



- Par jebkuru nopietnu negadījumu, kas noticis saistībā ar izstrādājumu, ziņojiet ražotājam un kompetentajai iestādei saskaņā ar vietējiem noteikumiem!
- Ja reaģenti nonāk saskarē ar ādu, nekavējoties noskalojiet ādu ar lielu daudzumu ūdens!
- Profesionālam lietotājam pēc pieprasījuma ir pieejama materiālu drošības datu lapa.
- Neizmantojiet reaģentus atkārtoti, ja vien atkārtota izmantošana nav skaidri atļauta!
- Izvairieties no paraugu savstarpējas piesārņošanas, jo tas var izraisīt kļūdainus rezultātus.
- Zondi ilgāku laiku nedrīkst pakļaut gaismas, īpaši spēcīgas gaismas iedarbībai, t. i., visi pasākumi, ja iespējams, jāveic tumsā un/vai izmantojot gaismas necaurlaidīgus traukus.

Bīstamības un piesardzības norādījumi:

Bīstamību noteicošais komponents ir formamīds.



Bīstamība

| | |
|-----------|---|
| H351 | Aizdomas par vēža izraisīšanu. |
| H360FD | Var kaitēt auglībai. Var kaitēt nedzimušajam bērnam. |
| H373 | Ilgstoša vai atkārtota iedarbība var izraisīt orgānu bojājumus. |
| P201 | Pirms lietošanas saņemiet īpašus norādījumus. |
| P202 | Nestrādājiet ar to, kamēr nav izlasīti un izprasti visi drošības pasākumi. |
| P260 | Neelpot putekļus/dūmus/gāzi/smīdzeni/tvaikus/smīdzeni. |
| P280 | Valkājiet aizsargcimdus/aizsargapģērbu/acu/ sejas aizsardzību. |
| P308+P313 | Ja ir apdraudēta vai ir bažas: Saņemiet medicīnisku konsultāciju/pievērsiet uzmanību. |
| P405 | Veikals ir aizslēgts. |

7. Ierobežojumi

- Lietošanai *in vitro* diagnostikā.
- Tikai profesionālai lietošanai.
- Tikai neautomatizētai lietošanai.
- Pozitīva krāsojuma vai tā neesamības klīniskā interpretācija jāveic, ņemot vērā klīnisko anamnēzi, morfoloģiju, citus histopatoloģiskos kritērijus, kā arī citus diagnostiskos testus. Kvalificēta patologa/cilvēka ģenētiķa pienākums ir pārzināt FISH zondes, reaģentus, diagnostikas paneļus un metodes, ko izmanto, lai iegūtu krāsoto preparātu. Krāsošana jāveic sertificētā, licencētā laboratorijā patologa/cilvēka ģenētiķa uzraudzībā, kurš ir atbildīgs par iekrāsoto priekšmetstikliņu pārskatīšanu un pozitīvās un negatīvās kontroles atbilstības nodrošināšanu.
- Parauga krāsošana, jo īpaši signāla intensitāte un fona krāsojums, ir atkarīga no parauga apstrādes un apstrādes pirms krāsošanas. Nepareiza fiksācija, sasaldēšana, atkausēšana, mazgāšana, žāvēšana, sildīšana, griezum veidošana vai piesārņojums ar citiem paraugiem vai šķīdumiem var radīt artefaktus vai kļūdainus rezultātus. Neatbilstīgus rezultātus var izraisīt fiksācijas un iestrādes metožu atšķirības, kā arī paraugam raksturīgi nelīdzenumi.
- Zondi drīkst izmantot tikai 3. nodaļā aprakstīto lokusu noteikšanai. "Piegādātie reaģenti".
- Darbība tika validēta, izmantojot šajā lietošanas instrukcijā aprakstītās procedūras. Šo procedūru modifikācijas var mainīt veikspēju, un tās ir jāapstiprina lietotājam. Šis IVD ir sertificēts kā CE tikai tad, ja to lieto, kā aprakstīts šajā lietošanas instrukcijā, atbilstoši paredzētajam lietojumam.

8. Vietas, kas rada traucējumus

Paraugā esošajām sarkanajām asins šūnām var būt autofluorescence, kas kavē signāla atpazīšanu.

Ar FISH nav saderīgi šādi fiksatori:

- Buēna fiksatīvs
- B5 fiksators
- Skābie fiksatori (piemēram, pikronskābe).
- Zenkera fiksatīvs
- Alkoholi (ja tos lieto atsevišķi)
- Dzīvsudraba hlorīds
- Formaldehīda/cinka fiksators
- Olanda fiksatīvs līdzeklis
- Nebuferēts formalīns

9. Paraugu sagatavošana

Sagatavojiet paraugus, kā aprakstīts ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit lietošanas instrukcijā.

10. Ierīces sagatavošanas apstrāde

Produkts ir gatavs lietošanai. Nav nepieciešams atjaunot, sajaukt vai atšķaidīt. Pirms lietošanas zondi jāuzsilda istabas temperatūrā (18-25 °C), jāaizsargā no gaismas. Pirms flakona atvēršanas samaisiet, virpuļojot un īsi pagriežot.

11. Analīzes procedūra

Parauga pirmāpstrāde

Veiciet paraugu priekšapstrādi (deparafinēšana, proteolīze) saskaņā ar ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit lietošanas instrukciju.

Denaturācija un hibridizācija

1. Uz katra iepriekš apstrādātā parauga ar pipeti uzpildiet 10 µl zondes.
2. Pārklājiet paraugus ar 22 x 22 mm lielu pārklājplāksnīti (izvairieties no burbuļu veidošanās) un aiztaisiet pārklājplāksnīti.
3. Novietojiet priekšmetstiklīņus uz karstās plātes vai hibridizatora un denaturējiet paraugus 10 minūtes 75 °C temperatūrā.
4. Pārvietojiet priekšmetstiklīņus mitruma kamerā un hibridizējiet uz nakti 37 °C temperatūrā (piemēram, hibridizācijas krāsnī).

Ir svarīgi, lai hibridizācijas laikā paraugi neizžūtu.

Pēc hibridizācijas

Veiciet pēchibridizācijas apstrādi (mazgāšana, pretkrāsošana, fluorescences mikroskopija) saskaņā ar ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit lietošanas instrukciju.

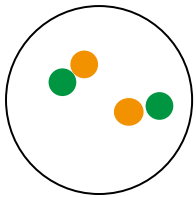
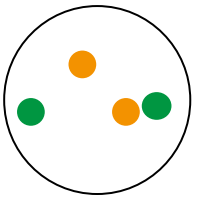
12. Rezultātu interpretācija

Izmantojot atbilstošus filtru komplektus, zondes hibridizācijas signāli parādās zaļi (proksimāli no BCL6 lūzuma punkta reģiona) un oranži (distāli no BCL6 lūzuma punkta reģiona).

Normāla situācija: rmālu šūnu vai šūnu, kurās nav translokācijas, kas skar BCL6 gēna reģionu, starp fāzēs parādās divi zaļi/oranži saplūšanas signāli (skatīt 2. attēlu).

Neparasta situācija: Viens BCL6 gēna reģions, ko ietekmē translokācija, ir apzīmēts ar vienu atsevišķu zaļu signālu un vienu atsevišķu oranžu signālu (sk. 2. attēlu).

Pārklājošies signāli var parādīties kā dzeltenī signāli.

| Zaļo/apelsīnu divjoslu filtru komplekts | |
|---|---|
|  |  |
| Normāla situācija | Nepareiza situācija |

2. attēls: Paredzamie rezultāti normālos un aberantos kodolos

Genomiskās aberācijas, ko izraisa nelielas delecijas, dublēšanās vai inversijas, var radīt neuzkrītošus signālu modeļus. Dažos patoloģiskos paraugos var novērot citus signālu modeļus, kas nav iepriekš aprakstīti. Šie negaidītie signālu modeļi ir jāizpēta sīkāk.

Lūdzu, ņemiet vērā:

- Dekondensētā hromatīna dēļ atsevišķi FISH signāli var parādīties kā nelieli signālu klasteri. Tādējādi divi vai trīs vienāda lieluma signāli, kas ir atdalīti ar attālumu ≤ 1 signāla diametrs, jāuzskata par vienu signālu.
- Neizvērtējiet pārklājas kodolus.
- Neskaitiet pārfirītus kodolus (ko atpazīst pēc tumšiem laukumiem kodola iekšpusē).
- Neskaitiet kodolus ar spēcīgu auto-fluorescenci, kas traucē atpazīt signālu.
- Negatīvu vai nespecifisku rezultātu var izraisīt vairāki faktori (skatīt 16. nodaļu "Problēmu novēršana").
- Lai pareizi interpretētu rezultātus, lietotājam šis produkts pirms lietošanas diagnostikas procedūrās ir jāapstiprina saskaņā ar valsts un/vai starptautiskajām vadlīnijām.

13. Ieteicamās kvalitātes kontroles procedūras

Lai uzraudzītu apstrādāto paraugu un testa reaģentu pareizu darbību, katrai analīzei ir jābūt pievienotai iekšējai un ārējai kontrolei. Ja iekšējās un/vai ārējās kontroles neuzrāda atbilstošu krāsojumu, rezultāti ar pacienta paraugiem jāuzskata par nederīgiem.

Iekšējā kontrole: Ne-neoplastiskas šūnas paraugā, kurām ir normāls signāla modelis, piemēram, fibroblasti.

Ārējā vadība: Apstiprināti pozitīvās un negatīvās kontroles paraugi.

14. Veiktspējas raksturlielumi

14.1 Analītiskā veiktspēja

Ja tika novērtēta saskaņā ar ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit lietošanas instrukciju.

| | |
|-----------------------|----------------------------|
| Analītiskā jutība: | 100% (95% CI 98.5 – 100.0) |
| Analītiskā specifika: | 100% (95% CI 97.0 – 100.0) |

14.2 Klīniskā veiktspēja

| | |
|----------------------------|--|
| Diagnostikas jutīgums: | 100% (95% CI 98.0 -100.0) pret FlexISH BCL2/BCL6 Distinguish Probe |
| Diagnostikas specifiskums: | 100% (95% CI 98.0 -100.0) pret FlexISH BCL2/BCL6 Distinguish Probe |

15. Izmešana

Reaģentu iznīcināšana jāveic saskaņā ar vietējiem noteikumiem.

16. Problēmu novēršana

Jebkura novirze no lietošanas instrukcijām var novest pie sliktākiem krāsošanas rezultātiem vai arī pie tā, ka krāsošana vispār nenotiek. Sīkāku informāciju skatiet www.zytovision.com.

vāji signāli vai to nav vispār

| Iespējamais iemesls | Rīcība |
|---|--|
| Šūnu vai audu paraugs nav pareizi fiksēts | Optimizējiet fiksācijas laiku un fiksatoru vai izmantojiet pēcfixācijas posmu, kā aprakstīts <u>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit</u> rokasgrāmatas sadaļā "pārbaudes procedūra". |
| Nepareizi veikta proteolītiskā pirmapstrāde | Optimizēt pepsīna inkubācijas laiku, vajadzības gadījumā to palielināt vai samazināt. |
| Zondes iztvaikošana | Ja izmantojat hibrideru, obligāti jāizmanto slapjās svītras/ ar ūdeni piepildītas tvertnes. Izmantojot hibrizācijas krāsnī, obligāti jāizmanto mitruma kamera. Turklāt, lai novērstu parauga izžūšanu hibrizācijas laikā, pārklājlapas pilnībā jāaizlīmē, piemēram, ar fiksogumu. |
| Neatbilstoši izmantotie filtru komplekti | Izmantojiet zondes fluohromiem atbilstošus filtru komplektus. <i>Trīs joslu caurlaides filtru komplekti nodrošina mazāk gaismas salīdzinājumā ar vienas vai divu joslu caurlaides filtru komplektiem. Līdz ar to, izmantojot šos trīsjoslu filtru komplektus, signāli var šķist vājāki.</i> |

Krustveida hibrizācijas signāli; trokšņains fons

| Iespējamais iemesls | Rīcība |
|---|--|
| Nepilnīga deparafinēšana | Izmantojiet svaigus šķīdumus; pārbaudiet deparafinēšanas ilgumu. |
| Pārāk spēcīga proteolītiskā pirmapstrāde | Pepsīna inkubācijas laika samazināšana |
| Slaidi pirms hibrizācijas atdzesēti līdz istabas temperatūrai | Ātri pārvietojiet priekšmetstiklīņus 37 °C temperatūrā |

Morfoloģijas degradācija

| Iespējamais iemesls | Rīcība |
|---|--|
| Šūnu vai audu paraugs nav pareizi fiksēts | Optimizējiet fiksācijas laiku un fiksatoru vai izmantojiet pēcfixācijas posmu, kā aprakstīts <u>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit</u> rokasgrāmatas sadaļā "pārbaudes procedūra". |
| Nepareizi veikta proteolītiskā pirmapstrāde | Optimizēt pepsīna inkubācijas laiku, vajadzības gadījumā to samazināt. |
| Nepietiekama žāvēšana pirms zondes uzklāšanas | Pagarināt žāvēšanu gaisā |

Pārklājošies kodoli

| Iespējamais iemesls | Rīcība |
|--------------------------------------|---|
| Neatbilstošs audu griezumuma biezums | Sagatavojiet 2-4 μm mikrotoma griezumus |

Paraugs peld no priekšmetstiklīna

| | |
|--|--|
| Iespējamais iemesls | Rīcība |
| Pārāk spēcīga proteolītiskā pirmāpstrāde | Pepsīna inkubācijas laika samazināšana |

Vājš pretkrāsojums

| | |
|----------------------------------|--|
| Iespējamais iemesls | Rīcība |
| Zema koncentrācijas DAPI šķīdums | Tā vietā izmantojiet <u>DAPI/DuraTect-Solution (ultra)</u> (Produkta Nr. MT-0008-0.8). |
| Pārāk īss DAPI inkubācijas laiks | Pielāgojiet DAPI inkubācijas laiku |

17. Literatūra

- Marino F, et al. (2021) *Virchows Archiv* 479: 565-573.
- Kievits T, et al. (1990) *Cytogenet Cell Genet* 53: 134-6.
- Willenbacher E, et al. (2020) *Annals of Hematology* 99: 2123-2132.
- Wilkinson DG: In Situ Hybridization, A Practical Approach, *Oxford University Press* (1992) ISBN 0 19 963327 4

18. Pārskatīšana
www.zytovision.com

Jaunākās lietošanas instrukcijas, kā arī lietošanas instrukcijas dažādās valodās skatīt [vietnē www.zytovision.com](http://www.zytovision.com).

Mūsu eksperti ir gatavi atbildēt uz jūsu jautājumiem.

Lūdzu, sazinieties ar helptech@zytovision.com

Drošības un veiktspējas kopsavilkumu skatiet šādā dokumentā www.zytovision.com.



ZytoVision GmbH

Fischkai 1

27572 Bremerhäfena/ Vācija

Tālrunis: +49 471 4832-300

Fakss: +49 471 4832-509

www.zytovision.com

E-pasts: info@zytovision.com

Preču zīmes:

ZytoVision® un ZytoLight® ir ZytoVision GmbH preču zīmes.