15 pruebas)

La tinción de contraste es DAPI Antifade ES (0,125 µg/ml DAPI [4,6-diamidino-2-fenilindol] en medio de fijación basado en glicerol).

Advertencias y precauciones

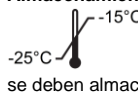
- Destinado a su uso en diagnóstico *in vitro*. Exclusivamente para uso profesional en laboratorio.
- Los fijadores de la sonda contienen formamida, un teratógeno; no inhale los gases ni permita que se ponga en contacto con la piel. Manipule el contenido con precaución; lleve siempre puestos los guantes y la bata de laboratorio.
- Manipule el contenido de DAPI con precaución; lleve siempre puestos los guantes y la bata de laboratorio.
- No utilice los viales si están dañados o su integridad se ha puesto en riesgo de cualquier modo.

- Cumpla con las normas nacionales relativas a la eliminación de residuos y con las recomendaciones de la ficha de datos de seguridad para eliminar de forma segura este producto. Esta instrucción también es pertinente si el contenido del kit de la prueba está dañado.
- Elimine todos los reactivos usados y cualquier otro material desechable contaminado según los procedimientos vigentes para residuos infecciosos o potencialmente infecciosos. El laboratorio es el responsable de la manipulación de los residuos sólidos y líquidos según su naturaleza y nivel de peligrosidad, así como de su tratamiento y eliminación (ya sea por cuenta propia o a través de terceros) de acuerdo con la normativa vigente.
- Los usuarios deben ser capaces de distinguir los colores rojo, verde y azul.
- No respetar el protocolo o los reactivos descritos puede afectar al rendimiento de la prueba y dar lugar a resultados falsos positivos y negativos.
- La sonda no se debe diluir ni mezclar con otras sondas.
- Si no se utilizan 10 µl de la sonda durante el paso previo a la desnaturalización del protocolo, el rendimiento se puede ver afectado y se pueden obtener resultados falsos positivos o negativos.
- Todos los productos se deben validar antes de utilizarlos.
- Los controles internos se deben llevar a cabo con poblaciones celulares intactas en las muestras de la prueba.

Definiciones de temperatura

- 20 °C/congelado/en el congelador: -25 a -15 °C
- 37 °C: +37 ± 1 °C
- 72 °C: +72 ± 1 °C
- 75 °C: +75 ± 1 °C
- Temperatura ambiente (TA): +15 a +25 °C

Almacenamiento y manipulación

 El kit debe conservarse en un congelador a una temperatura de entre -25 °C y -15 °C hasta la fecha de caducidad que se indica en la etiqueta del kit. Los viales de la sonda y la contratincción se deben almacenar en un lugar oscuro.



La sonda FISH, la tinción de contraste DAPI Antifade ES y la solución de hibridación conservan la estabilidad a lo largo de los siguientes ciclos de congelación y descongelación que experimentan durante su uso rutinario (en el que un ciclo consta de la retirada del vial del refrigerador y su reintroducción): 5 ciclos en el caso del vial de 50 µl (5 pruebas) de sonda FISH;

10 ciclos en el caso del vial de 100 µl (10 pruebas) de sonda FISH; y 15 ciclos en el caso del vial de 150 µl (15 pruebas) de tinción de contraste. La exposición a la luz se debe reducir al máximo y se debe evitar en la medida de lo posible. Guarde los componentes en el recipiente protegido frente a la luz que se suministra. Es posible que el rendimiento de los componentes usados y guardados en condiciones diferentes a las que se describen en el etiquetado no sea el previsto y puede afectar de forma negativa a los resultados del ensayo. Se deben tomar las precauciones necesarias para limitar su exposición a los cambios de iluminación y temperatura.

Equipo y materiales necesarios pero no suministrados

Se deben utilizar equipos calibrados:

- Placa térmica (con una placa sólida y un control de temperatura preciso con un máximo de 80 °C)
- Micropipetas y puntas de volumen variable calibradas de entre 1 µl y 200 µl
- Baños de agua con control de temperatura preciso entre 37 °C y 72 °C
- Tubos de microcentrífuga (0,5 ml)
- Microscopio de fluorescencia (consulte la sección en materia de Recomendaciones sobre microscopios de fluorescencia)
- Microscopio de contraste de fases
- Jarras de Coplin limpias de plástico, cerámica o vidrio resistente al calor
- Fórceps
- Medidor de pH calibrado (o tiras indicadoras del pH capaces de medir un pH de entre 6,5 y 8,0)
- Recipiente humidificado
- Aceite de inmersión para lentes de microscopio de calidad de fluorescencia
- Centrífuga de sobremesa
- Portaobjetos para microscopio
- Cubreobjetos de 24 x 24 mm
- Cronómetro
- Incubadora a 37 °C
- Solución adhesiva de caucho
- Mezclador vórtex
- Cilindros graduados
- Agitador magnético
- Termómetro calibrado

Equipo opcional no suministrado

- Cámara de secado de citogenética

Reactivos necesarios pero no suministrados

- Solución de citrato de sodio salino (SSC) a 20x
- Etanol al 100 %
- Tween-20
- Hidróxido sódico (NaOH) 1 M
- Ácido clorhídrico (HCl) 1 M
- Agua purificada

Recomendaciones sobre microscopios de fluorescencia

Utilice una lámpara de mercurio de 100 vatios o equivalente y objetivos apocromáticos de plan de inmersión en aceite de 60/63x o 100x para conseguir

una visualización óptima. Los fluoróforos de este juego de sonda se excitan y emiten en las siguientes longitudes de onda:

Fluoróforo	Excitación _{máx.} [nm]	Emisión _{máx.} [nm]
Verde	495	521
Naranja	551	572

Compruebe que se han instalado en el microscopio los filtros de emisión y excitación correspondientes que abarquen las longitudes de onda enumeradas anteriormente. El filtro de paso de banda triple DAPI/FITC/TRITC es óptimo para ver los fluoróforos verdes y naranjas, así como la tinción de contraste simultáneamente. El filtro de paso de banda triple DAPI/FITC/Texas Red también puede servir para visualizar ambos fluoróforos y DAPI de forma simultánea.

Compruebe que el microscopio de fluorescencia funciona correctamente antes de utilizarlo. Utilice aceite de inmersión adecuado para la microscopía fluorescente y que se haya formulado con una autofluorescencia baja. Evite la mezcla del montante de fluorescencia DAPI con el aceite de inmersión, ya que puede ocultar las señales. Siga las recomendaciones del fabricante en cuanto a la vida útil de la lámpara y de la antigüedad de los filtros.

Preparación de las muestras

El kit se ha diseñado para su uso con células procedentes de líquido amniótico fijadas en solución fijadora de Carnoy (3:1 metanol/ácido acético), que se hayan preparado de acuerdo con las directrices del laboratorio o de la institución correspondientes, para la enumeración de los cromosomas 13 y 21 en los embarazos de alto riesgo en los que se sospecha la presencia de los síndromes de Down o de Patau. La extracción de las muestras de líquido amniótico se debe llevar a cabo de acuerdo con las directrices del laboratorio o de la institución. No deben utilizarse muestras con aspecto sanguinolento o de color marrón, dado que pueden contener sangre materna y pueden dar lugar a resultados incorrectos. Prepare las muestras secadas al aire en portaobjetos para microscopio según los procedimientos normativos de citogenética. El manual de AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* contiene recomendaciones en cuanto a la recogida de muestras, su cultivo, su extracción y su colocación en portaobjetos⁵.

Preparación de soluciones

Soluciones de etanol

Diluya etanol al 100 % en agua purificada con las siguientes proporciones y mezcle minuciosamente:

- Etanol al 70 %: 7 partes de etanol al 100 % y 3 partes de agua purificada
 - Etanol al 85 %: 8,5 partes de etanol al 100 % y 1,5 partes de agua purificada
- Conserve las soluciones durante un plazo máximo de 6 meses a temperatura ambiente en un recipiente cerrado herméticamente.

Solución 2xSSC

Diluya 1 parte de solución 20xSSC en 9 partes de agua purificada y mezcle minuciosamente. Compruebe el pH y ajústelo a 7,0 mediante NaOH o HCl si fuera necesario. Conserve la solución durante un plazo máximo de 4 semanas a temperatura ambiente en un recipiente cerrado herméticamente.

Solución 0,4xSSC

Diluya 1 parte de solución 20xSSC en 49 partes de agua purificada y mezcle minuciosamente. Compruebe el pH y ajústelo a 7,0 mediante NaOH o HCl si fuera necesario. Conserve la solución durante un plazo máximo de 4 semanas a temperatura ambiente en un recipiente cerrado herméticamente.

Solución 2xSSC, Tween-20 al 0,05 %

Diluya 1 parte de solución 20xSSC en 9 partes de agua purificada. Añada 5 µl de Tween-20 por cada 10 ml y mezcle minuciosamente. Compruebe el pH y ajústelo a 7,0 mediante NaOH o HCl si fuera necesario. Conserve la solución durante un plazo máximo de 4 semanas a temperatura ambiente en un recipiente cerrado herméticamente.

Tratamiento previo del portaobjetos recomendado⁵.

- Sumerja el portaobjetos preparado a partir de las células procedentes de muestras de líquido amniótico fijadas con metanol y ácido acético en una proporción de 3:1 en SSC a 2x durante una hora a 37 °C.
- Coloque el portaobjetos en una solución de trabajo con pepsina recién elaborada (5 mg de pepsina que se incorpora a 100 ml de HCl 0.01 M) durante 13 minutos a 37 °C.
- Sumerja el portaobjetos en tampón fosfato salino (PBS, por sus siglas en inglés) a temperatura ambiente (TA) durante 5 minutos.
- Sumerja el portaobjetos en una solución posterior a la fijación (formaldehído al 0,95 %: 1,0 ml de formaldehído al 37 %, 0,18 g de MgCl₂ y 39,0 ml de PBS) durante 5 minutos a temperatura ambiente.
- Sumerja el portaobjetos en tampón fosfato salino, a temperatura ambiente (TA) durante 5 minutos.
- Sumerja el portaobjetos en etanol al 70 % a temperatura ambiente. Deje que el portaobjetos permanezca en el lavado de etanol durante 2 minutos.
- Retire el portaobjetos del etanol al 70 %. Repita el paso 6 con etanol al 80 % y, posteriormente, con etanol al 100 %.
- Deje que se seque al aire.

Protocolo FISH

(Nota: Asegúrese de limitar la exposición de la sonda y la tinción de contraste a la luz del laboratorio en todo momento).

Preparación de los portaobjetos (sáltese este paso si el portaobjetos se ha sometido al tratamiento previo según el protocolo que se ha mencionado anteriormente)

1. Coloque la muestra celular en un portaobjetos de vidrio para microscopio. Deje que se seque. (**Opcional si se emplea una cámara de secado de citogenética:** La cámara debe estar funcionando a una temperatura aproximada de 25 °C y un 50 % de humedad para que la colocación de las muestras celulares sea óptima. Si no se dispone de una cámara de secado de citogenética, recurra de forma alternativa a una campana de extracción).
2. Sumerja el portaobjetos en 2xSSC durante 2 minutos a temperatura ambiente (TA) sin agitarlo.
3. Deshidrátelo mediante series de baños de etanol (al 70 %, al 85 % y al 100 %) con una duración de 2 minutos cada uno a TA.
4. Deje que se seque.

Paso previo a la desnaturalización

5. Saque la sonda del congelador y deje que alcance la TA. Centrifugue los tubos brevemente antes de usarlos.
6. Compruebe que la solución de la sonda se ha mezclado uniformemente con una pipeta.
7. Extraiga 10 µl de sonda por cada prueba y transfírela a un tubo de microcentrífuga. Vuelva a poner el resto de la sonda de inmediato en el congelador.
8. Coloque la sonda y el portaobjetos con la muestra en una placa térmica a 37 °C (+/- 1 °C) para precalentarla durante 5 minutos.
9. Coloque 10 µl de la mezcla de la sonda en la muestra celular y aplique con cuidado el cubreobjetos. Séllelo con solución adhesiva de caucho y deje que se seque completamente la solución adhesiva.

Desnaturalización

10. Desnaturalice la muestra y la sonda al mismo tiempo mediante el calentamiento del portaobjetos en una placa térmica a 75 °C (+/- 1 °C) durante 2 minutos.

Hibridación

11. Deje el portaobjetos en un recipiente húmedo y protegido frente a la luz a 37 °C (+/- 1 °C) durante toda la noche.

Lavados posteriores a la hibridación

12. Saque el DAPI del congelador y deje que alcance la TA.
13. Retire el cubreobjetos y todos los restos de solución adhesiva con cuidado.
14. Sumerja el portaobjetos en solución 0,4xSSC (a pH 7,0) a 72 °C (+/- 1 °C) durante 2 minutos sin agitarlo.
15. Escurra el portaobjetos y sumérjalo en solución Tween-20 al 0,05 %, 2xSSC a TA (pH de 7,0) durante 30 segundos sin agitarlo.
16. Escurra el portaobjetos y añada 10 µl de montante de fluorescencia DAPI en cada muestra.
17. Aplique un cubreobjetos, elimine las burbujas y deje que se desarrolle el color en la oscuridad durante 10 minutos.
18. Visualice el portaobjetos con un microscopio de fluorescencia (consulte **Recomendaciones sobre microscopios de fluorescencia**).

Recomendaciones sobre el procedimiento

1. El horneado o el curado de los portaobjetos puede reducir la señal de fluorescencia.
2. Las condiciones de hibridación se pueden ver afectadas negativamente por el uso de reactivos diferentes de aquellos que suministra o recomienda Cytocell Ltd.
3. Se recomienda usar un termómetro calibrado para medir las temperaturas de las disoluciones, los baños María y las incubadoras, ya que estas temperaturas son cruciales para el funcionamiento óptimo del producto.
4. Las concentraciones, el pH y las temperaturas de los lavados son importantes, puesto que su aplicación laxa puede provocar una unión no específica de la sonda, mientras que una aplicación excesivamente restrictiva puede derivar en la falta de la señal.
5. Una desnaturalización incompleta puede ocasionar falta de señal y una desnaturalización excesiva también puede redundar en unión no específica.
6. La hibridación excesiva puede dar lugar a señales adicionales o inesperadas.
7. Los usuarios deberán optimizar el protocolo de sus muestras antes de utilizar el ensayo con fines diagnósticos.
8. Unas condiciones deficientes podrían producir una unión no específica, la cual podría malinterpretarse como una señal de la sonda.

Interpretación de los resultados

Evaluación de la calidad del portaobjetos

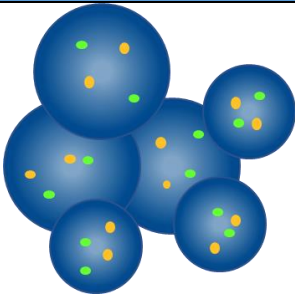
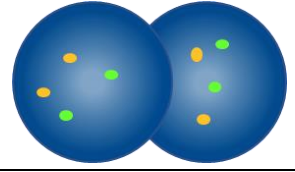
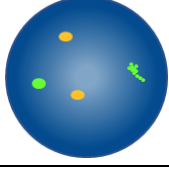
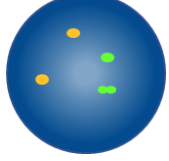
No se debe analizar el portaobjetos en los siguientes casos:

- Las señales son demasiado débiles para analizarlas en filtros únicos: para poder continuar con el análisis, las señales deben presentarse brillantes y diferenciadas, y hay que poder evaluarlas fácilmente
- Existe una gran cantidad de acumulaciones de células o superposiciones que impiden el análisis
- No se ha hibridado > 50 % de las células
- Hay un exceso de partículas fluorescentes entre las células o un haz fluorescente que interfiere con las señales: en los portaobjetos con calidad óptima, el fondo debe aparecer oscuro o negro y limpio
- Los bordes del núcleo celular no se pueden diferenciar y no se encuentran intactos

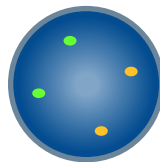
Directrices para el análisis

- Dos analistas deberían analizar e interpretar cada una de las muestras. Se deben resolver las posibles discrepancias mediante la evaluación por parte de un tercer analista

- Cada uno de los analistas debe contar con la cualificación correspondiente para conocer las normativas nacionales
- Cada uno de los analistas debe puntuar de forma independiente los núcleos de cada muestra de forma que las puntuaciones de los analistas combinadas cumplan los criterios mínimos que se especifican en las pautas institucionales, regionales o nacionales. El primer analista debe comenzar el análisis desde el lateral izquierdo del portaobjetos y el segundo, desde el derecho.
- Cada uno de los analistas debe documentar los resultados en hojas independientes
- Se deben analizar únicamente los núcleos que se encuentren intactos, no los que se superpongan o contengan acumulaciones, ni tampoco aquellos núcleos que se encuentren cubiertos por residuos citoplasmáticos o contengan un elevado grado de autofluorescencia
- Se deben evitar las zonas en las que hay un exceso de residuos citoplasmáticos o una hibridación no específica
- La intensidad de la señal puede variar, incluso dentro del mismo núcleo. En estos casos, utilice filtros únicos o ajuste el plano focal
- En condiciones inferiores a las óptimas, la señal puede presentarse difusa. Se debe contar una sola señal cuando dos señales del mismo color se tocan; cuando la distancia entre ellas no sea superior a dos anchuras de señal o en caso de que haya un hilo débil que conecte dos señales
- Si, al analizar las sondas de ruptura de dos colores, se observa una separación entre las señales roja y verde no superior al ancho de 2 señales, se contabilizará como una señal reordenada o fusionada
- Si, al analizar las sondas de translocación de tres colores, se observa una separación entre cualquiera de las 3 señales (roja, verde, azul) no superior al ancho de 2 señales, se contabilizará como una señal sin reordenamiento/fusión
- Se habrán de descartar todas aquellas células cuyo análisis plantee dudas

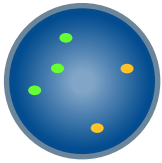
Directrices para el análisis	
	No cuente los núcleos que se encuentren tan cerca que no sea posible establecer los límites entre ellos
	No cuente los núcleos que se solapan: todas las zonas de ambos núcleos no son visibles
	Cuente dos señales naranjas y dos señales verdes: si una de las dos señales verdes es difusa
	Cuente dos señales naranjas y dos señales verdes: si la separación en una de las señales verdes es inferior al ancho de dos señales

Patrón de señal normal previsto

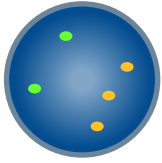


En una célula normal, está previsto que se observen dos señales verdes y dos naranjas (2V2N).

Patrón(es) previsto(s) de señales anómalas



En una célula con trisomía 13, está previsto que se observen tres señales verdes y dos naranjas (3V2N).



En una célula con trisomía 21, está previsto que se observen dos señales verdes y tres naranjas (2V3N).

Es posible que se detecten otros patrones de señal en muestras aneuploides o descompensadas.

Interferencias pertinentes conocidas/sustancias interferentes

Interferencias pertinentes conocidas/sustancias interferentes.

Reactividad cruzada conocida

No se ha detectado ninguna reactividad cruzada.

Elaboración de informes sobre incidentes graves

En el caso de los pacientes, los usuarios y terceros de la Unión Europea y de países con un régimen normativo idéntico (Reglamento [UE] 2017/746 sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*); si durante el uso del dispositivo, o como resultado de este, se produce un incidente grave, comuníquelo al fabricante y a la autoridad nacional competente.

En el caso de que se produzcan incidentes graves en otros países, comuníquelo al fabricante y, según corresponda, a la autoridad nacional competente.

Contacto de vigilancia del fabricante: vigilance@ogt.com

En el caso de las autoridades competentes nacionales de la UE, puede encontrar una lista de los puntos de contacto de vigilancia en:

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

Características específicas de rendimiento

Especificidad analítica

La especificidad analítica se define como el porcentaje de señales que hibridan en el locus correcto y en ninguna otra ubicación. Se analizaron cuatro loci cromosómicos en cada una de las 20 células en metafase de cinco muestras, de los que se obtuvieron 400 puntos de datos. Se trazó la ubicación de cada sonda hibridada y se registró la cantidad de señales FISH de cromosomas en metafase que hibridaron con el locus correcto.

Se calculó la especificidad analítica de cada sonda del kit mediante la división del número de señales FISH de cromosomas en metafase que hibridaron con el locus correcto entre el número total de señales FISH de cromosomas en metafase hibridadas y multiplicando el resultado por 100 para expresarlo como porcentaje y con un intervalo de confianza del 95 %.

Tabla 1. Especificidad analítica de Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Diana	Número de cromosomas en metafase hibridados	Número de loci hibridados correctamente	Especificidad analítica	Intervalo de confianza del 95 %
21q22.1	200	200	100 %	98,12 %-100 %
13q14.2	200	200	100 %	98,12 %-100 %

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica es el porcentaje de células en interfase que se pueden puntuar con el patrón de señal normal previsto. Se analizaron 50 células en interfase como mínimo por cada una de las 25 suspensiones fijadas de células de muestras de líquido amniótico de varones o mujeres con cariotipo normal que se hubiera confirmado que contaban con un complemento normal de los cromosomas 13 y 21 mediante FISH o cariotipo y que dieron como resultado un mínimo de 1250 núcleos con puntuación asignada por cada tipo de muestra. Los datos de sensibilidad se analizaron en función del porcentaje de células que mostraron un patrón de señal normal previsto y se expresaron en porcentaje con un intervalo de confianza del 95 %.

Tabla 2. Sensibilidad analítica de Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Tipo de muestra	Criterios de sensibilidad	Resultado de sensibilidad
Líquido amniótico	> 95 %	96,24 % (94,84-97,64 %)

Caracterización de los valores de corte normales

El valor de corte normal se define como el porcentaje de células que presenta un patrón de señal falso positivo por el que un individuo se consideraría normal y no sería coherente con un diagnóstico clínico. Se analizaron 50 células en interfase como mínimo por cada una de las 25 suspensiones fijadas de células de muestras de líquido amniótico de varones o mujeres con cariotipo normal que se hubiera confirmado que contaban con un complemento normal de los cromosomas 13 y 21 mediante FISH o cariotipo y que dieron como resultado un mínimo de 1250 núcleos con puntuación asignada por cada tipo de muestra.

El valor de corte se estableció mediante la función β inversa (BETAINV) de MS Excel. Se calculó como el porcentaje de células en interfase que presentaron un patrón de señal falso positivo con el límite superior de un intervalo de confianza del 95 % unilateral de la distribución binomial en una muestra normal de paciente.

Tabla 3. Caracterización de los valores de corte normales de Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Tipo de muestra	Resultado del corte
Líquido amniótico	8,97 %

Los laboratorios deben verificar los valores de corte con sus propios datos y según las pautas de las prácticas recomendadas profesionales, de la institución o de la región que correspondan a sus entornos de diagnóstico^{6,7}.

Precisión

La precisión de este producto se ha medido en cuanto a la precisión intradía (entre muestras), la precisión entre días (de un día a otro día) y la precisión en el mismo centro y entre lotes (de un lote a otro lote).

Se utilizaron tres (3) muestras para la evaluación de la precisión del producto: una de líquido amniótico normal, una de líquido amniótico con baja positividad en trisomía 13 (3V2N) y una de líquido amniótico con baja positividad a la trisomía 21 (2V3N). Las muestras de líquido amniótico con positividad baja se elaboraron mediante una proporción de muestra de líquido amniótico normal en la que se inoculó una muestra de líquido amniótico con positividad conocida con el objetivo de crear una muestra con positividad baja en el intervalo de entre 2 y 4 veces el valor de corte.

Para establecer la precisión intradía y entre días, las muestras se evaluaron en 10 fechas no consecutivas y, para establecer la precisión entre tres (3) lotes, se evaluaron tres lotes del producto en tres (3) réplicas de las mismas muestras. Los resultados se presentaron como la concordancia global con la clase negativa prevista (para las muestras negativas).

Tabla 4. Reproducibilidad y precisión de Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Variable	Tipo de muestra	Concordancia
Precisión intradía y entre días	Líquido amniótico negativo	100 %
	Líquido amniótico con positividad baja en trisomía 13 (3V2N)	100 %
	Líquido amniótico con positividad baja en trisomía 21 (2V3N)	96,7 %
De un lote a otro lote intradía y entre días	Líquido amniótico negativo	88,9 %
	Líquido amniótico con positividad baja en trisomía 13 (3V2N)	100 %
	Líquido amniótico con positividad baja en trisomía 21 (2V3N)	100 %

Rendimiento clínico

Para garantizar que el producto detecta las reorganizaciones previstas, se definió el rendimiento clínico mediante tres estudios de muestras representativas de la población prevista para el producto: Material residual fijado con metanol y ácido acético en una proporción de 3:1 procedente de muestras de líquido amniótico prenatal. El conjunto de muestras del estudio contaba con 172 muestras, con una población de 15 muestras positivas en trisomía 13 y 157 muestras negativas en trisomía 13 y un total de 109 muestras positivas en trisomía 21 y 63 muestras negativas en trisomía 21. Los resultados se compararon con el estado conocido de la muestra. La sonda identificó correctamente el estado de las muestras en todos los casos.

Los resultados de todas las pruebas se analizaron a fin de facilitar la sensibilidad clínica, la especificidad clínica y los valores del índice de falsos positivos (IFP) de las señales positivas mediante un enfoque unidimensional.

Tabla 5. Rendimiento clínico de Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe Kit

Variable	Resultado
Sensibilidad clínica (índice de positivo verdadero, IPV)	100,0 %
Especificidad clínica (índice de negativo verdadero, INV)	100,0 %
Índice de falso positivo (IFP) = 1: especificidad	0,00 %

Resumen de seguridad y rendimiento (SSP, por sus siglas en inglés)

El resumen de seguridad y rendimiento se pondrá a disposición del público a través de la base de datos europea sobre productos sanitarios (Eudamed), donde está vinculado al UDI-DI básico.

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

UDI-DI básico: 50558449LPA003GL

Si Eudamed no funciona en su totalidad, el resumen de seguridad y rendimiento se puede poner a disposición de los usuarios a través de una solicitud que deberá enviarse por correo electrónico a SSP@ogt.com.

Información adicional

Para obtener información adicional sobre el producto, póngase en contacto con el departamento de asistencia técnica de CytoCell.

Tel.: +44 (0) 1223 294048















Correo electrónico: techsupport@cytozell.com

Sitio web: www.ogt.com

Referencias

1. 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/>
2. Gardner, R. and Amor, D. Gardner and Sutherland's Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling. 5th ed: OUP USA, 2018
3. Noriega MA, Siddik AB. s.l. Trisomy 13: StatPearls[Internet], Treasure Island[FL], updated 2021.
4. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
5. 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.
6. 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.

Glosario de símbolos

EN ISO 15223-1:2021: "Productos sanitarios. Símbolos a utilizar con la información a suministrar por el fabricante. Parte 1: Requisitos generales." (© International Organization for Standardization)		
Símbolo	Título	Referencia(s)
	es: Fabricante	5.1.1
	es: Representante autorizado en la Comunidad Europea/Unión Europea	5.1.2
	es: Fecha de caducidad	5.1.4
	es: Número de lote	5.1.5
	es: Número de catálogo	5.1.6
	es: Mantener alejado de la luz solar	5.3.2
	es: Límite de temperatura	5.3.7
	es: Consulte las instrucciones de uso	5.4.3
 ogt.com/IFU	es: Consulte la versión electrónica de las instrucciones de uso	5.4.3
	es: Precaución	5.4.4
	es: Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>	5.5.1
	es: Contiene cantidad suficiente para <n> pruebas	5.5.5
	es: Identificador único del producto	5.7.10
Símbolos de la EDMA para reactivos y componentes de IVD, revisión de octubre de 2009		
Símbolo	Título	Referencia(s)
	es: Contenido (o contiene)	NA

Patentes y marcas comerciales

CytoCell es una marca registrada de Cytozell Limited.



Cytozell Limited

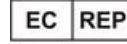
Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
REINO UNIDO

Tel.: +44 (0) 1223 294048

Fax: +44 (0) 1223 294986

Correo electrónico: probes@cytozell.com

Sitio web: www.ogt.com



Sysmex Europe SE

Bombarch 1
22848 Norderstedt
ALEMANIA

Tel.: +49 40 527260

Sitio web: www.sysmex-europe.com

Historial de versiones de las Instrucciones de uso

V001.00 2023-01-11: Nuevas Instrucciones de uso según el Reglamento (UE) 2017/746.