



ZytoFast
human Ig-kappa Probe
 (Digoxigenin-labeled)

REF T-1115-400 Σ 40 (0,4 ml)

A humán Ig-kappa (κ) könnyű lánc mRNS minőségi kimutatásához kromogén *in situ* hibridizációval (CISH)

4250380P102QE



In vitro diagnosztikai orvostechikai eszköz
 az IVDR (EU) 2017/746 szerint

1. Rendeltetésszerű cél

A ZytoFast human Ig-kappa Probe (PF30) a humán Ig-kappa (κ) könnyű lánc mRNS minőségi kimutatására szolgál formalin-fixált, paraffinba ágyazott mintákban, például myeloma multiplexben, kromogén *in situ* hibridizációval (CISH). A szondát a következőkkel együtt kell használni ZytoFast PLUS CISH Implementation Kit HRP-DAB (Prod. No. T-1063-40).

A termék kizárólag professzionális használatra készült. A termékkel végzett valamennyi vizsgálatot minősített, engedéllyel rendelkező anatómiai patológiai laboratóriumban, patológus/humángenetikus felügyelete mellett, szakképzett személyzetnek kell elvégeznie.

A termék a myeloma multiplex differenciáldiagnózisának segédeszközeként szolgál, és terápiás intézkedéseket nem szabad kizárólag a vizsgálati eredmény alapján kezdeményezni.

2. A vizsgálat elve

A kromogén *in situ* hibridizációs (CISH) technika lehetővé teszi specifikus nukleinsav-szekvenciák kimutatását és vizualizálását sejt-készítményekben. Hapten-jelölt nukleotidfragmentumok, úgynevezett CISH-szondák és a preparátumokban lévő komplementer célszekvenciák együttesen denaturálódnak, majd a hibridizáció során hagyják, hogy egymáshoz kapcsolódjanak. Ezt követően a nem specifikus és nem kötött szondafragmentumokat szigorú mosási lépésekkel távolítják el. A jelölt szonda duplexképződése elsődleges (nem jelölt) antitestekkel láthatóvá tehető, amelyeket másodlagos polimerizált enzimkonjugált antitestekkel detektálunk. Az enzimatis reakció kromogén szubsztátokkal ezt követően színes csapadékok képződéséhez vezet. A sejtmag nukleáris festéssel történő ellenfestése után a hibridizált szondafragmentumok fénymikroszkópiával láthatóvá válnak.

3. Rendelkezésre bocsátott reagensek

ZytoFast human Ig-kappa Probe a következőkből áll:

- Digoxigeninnel jelölt oligonukleotidok ($\sim 0,2$ ng/ μ l), amelyek az Ig-kappa könnyűlánc állandó régiót kódoló mRNS-szekvenciákat célozzák.

A ZytoFast human Ig-kappa Probe egy méretben kapható:

- T-1115-400: 0.4 ml (40 reakció, egyenként 10 μ l)

4. Szükséges, de nem biztosított anyagok

- ZytoFast PLUS CISH Implementation Kit HRP-DAB (Prod. No. T-1063-40)
- Pozitív és negatív kontrollminták
- Mikroszkópos tárgylemezek, pozitív töltésű
- Vízfürdő (55 °C, 98 °C)
- Hibridizáló vagy főzőlap
- Hibridizáló vagy párakamra a hibridizációs kemencében
- Állítható kalibrált pipetták (10 μ l, 100 μ l, 1000 μ l)
- Festőedények vagy fürdők
- Időzítő
- Kalibrált hőmérő
- Etanol vagy reagens alkohol
- Xilol
- Metanol 100%
- Hidrogén-peroxid (H_2O_2) 30%
- Deionizált vagy desztillált víz
- fedőlemez (22 mm x 22 mm, 24 mm x 32 mm)
- Gumicement, pl. Fixogum Rubber Cement (Prod. No. E-4005-50/-125) vagy hasonló.
- Megfelelően karbantartott fénymikroszkóp (100-200x)

5. Tárolás és kezelés

2-8 °C-on, függőleges helyzetben tárolja. Használat után azonnal állítsa vissza a tárolási körülmények közé. Ne használja fel a reagenseket a címkén feltüntetett lejárat időn túl. A termék a címkén feltüntetett lejárat dátumig stabil, ha megfelelően kezelik.

6. Figyelmeztetések és óvintézkedések

- Használat előtt olvassa el a használati utasítást!
- Ne használja fel a reagenseket a lejárat idő lejártá után!
- Ez a termék (kis koncentrációban és mennyiségben) egészségre káros és potenciálisan fertőző anyagokat tartalmaz. Kerülje a reagensekkel való közvetlen érintkezést. Tegyen megfelelő védőintézkedéseket (használgon eldobható kesztyűt, védőszemüveget és laboratóriumi ruházatot)!
- A termékkel kapcsolatban bekövetkezett minden súlyos eseményt jelentsen a gyártónak és a helyi előírásoknak megfelelően az illetékes hatóságnak!
- Ha a reagensek bőrrel érintkeznek, azonnal öblítse le a bőrt bőseges mennyiségű vízzel!
- A professzionális felhasználók számára kérésre biztonsági adatlap áll rendelkezésre.
- Ne használja újra a reagenseket, kivéve, ha az újrafelhasználás kifejezetten engedélyezett!
- Kerülje a minták keresztszennyeződését, mivel ez hibás eredményekhez vezethet.
- A minták nem száradhatnak meg a hibridizációs és mosási lépések alatt.

Veszélyre és óvintézkedésekre vonatkozó nyilatkozatok:

Ez a próba az 1272/2008/EK rendelet szerint nem minősül veszélyesnek.

7. Korlátozások

- *In vitro* diagnosztikai felhasználásra.
- Kizárólag professzionális használatra.
- Kizárólag nem automatizált használatra.
- A pozitív festődés klinikai értelmezését vagy annak hiányát a klinikai anamnézis, a morfológia, más szövettani kritériumok és más diagnosztikai vizsgálatok összefüggésében kell elvégezni. A szakképzett patológus/humángenetikus felelőssége, hogy ismerje a CISH-szondákat, a reagenseket, a diagnosztikai paneleket és a festett preparátum előállításához használt módszereket. A festést minősített, engedélyezett laboratóriumban kell elvégezni, patológus/humángenetikus felügyelete mellett, aki felelős a festett tárgylemezek felülvizsgálatáért és a pozitív és negatív kontrollok megfelelőségének biztosításáért.
- A minták festése, különösen a jelintenzitás és a háttérfestés, függ a minta festést megelőző kezelésétől és feldolgozásától. A nem megfelelő fixálás, fagyasztás, felolvasztás, mosás, szárítás, melegítés, szeletelés vagy más mintákkal vagy folyadékokkal való szennyeződés artefaktumokat vagy hamis eredményeket eredményezhet. Az inkonzisztens eredmények a fixálási és beágyazási módszerek eltéréseiből, valamint a mintában rejlő szabálytalanságokból adódhatnak.
- A szonda csak a 3. fejezetben leírt szekvencia kimutatására használható. "Reagensek".
- A teljesítményt a jelen használati utasításban leírt eljárásokkal validálták. Ezen eljárások módosítása megváltoztathatja a teljesítményt, és azt a felhasználónak kell hitelesítenie. Ez az IVD csak akkor rendelkezik CE tanúsítvánnyal, ha az ebben a használati utasításban leírtak szerint, a rendeltetészerű használat körében használják.

8. Zavaró anyagok

A következő fixálószer nem kompatibilisek az ISH-val:

- Bouin-fixáló
- B5 fixáló
- savas fixálók (pl. pikrinsav)
- Zenker-fixáló
- Alkoholok (önmagukban használva)
- Higany-klorid
- Formaldehid/cink fixálószer
- Hollande fixálója
- Nem puffert formalin

9. A minták előkészítése

Készítse elő a mintákat a készülék használati utasításában leírtak szerint. ZytoFast PLUS CISH Implementation Kit HRP-DAB.

10. A készülék előkészítő kezelése

A termék használatra kész. Nincs szükség feloldásra, keverésre vagy hígításra. Használat előtt a szondát hibridizációs hőmérsékletre (55 °C) kell hozni, és alaposan össze kell keverni.

11. Vizsgálati eljárás

Minta előkezelés

Végezze el a minta előkezelését (pl. viaszmentesítés, proteolízis) a megfelelő ZytoFast CISH Implementation Kit használati utasítása szerint.

Denaturáció és hibridizáció

1. Pipettázzon 10 µl szondát minden előkezelt mintára.
2. Fedje le a mintákat egy 22 mm x 22 mm-es fedőlappal (kerülje el a beszorult buborékokat), és zárja le a fedőlapot.

A tömítéshez gumicement (pl. Fixogum) használatát javasoljuk.

3. Helyezze a tárgylemezeket forró lemezre vagy hibridizátorra, és denaturálja a mintákat 5 percig 75 °C-on.
4. Helyezze át a tárgylemezeket egy pára kamrába, és hibridizáljon 1 órán át 55 °C-on (pl. hibridizációs kemencében).

Nagyon fontos, hogy a minták ne száradjanak ki a hibridizációs lépés során.

Hibridizáció utáni

Végezze el a hibridizáció utáni feldolgozást (mosás, detektálás, ellenfestés, rögzítés, mikroszkópia) a megfelelő ZytoFast CISH Implementation Kit használati utasítása szerint.

12. Az eredmények értelmezése

A ZytoFast PLUS CISH Implementation Kit HRP-DAB használatával a hibridizált Digoxigenin-jelölt oligonukleotidok barna mintázatot mutatnak, amikor tormaperoxidázzal (HRP) és DAB-mal detektálják őket.

A plazma B-sejtek pozitív reaktivitását citoplazmatikus festés jelzi.

A nyirokszövetben a normális kappa-lambda arány nagyjából 2:1, a monoklonalitás jelzése akkor áll fenn, ha a kappa-lambda arány >3:1 vagy <0,3:1.

Kérjük, vegye figyelembe:

- A jelek vizualizálását legalább 100-szoros nagyítással kell elvégezni, ami könnyen látható jeleket eredményez.
- Ne értékelje a nekrotizált területeket, az átfedő magokat, a túlságosan megemésztett magokat és a gyenge jelintenzitású magokat.
- A negatív vagy nem specifikus eredményt több tényező is okozhatja (lásd a 16. fejezet "Hibaelhárítás" című részét).
- Az eredmények helyes értelmezése érdekében a felhasználónak a nemzeti és/vagy nemzetközi irányelveknek megfelelően validálnia kell a terméket a diagnosztikai eljárásokban való felhasználás előtt.

13. Ajánlott minőségellenőrzési eljárások

A feldolgozott minták és a vizsgálati reagensek megfelelő teljesítményének ellenőrzése érdekében minden egyes vizsgálathoz belső és külső kontrollokat kell rendelni. Ha a belső és/vagy külső kontrollok nem mutatnak megfelelő festődést, a betegmintákkal kapott eredményeket érvénytelennek kell tekinteni.

Belső ellenőrzés: A mintában lévő plazma B-sejteknek Ig-kappa vagy Ig-lambda festődési mintázatot kell mutatniuk. A mintán belül a B-sejt típusba nem tartozó sejtek, pl. fibroblasztok, nem mutathatnak festődési mintázatot..

Külső vezérlés: Validált pozitív és negatív kontrollminták.

14. Teljesítményjellemzők

14.1 Analitikai teljesítmény

Analitikai érzékenység:	100% (95% CI 98.5 – 100.0)
Analitikai specifikusság:	100% (95% CI 97.0 – 100.0)

14.2 Klinikai teljesítmény

Diagnosztikai érzékenység:	100% (95% CI 86.3 -100.0) vs. IHC 100% vs. RAPID RISH Biocare/ Szérummentes könnyűlánc-restríktív vizsgálat 88.24% vs. IHC
Diagnosztikai specifitás	100% (95% CI 86.3 -100.0) vs. IHC

15. Eltávolítás

A reagensek ártalmatlanítását a helyi előírásoknak megfelelően kell elvégezni.

16. Hibaelhárítás

A kezelési utasításoktól való bármilyen eltérés rosszabb festési eredményhez vagy egyáltalán nem festéshez vezethet. További információkért kérjük, olvassa el a www.zytovision.com/honlapot.



Gyenge jelek vagy egyáltalán nincs jel

Lehetséges ok	javasolt teendő
Nem megfelelően végzett proteolitikus előkezelés	Optimalizálja a pepszin inkubációs idejét, szükség esetén növelje vagy csökkentse azt.
Szonda párolgás	A hibridizáló használata esetén a nedves csíkok/vízzel töltött tartályok használata kötelező. Hibridizáló kemence használata esetén a pára kamra használata kötelező. Ezenkívül a fedőlemezt teljesen le kell zárni, pl. Fixogummal, hogy megakadályozzuk a minta kiszáradását a hibridizáció során.
A kromogén szubsztrát nem megfelelő előkészítése	A helyett, hogy cseppentéssel készítené el a színes szubsztrátokat, használjon pipettát.
Túl hosszú az ellenfestési idő	Kerülje a sötét ellenfestést, mert az elfedheti a pozitív festési jeleket.
Az ellenfesték kékítése nem megfelelően történik	A kékítéshez hideg folyó csapvizet használjon; ne használjon meleg vagy forró vizet vagy kékítő reagenseket.

A jelek elhalványulnak vagy összeolvadnak

Lehetséges ok	javasolt teendő
Nem megfelelő szerelési megoldást használtak	Csak a kiegészítő mellékelt vagy a használati utasításban ajánlott szerelési megoldást használja. Használjon szennyeződésektől mentes oldatokat; ne használjon fedőszalagot.

Egyenetlen vagy egyes részekben csak nagyon enyhe foltosodás

Lehetséges ok	javasolt teendő
Nem teljes viaszmentesítés	Használjon friss oldatokat; ellenőrizze a viaszmentesítési idő tartamát.
Túl kicsi a reagens térfogata	Győződjön meg arról, hogy a reagens térfogata elég nagy ahhoz, hogy a szöveti területet lefedje.

Ellentmondásos eredmények

Lehetséges ok	javasolt teendő
Elégtelen szárítás a szonda felhelyezése előtt	Levegőn való szárítás idejének meghosszabbítása
Túl sok víz/mosópuffer a szöveten a pepszin, az antitestek és/vagy a színezékszubsztrátumok felvitele előtt.	Győződjön meg arról, hogy a felesleges folyadékot a szövetszelvényről a tárgylemezről való leitatással vagy lerázással eltávolítja. A kis mennyiségű maradék víz/mosópuffer nem zavarja a vizsgálatot.
A szövetek rögzítési és beágyazási módszereinek változatai	A rögzítési és beágyazási módszerek optimalizálása
A szövetszelvény vastagságának változása	Optimalizálja a szekcionálást

Morfológia romlott

Lehetséges ok	javasolt teendő
A sejt- vagy szövetmintát nem rögzítették megfelelően	A rögzítési idő és a fixálószer optimalizálása

Nem megfelelően végzett proteolitikus előkezelés	A pepszin inkubációs idejének optimalizálása
--	--

Zajos háttér

Lehetséges ok	javasolt teendő
A szelvények a hibridizáció során vagy után bármikor kiszáradhattak.	Kerülje a szelvények kiszáradását; használjon pára kamrát; zárja le megfelelően a fedőlapot.
Meghosszabbított szubsztrát inkubációs idő	A szubsztrát inkubációs idejének lerövidítése
Nem teljes viaszmentesítés	Használjon friss oldatokat; ellenőrizze a viaszmentesítési idő tartamát.
Nem megfelelően végzett proteolitikus előkezelés	A pepszin inkubációs idejének optimalizálása
A tárgylemezeket hibridizáció előtt szobahőmérsékletre kell hűteni.	A tárgylemezeket gyorsan helyezze át hibridizációs hőmérsékletre

Átfedő jelek

Lehetséges ok	javasolt teendő
A szöveti metszetek nem megfelelő vastagsága	Készítsünk 3-5 µm-es mikrotomos metszeteket

A minta lebeg a tárgylemezről

Lehetséges ok	javasolt teendő
Túl erős proteolitikus előkezelés	A pepszin inkubációs idő lerövidítése

17. Irodalom

- Lang G. (2010) *Journal of Histotechnology*.
- Sen A, et al. (2020) *Med J Armed Forces India*.
- Wilkinson DG: *In Situ Hybridization, A Practical Approach*, Oxford University Press (1992) ISBN 0 19 963327 4.

18. Felülvizsgálat



www.zytovision.com

A legfrissebb használati utasításokat, valamint a különböző nyelvű használati utasításokat a www.zytovision.com oldalon találja.

Szakértőink készséggel válaszolnak kérdéseire. Kérjük vegye fel velünk a kapcsolatot a helptech@zytovision.com címen. A biztonságról és a teljesítményről szóló összefoglalóért kérjük, olvassa el a következőt www.zytovision.com.



ZytoVision GmbH
Fischkai 1
27572 Bremerhaven/ Németország
Telefon: +49 471 4832-300
Fax: +49 471 4832-509
www.zytovision.com
E-mail: info@zytovision.com

Védjegyek:
A ZytoVision® és a ZytoFast® a ZytoVision GmbH védjegyei.