



ZytoLight

SPEC ABL1 Dual Color Break Apart Probe

REF Z-2199-50



5 (0,05 ml)

Per la rilevazione qualitativa di traslocazioni che coinvolgono il gene ABL1 umano a 9q34.12 mediante ibridazione *in situ* fluorescente (FISH)

4250380P279RN



Dispositivo medico – diagnostico in vitro
in conformità al Regolamento IVDR (EU) 2017/746

1. Scopo previsto

La sonda ZytoLight SPEC ABL1 Dual Color Break Apart Probe (PL157) è destinata all'individuazione qualitativa di traslocazioni che coinvolgono il gene umano ABL1 a 9q34.12 in campioni citologici mediante ibridazione *in situ* fluorescente (FISH). La sonda deve essere utilizzata in combinazione con il kit ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit (codice n° Z-2099-20).

Il prodotto è destinato esclusivamente ad uso professionale. Tutti i test che utilizzano il prodotto devono essere eseguiti da personale qualificato in un laboratorio di anatomia patologica certificato e autorizzato, sotto la supervisione di un patologo/genetista umano.

La sonda è destinata ad essere utilizzata come aiuto per la diagnosi differenziale di diversi tipi di tumori e le misure terapeutiche non devono essere intraprese sulla base del solo risultato del test.

2. Principio del metodo

La tecnica di ibridazione *in situ* fluorescente (FISH) consente la rilevazione e la visualizzazione di sequenze nucleotidiche specifiche in preparazioni cellulari. I frammenti di DNA marcati in modo fluorescente, chiamati sonde FISH, e i loro frammenti di DNA complementare nelle preparazioni sono co-denaturati e riuniti durante l'ibridazione. Successivamente, i frammenti di sonda non specifici e non legati, sono rimossi con lavaggi stringenti. Dopo la controcolorazione del DNA con DAPI, i frammenti di sonda ibridati sono visualizzati utilizzando il microscopio a fluorescenza equipaggiato con filtri specifici per i fluorocromi con cui sono direttamente marcati i frammenti di sonde FISH.

3. Reagenti forniti

La ZytoLight SPEC ABL1 Dual Color Break Apart Probe è composta da:

- Polinucleotidi (~10 ng/μl) marcati con ZyGreen (eccitazione 503 nm/emissione 528 nm), che hanno come bersaglio sequenze mappate in 9q34.11-q34.12* (chr9:132,872,357-133,580,236) prossimali alla regione del breakpoint ABL1 (vedere Fig. 1).
- Polinucleotidi (~4,5 ng/μl) marcati con ZyOrange (eccitazione 547 nm/emissione 572 nm), che hanno come bersaglio sequenze mappate in 9q34.12-q34.13* (chr9:133,851,960-134,273,097), distali alla regione del breakpoint di ABL1 (vedere Fig. 1).
- Tampone di ibridazione a base di formammide

*conformemente all'Human Genome Assembly GRCh37/hg19

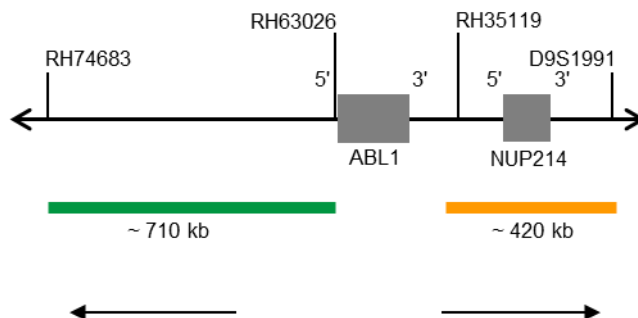


Fig. 1: SPEC ABL1 Mappa della sonda (non in scala)

La ZytoLight SPEC ABL1 Dual Color Break Apart Probe è disponibile in un'unica dimensione:

- Z-2199-50: 0,05 ml (5 reazioni da 10 μl ciascuna)

4. Materiali richiesti ma non forniti

- ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit (Codice prodotto Z-2099-20)
- Controlli positivi e negativi
- Campioni di controllo positivo e negativo
- Vetrini portaoggetto, non rivestiti
- Bagno termostato (70°C)
- Ibridizzatore o piastra calda
- Ibridizzatore o camera umida in stufa da ibridazione
- Pipette a volume variabile (10 μl, 25 μl)
- Vaschette di colorazione
- Timer
- Termometro calibrato
- Etanolo o altro reagente alcolico
- Formaldeide 37%, acid-free, o formalina 10% neutra tamponata
- 2x Saline-Sodium Citrate (SSC), per esempio, da 20x SSC Solution (Codice prodotto WB-0003-50)
- Acqua deionizzata o distillata
- Vetrini coprioggetto (22 mm x 22 mm, 24 mm x 60 mm)
- Colla per vetrini, per esempio, Fixogum Rubber Cement (Codice prodotto E-4005-50/-125) o simili
- Microscopio a fluorescenza (400-1000x)
- Olio a immersione per fluorescenza
- Set di filtri appropriato

5. Conservazione e stoccaggio

Conservare a 2-8°C in posizione verticale e protetta dalla luce. Utilizzare proteggendo dalla luce. Riportare alle condizioni di stoccaggio indicate subito dopo l'utilizzo. Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza indicata in etichetta. Il prodotto è stabile fino alla data di scadenza indicata in etichetta, se correttamente conservato.

6. Avvertenze e precauzioni

- Leggere le istruzioni prima dell'utilizzo!
- Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza!
- Questo prodotto contiene sostanze (in bassa concentrazione e volume) che sono nocive per la salute e potenzialmente infette. Evitare qualsiasi contatto diretto con i reagenti. Prendere le adeguate misure di precauzione (utilizzare i guanti, gli occhiali di protezione e il camice da laboratorio)!

- Segnalare qualsiasi incidente grave relativo al prodotto al produttore e all'autorità competente in conformità alle normative locali
- Se il reagente dovesse entrare in contatto con la pelle, risciacquare subito abbondantemente!
- La scheda di sicurezza è disponibile su richiesta per usi professionali.
- Non riutilizzare i reagenti, a meno che il riutilizzo sia esplicitamente consentito
- Evitare la cross-contaminazione dei campioni, in quanto questo potrebbe portare a risultati sbagliati.
- La sonda non deve essere esposta alla luce, in particolare modo a luci intense, per lunghi periodi di tempo; per esempio, tutti i passaggi dovrebbero essere svolti, se possibile, al buio o utilizzando contenitori scuri.

Frase di pericolo e prudenza:

Il componente pericoloso è la formammide.



Pericolo

H351	Sospettato di provocare il cancro.
H360FD	Può nuocere alla fertilità. Può nuocere al feto.
H373	Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta.
P201	Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.
P202	Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze.
P260	Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.
P280	Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
P308+P313	IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico.
P405	Conservare sotto chiave.

7. Limitazioni

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Solo per usi professionali.
- Solo per utilizzo non automatico.
- Il cut-off analitico normale per un pattern di segnali anormale di interesse dovrebbe essere definito da un genetista umano / patologo qualificato.
- L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione positiva o meno deve essere condotta considerando il contesto della storia clinica, della morfologia, di altri criteri istopatologici e di altri test diagnostici. È responsabilità di un patologo/genetista umano qualificato avere familiarità con le sonde ISH, i reagenti, i pannelli diagnostici e i metodi utilizzati per la colorazione del preparato. La colorazione deve essere eseguita in un laboratorio certificato e autorizzato sotto la supervisione di un patologo/genetista umano che è responsabile della revisione dei vetrini colorati e della garanzia dell'adeguatezza dei controlli positivi e negativi.
- La colorazione, in particolar modo l'intensità del segnale e il rumore di fondo, dipende da come il campione è stato gestito e processato prima della colorazione stessa. Una fissazione impropria, il congelamento, lo scongelamento, il lavaggio, l'asciugatura, il riscaldamento, il sezionamento o la contaminazione con un altro campione o fluido può produrre artefatti o falsi risultati. Risultati incoerenti possono derivare da variazioni nei metodi di fissazione e inclusione.
- La sonda dovrebbe essere usata solo per identificare i loci descritti nella sezione 3 "Reagenti forniti".
- Le prestazioni sono state convalidate utilizzando le procedure descritte in queste istruzioni per l'uso. Le modifiche a queste procedure potrebbero alterare le prestazioni e devono essere convalidate dall'utente. Questo prodotto IVD è certificato come CE solo se utilizzato come descritto in queste istruzioni nell'ambito dell'uso previsto.

8. Sostanze interferenti

I globuli rossi presenti nel campione potrebbero esibire auto fluorescenza che disturba l'identificazione dei segnali.

9. Preparazione dei campioni

Allestire i campioni come descritto nelle istruzioni per l'uso del [ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit](#).

10. Trattamento preparatorio del prodotto

Il prodotto è pronto all'uso. Non deve essere ricostituito, mescolato o diluito. Portare la sonda a temperatura ambiente (18-25°C) prima dell'uso, proteggere dalla luce. Prima di aprire la vial, vortexare e centrifugare brevemente.

11. Procedura di lavoro

Pretrattamento del campione

Pretrattare il campione (sparaffinatura, proteolisi) conformemente alle istruzioni per l'uso del kit [ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit](#).

Denaturazione e ibridazione

1. Pipettare 10 µl di sonda su ciascun campione pretrattato.
 2. Coprire i campioni con un vetrino coprioggetto (22 x 22) mm (evitare la formazione di bolle) e sigillare il coprioggetto.
- Raccomandiamo di utilizzare una colla per vetrini (per esempio, Fixogum).*
3. Porre i vetrini su piastra calda o su ibridizzatore e denaturare i campioni per 5 min. a 72 °C.
 4. Trasferire i vetrini in camera umida e ibridare overnight a 37°C (per esempio in una stufa da ibridazione).

È fondamentale che i campioni non si asciughino durante la fase di ibridazione.

Post-ibridazione

Procedere coi passaggi post-ibridazione (lavaggio, controcolorazione e microscopia fluorescente) come indicato nelle istruzioni d'uso del kit [ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit](#).

12. Interpretazione dei risultati

Con l'uso di set di filtri appropriati, i segnali di ibridazione della sonda appaiono verdi (prossimali alla regione del breakpoint ABL1) e arancioni (distali alla regione del breakpoint ABL1).

Situazione normale: Nelle interfasi di cellule normali o di cellule senza traslocazione che coinvolgono la regione del gene ABL1, compaiono due segnali di fusione verde/arancio (vedere Fig. 2).

Situazione aberrante: Una regione del gene ABL1 interessata da una traslocazione è indicata da un segnale verde separato e da un segnale arancione separato. Una regione del gene ABL1 interessata da una fusione NUP214-ABL1 associata a episomi amplificati è indicata da un segnale verde separato e da più segnali arancioni o da un gruppo di segnali arancioni (vedere Fig. 2).

I segnali che si sovrappongono possono apparire come segnali gialli.

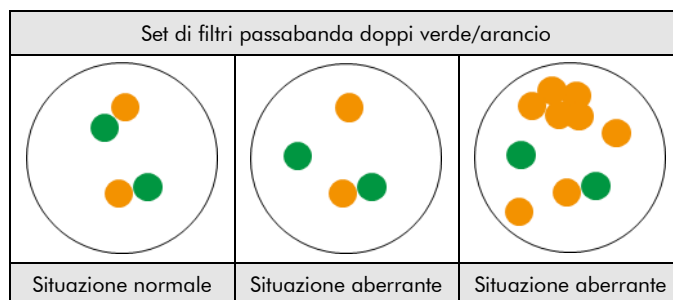


Fig. 2: Risultati attesi in situazione normale e aberrante

Le aberrazioni genomiche dovute a piccole delezioni, duplicazioni o inversioni possono dare origine a modelli di segnale poco evidenti. Altri pattern di segnali oltre a quelli descritti sopra si potrebbero osservare in alcuni campioni anormali. Questi pattern di segnali inconsueti dovrebbero essere ulteriormente indagati.

