



F/exlSH ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe

REF Z-2166-50 ∇ 5 (0,05 ml)

REF Z-2166-200 ∇ 20 (0,2 ml)

Kvalitatīvai cilvēka ERBB2 gēna amplifikāciju un 17. hromosomas alfa pavadoņu noteikšanai, izmantojot fluorescences *in situ* hibridizāciju (FISH)

4250380P232QU



In vitro diagnostikas medicīnas ierīce

saskaņā ar IVDR (ES) 2017/746

1. Paredzētais mērķis

F/exlSH ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe (PL122) ir paredzēta cilvēka ERBB2 gēna amplifikāciju kvalitatīvai noteikšanai, kā arī hromosomas 17 alfa satelītu noteikšanai formalinā fiksētos, parafinā iestrādātos paraugos, piemēram, krūts vēža un kuņģa/kuņģa-zarnu trakta savienojuma vēža paraugos, izmantojot fluorescences *in situ* hibridizāciju (FISH). Zonde ir paredzēta lietošanai kopā ar F/exlSH-Tissue Implementation Kit (Produkta Nr. Z-2182-5/-20).

Produkts ir paredzēts tikai profesionālai lietošanai. Visi testi, kuros izmanto šo produktu, jāveic sertificētā, licencētā anatomiskās patoloģijas laboratorijā, patologa/cilvēka ģenētiķa uzraudzībā, ko veic kvalificēts personāls.

Zondi paredzēts izmantot kā palīgīdzekli krūts vēža un kuņģa/kuņģa-zarnu trakta savienojuma vēža diferenciāldiagnozei, un, pamatojoties tikai uz testa rezultātu, nevajadzētu uzsākt terapeitiskus pasākumus.

2. Testa princips

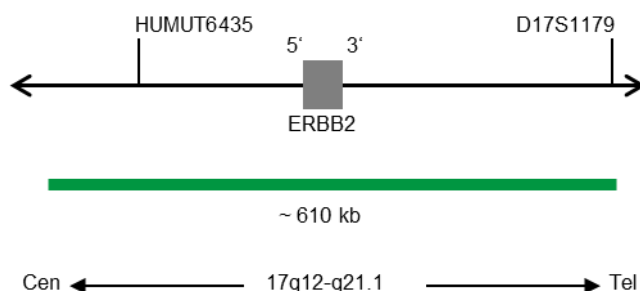
Fluorescences *in situ* hibridizācijas (FISH) metode ļauj noteikt un vizualizēt specifiskas nukleīnskābju sekvenču šūnu preparātos. Fluorescējoši marķēti DNS fragmenti, tā sauktās FISH zondes, un to komplementārās mērķa DNS virknes preparātos tiek kopendaturētas un pēc tam hibridizācijas laikā tiek atdalītas. Pēc tam nespecifiskos un nesaistītos zondes fragmentus noņem ar stingrām mazgāšanas darbībām. Pēc DNS pretkrāsošanas ar DAPI hibridizētos zondes fragmentus vizualizē, izmantojot fluorescences mikroskopu, kas aprīkots ar izstarošanas un emisijas filtriem, kuri ir specifiski fluorohromiem, ar kuriem ir tieši marķēti FISH zondes fragmenti.

3. Sniegtie reaģenti

F/exlSH ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe sastāv no:

- ZyGreen (uzbudinājums 503 nm/emisija 528 nm) marķēti polinukleotīdi (~10,0 ng/μl), kas ir vērsti uz sekvencēm, kas atrodas 17q12-q21.1* (chr17:37,572,531-38,181,308), kurā atrodas ERBB2 gēna reģions (skatīt 1. attēlu).
- ZyOrange (uzbudinājums 547 nm/emisija 572 nm) marķēti polinukleotīdi (~1,0 ng/μl), kas ir vērsti uz sekvencēm, kuras kartētas 17p11.1-q11.1, kas raksturīgas 17. hromosomas alfa satelīta centromeriskajam reģionam D17Z1 (skatīt 1. attēlu).
- Hibridizācijas buferis uz formamida bāzes

*askaņā ar Cilvēka genoma asambleju GRCh37/hg19



1. attēls: ERBB2 Zondes karte (bez mēroga)

F/exlSH ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe ir pieejama divos izmēros:

- Z-2166-50: 0,05 ml (5 reakcijas pa 10 μl katrā)
- Z-2166-200: 0,2 ml (20 reakcijas pa 10 μl katrā)

4. Nepieciešamie, bet nepiegādātie materiāli

- F/exlSH-Tissue Implementation Kit (Produkta Nr. Z-2182-5/-20)
- Pozitīvās un negatīvās kontroles paraugi
- Mikroskopa priekšmetstikliņi, pozitīvi lādēti
- Ūdens vanna (37 °C, 98 °C)
- Hibridizers vai karstā plate
- Hibridizators vai mitruma kamera hibridizācijas krāsnī
- Regulējamas pipetes (10 μl, 25 μl)
- Burku vai vannu krāsošana
- Taimeris
- Kalibrēts termometrs
- Etanols vai reaģentu spirts
- Ksilols
- Dejonizēts vai destilēts ūdens
- Pārklājumi (22 mm x 22 mm, 24 mm x 60 mm)
- Gumijas cements, piemēram, Fixogum Rubber Cement (Produkta Nr. E-4005-50/-125) vai līdzīgs.
- Atbilstoši uzturēts fluorescences mikroskops (400-1000x).
- Fluorescences mikroskopijai apstiprināta iegremdēšanas eļļa
- Piemēroti filtru komplekti

5. Uzglabāšana un pārvietošana

Uzglabāt 2-8 °C temperatūrā vertikālā stāvoklī, pasargātā no gaismas. Lietojiet pasargātu no gaismas. Uzreiz pēc lietošanas atgrieziet glabāšanas apstākļos. Nelietot reaģentus pēc derīguma termiņa beigām, kas norādīts uz etiķetes. Produkts ir stabils līdz marķējumā norādītajam derīguma termiņam, ja ar to rīkojas atbilstoši.

6. Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

- Pirms lietošanas izlasiet lietošanas instrukciju!
- Neizmantojiet reaģentus pēc derīguma termiņa beigām!
- Šis produkts satur veselībai kaitīgas un potenciāli infekciozas vielas (nelielā koncentrācijā un daudzumā). Izvairieties no tiešas saskares ar reaģentiem. Veikt atbilstošus aizsardzības pasākumus (lietot vienreizlietojamus cimdus, aizsargbrilles un laboratorijas apģērbu)!
- 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

H319	Izraisa nopietnu acu kairinājumu.
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.
P260	Neelpot putekļus/dūmus/gāzi/smidzeni/tvaikus/smidzeni.
P280	Valkājiet aizsargcimdus/aizsargapģērbu/acu/ sejas aizsardzību.
P305+P351+P338	Ja nokļūst acīs: vairākas minūtes piesardzīgi skalot ar ūdeni. Izņemiet kontaktlēcas, ja tādas ir un ja tas ir viegli izdarāms. Turpināt skalošanu.
P308+P313	Ja ir apdraudēta vai ir bažas: Saņemiet medicīnisku padomu/pievērsiet uzmanību.
P337+P313	Ja acu kairinājums saglabājas: Ja rodas acu kairinājums, sazinieties ar ārstu/pievērsiet medicīnisko palīdzību.

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 ģenētika pienākums ir pārzināt FISH zondes, reaģentus, diagnostikas paneļus un metodes, ko izmanto, lai iegūtu krāsoto preparātu. Krāsošana jāveic sertificētā, licencētā laboratorijā patologa/cilvēka ģenētika 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, griezumumu veidošana vai piesārņojums ar citiem paraugiem vai šķidrumiem var radīt artefaktus vai kļūdainus rezultātus. Neatbilstīgus rezultātus var izraisīt fiksācijas un iegulšanas metožu atšķirības, kā arī paraugam raksturīgas neatbilstības.
- 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 [F/exlSH-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 īsu brīdi pagriežot.

11. Analīzes procedūra

Parauga pirmāpstrāde

Veiciet paraugu priekšapstrādi (atvaskošana, proteolīze) saskaņā ar [F/exlSH-Tissue Implementation Kit](#) lietošanas instrukciju.

Denaturācija un hibridizācija

- Uz katra iepriekš apstrādātā parauga ar pipeti uzpildiet 10 µl zondes.
- Pārklājiet paraugus ar 22 x 22 mm lielu pārklājplāksnīti (izvairieties no burbuļu veidošanās) un aiztaisiet pārklājplāksnīti.
- Novietojiet priekšmetstiklīņus uz karstās plātes vai hibridizatora un denaturējiet paraugus 10 minūtes 75 °C temperatūrā.
- Veiciet hibridizāciju no 2 h līdz 16 h (t. i., pa nakti) 37 °C temperatūrā, pārvietojot priekšmetstiklīņus uz hibridizatoru vai uz mitruma kameru un hibridizācijas krāsni.

Ir svarīgi, lai hibridizācijas laikā paraugi neizžūtu.

Pēc hibridizācijas

Veiciet pēchibridizācijas apstrādi (mazgāšana, pretkrāsošana, fluorescences mikroskopija) saskaņā ar [F/exlSH-Tissue Implementation Kit](#) lietošanas instrukciju.

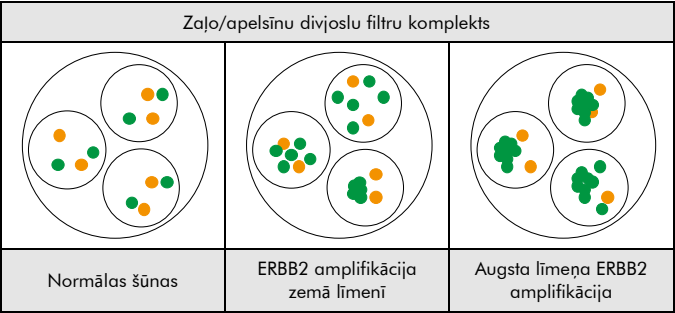
12. Rezultātu interpretācija

Izmantojot atbilstošus filtru komplektus, zondes hibridizācijas signāli ir zaļi (ERBB2 gēna reģions) un oranži (CEN 17).

Normāla situācija: Normālu šūnu vai šūnu, kurās nav amplifikācijas, kas skar ERBB2 gēna reģionu, starpfāzēs parādās divi zaļi un divi oranži signāli (skatīt 2. attēlu).

Neparasta situācija: Šūnās ar ERBB2 gēna reģiona amplifikāciju novērots palielināts oranžu signālu vai oranžu signālu kopu skaits (sk. 2. attēlu).

Pārklājošies signāli var parādīties kā dzeltenī signāli.



2. attēls: Paredzamie rezultāti normālos un aberantos kodolos

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 atdalīti ar attālumu ≤ 1 signāla diametrs, jāuzskata par vienu signālu.
- Neizvērtējiet pārklājas kodolus.
- Neskaitiet pārtīrītus 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 pozitīvie un negatīvie kontroles paraugi.

14. Veiktspējas raksturlielumi

14.1 Analītiskā veiktspēja

Veiktspēja tika novērtēta saskaņā ar [F/exSH-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:	Krūts vēža: 93% (95% CI 91.0 – 95.0) pamatojoties uz divdimensiju modeli Kuņģa vēzis un gastroezofageālā savienojuma vēzis: 88% (95% CI 74.0 – 95.0) pamatojoties uz divdimensiju modeli
Diagnostikas specifiskums:	Krūts vēža: 98% (95% CI 97.0 – 99.0) pamatojoties uz divdimensiju modeli Kuņģa vēzis un gastroezofageālā savienojuma vēzis: 95% (95% CI 92.0 – 97.0) pamatojoties uz divdimensiju modeli

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
Paraugš nav pienācīgi nostiprināts	Optimizēt fiksācijas laiku un fiksatoru
Nepareizi veikta proteolītiskā pirmapstrāde	Optimizēt pepsīna inkubācijas laiku, vajadzības gadījumā to palielināt vai samazināt.
Zondes iztvaikošana	Ja izmantojat hibrīdizeru, obligāti jāizmanto slapjās strēmeles/ ar ūdeni piepildītas tvertnes. Izmantojot hibrīdizācijas krāsni, obligāti jāizmanto mitruma kamera. Turklāt, lai novērstu parauga izžūšanu hibrīdizācijas laikā, pārklājlapīņa pilnībā jāizlīmē, piemēram, ar Fixogum.
Neatbilstoši izmantotie filtru komplekti	Izmantojiet zondes fluohromiem atbilstošus filtru komplektus. <i>Tīrs joslu caurlaides filtru komplekti nodrošina mazāk gaismas saīdinājumu ar vienas vai divu joslu caurlaides filtru komplektiem. Līdz ar to, izmantojot šos trīsposlu filtru komplektus, signāli var šķist vājāki.</i>

Krustveida hibrīdizācijas signāli; trokšņains fons

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

Morfoloģijas degradācija

Iespējamais iemesls	Rīcība
Paraugš nav pienācīgi nostiprināts	Optimizēt fiksācijas laiku un fiksatoru
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

Paraugš peld no priekšmetstiklīņa

Iespējamais iemesls	Rīcība
Pārāk spēcīga proteolītiskā pirmapstrāde	Pepsīna inkubācijas laika samazināšana

Vājš pretkrāsojums

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

17. Literatūra

- Brockhoff G, et al. (2016) *Histopathology* 69: 635-646.
- Gajaria PK, et al. (2020) *Indian J Pathol Microbiol* 63: 1
- Hwang CC, et al. (2011) *Histopathology* 59: 984-992.
- Holten-Rossing H, et al. (2015) *Breast Cancer Res Treat* 152: 367-375.
- Jensen SG, et al. (2020) *Apmis* 128: 573-582.
- Kievits T, et al. (1990) *Cytogenet Cell Genet* 53: 134-6.
- Köseoğlu RD, et al. (2019) *Eur J Breast Health* 15: 43.
- Nielsen SL, et al. (2017) *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 25: 320-328.
- Pfarr N, et al. (2017) *Genes Chromosomes Cancer* 56: 255-265.
- Schindlbeck C, et al. (2010) *J Cancer Res Clin Oncol* 136: 1029-1037.
- Staněk L, et al. (2014) *Mol Med Rep* 10: 2669-2674.
- Tabarestani S, et al. (2015) *Asian Pac J Cancer Prev* 16: 7997-8002.
- 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 F/xtSH® ir ZytoVision GmbH preču zīmes.