



ZytoLight

CEN 17/SPEC ERBB2 Dual Color Probe

REF Z-2077-50 Σ 5 (0,05 ml)

REF Z-2077-200 Σ 20 (0,2 ml)

Floresan *in situ* hibridizasyon (FISH) ile insan ERBB2 gen amplifikasyonlarının ve kromozom 17'nin alfa uydularının kalitatif tespiti için

4250380P096RC



İn vitro diagnostik tıbbi cihaz

IVDR (AB) 2017/746'ya göre

1. Hedeflenen amaç

ZytoLight CEN 17/SPEC ERBB2 Dual Color Probe (PL36), insan ERBB2 genini içeren amplifikasyonların kalitatif tespitinin yanı sıra meme kanseri ve gastrik/gastroözofageal bileşke kanseri gibi formalinle sabitlenmiş, parafine gömülü örneklerde kromozom 17 alfa uydularının floresan *in situ* hibridizasyon (FISH) ile tespiti için kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Probun **ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit** (Ürün No. Z-2028-5/-20) ile birlikte kullanılması amaçlanmıştır.

Ürün sadece profesyonel kullanım için tasarlanmıştır. Ürünün kullanıldığı tüm testler sertifikalı, lisanslı bir anatomik patoloji laboratuvarında bir patoloğ/insan genetikçisinin gözetimi altında kalifiye personel tarafından gerçekleştirilmelidir.

Probun meme kanseri ve gastrik/gastroözofageal bileşke kanserinin ayırıcı tanısına yardımcı olarak kullanılması amaçlanmıştır ve terapötik önlemler yalnızca test sonucuna göre başlatılmamalıdır.

2. Test prensibi

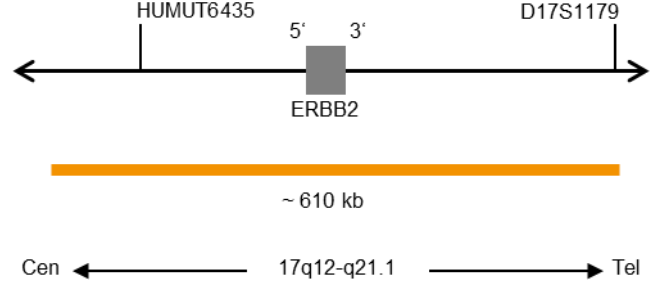
Floresan *in situ* hibridizasyon (FISH) tekniği, hücre preparatlarında spesifik nükleik asit dizilerinin tespit edilmesini ve görüntülenmesini sağlar. FISH problemleri olarak adlandırılan floresan işaretli DNA parçaları ve preparatlardaki tamamlayıcı hedef DNA iplikleri birlikte denatüre edilir ve daha sonra hibridizasyon sırasında tavlanması izin verilir. Daha sonra, spesifik olmayan ve bağlanmamış prob parçaları sık yıkama adımları ile uzaklaştırılır. DNA'nın DAPI ile karşı boyanmasından sonra, hibridize prob parçaları, FISH prob parçalarının doğrudan etiketlendiği florokromlara özgü uyarma ve emisyon filtreleri ile donatılmış bir floresan mikroskobu kullanılarak görselleştirilir.

3. Sağlanan reaktifler

ZytoLight CEN 17/SPEC ERBB2 Dual Color Probe oluşmaktadır:

- ERBB2 gen bölgesini barındıran 17q12-q21.1* (chr17:37,572,531-38,181,308) içinde haritalanan dizileri hedefleyen ZyOrange (uyarma 547 nm/emisyon 572 nm) işaretli polinükleotidler (~10.0 ng/μl) (bkz. Şekil 1).
- Kromozom 17'nin alfa uydu sentromerik bölgesi D17Z1'e özgü 17p11.1-q11.1'de eşlenen dizileri hedefleyen ZyGreen (eksitasyon 503 nm/emisyon 528 nm) etiketli polinükleotidler (~1,5 ng/μl) (bkz. Şekil 1).
- Formamid bazlı hibridizasyon tamponu

*İnsan Genomu Düzenlemesine göre GRCh37/hg19



Şekil 1: SPEC ERBB2 sonda haritası (ölçekli değil)

ZytoLight CEN 17/SPEC ERBB2 Dual Color Probe iki boyutta mevcuttur:

- Z-2077-50: 0,05 ml (her biri 10 μl'lik 5 reaksiyon)
- Z-2077-200: 0,2 ml (her biri 10 μl'lik 20 reaksiyon)

4. Gerekli ancak sağlanmayan malzemeler

- ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit** (Ürün No. Z-2028-5/-20)
- Pozitif ve negatif kontrol numuneleri
- Mikroskop lamaları, pozitif yüklü
- Su banyosu (37 °C, 98 °C)
- Hibridizatör veya sıcak plaka
- Hibridizasyon fırınında hibridizatör veya nem odası
- Ayarlanabilir pipetler (10 μl, 25 μl)
- Boyama kavanozları veya banyoları
- Zamanlayıcı
- Kalibre edilmiş termometre
- Etanol veya reaktif alkol
- Ksilen
- Deiyonize veya damıtılmış su
- Kapaklı Klipsler (22 mm x 22 mm, 24 mm x 60 mm)
- Kauçuk çimento, örneğin **Fixogum Rubber Cement** (Ürün No. E-4005-50/-125) veya benzeri
- Yeterince bakımı yapılmış floresan mikroskobu (400-1000x)
- Floresan mikroskobu için onaylı daldırma yağı
- Uygun filtre setleri

5. Depolama ve taşıma

2-8 °C'de dik konumda ışıktan koruyarak saklayın. Işıktan koruyarak kullanın. Kullanımdan hemen sonra saklama koşullarına geri döndürün. Etiket üzerinde belirtilen son kullanma tarihinden sonra reaktifleri kullanmayın. Ürün, uygun şekilde kullanıldığında etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir.

6. Uyarılar ve önlemler

- Kullanmadan önce kullanım talimatlarını okuyun!
- Reaktifleri son kullanma tarihi geçtikten sonra kullanmayın!
- Bu ürün sağlığa zararlı ve potansiyel olarak bulaşıcı maddeler (düşük konsantrasyonlarda ve hacimlerde) içerir. Reaktiflerle doğrudan temastan kaçının. Uygun koruyucu önlemleri alın (tek kullanımlık eldivenler, koruyucu gözlükler ve laboratuvar giysileri kullanın)!
- Ürünle ilgili olarak meydana gelen her türlü ciddi olayı yerel yönetmeliklere uygun olarak üreticiye ve yetkili makama bildirin!
- Reaktifler ciltle temas ederse, cildi derhal bol miktarda suyla yıkayın!

- Profesyonel kullanıcılar için talep üzerine bir malzeme güvenlik bilgi formu temin edilebilir.
- Tekrar kullanıma açıkça izin verilmediği sürece reaktifleri tekrar kullanmayın!
- Hatalı sonuçlara yol açabileceğinden numunelerin çapraz kontaminasyonundan kaçının.
- Prob uzun süre ışığa, özellikle de güçlü ışığa maruz bırakılmamalıdır, yani tüm adımlar mümkünse karanlıkta ve/veya ışık geçirmez kaplar kullanılarak gerçekleştirilmelidir.

Tehlike ve önlem beyanları:

Tehlikeyi belirleyen bileşen formamiddir.



Tehlike

H351	Kansere neden olduğundan şüpheleniliyor.
H360FD	Doğurganlığa zarar verebilir. Doğmamış çocuğa zarar verebilir.
H373	Uzun süreli veya tekrarlı maruz kalma sonucu organlarda hasara neden olabilir.
P201	Kullanmadan önce özel talimatları alın.
P202	Tüm güvenlik önlemleri okunup anlaşılmadan elleçlemeyin.
P260	Toz/duman/gaz/sis/buhar/sprey solumayın.
P280	Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruması kullanın.
P308+P313	Maruz kaldıysanız veya endişeliyseniz: Tıbbi tavsiye/müdahale alın.
P405	Depo kilitli.

7. Sınırlamalar

- *In vitro* diagnostik kullanım için.
- Sadece profesyonel kullanım içindir.
- Yalnızca otomatik olmayan kullanım içindir.
- Herhangi bir pozitif boyamanın klinik yorumu veya yokluğu, klinik öykü, morfoloji, diğer histopatolojik kriterler ve diğer tanısal testler bağlamında yapılmalıdır. FISH problemleri, reaktifleri, tanı panelleri ve boyalı preparatı üretmek için kullanılan yöntemler hakkında bilgi sahibi olmak kalifiye bir patolog/insan genetikçisinin sorumluluğundadır. Boyama, boyanmış slaytların gözden geçirilmesinden ve pozitif ve negatif kontrollerin yeterliliğinin sağlanmasından sorumlu olan bir patolog/insan genetikçisinin gözetimi altında sertifikalı, lisanslı bir laboratuvarda yapılmalıdır.
- Numune boyaması, özellikle sinyal yoğunluğu ve arka plan boyaması, boyamadan önce numunenin kullanımına ve işlenmesine bağlıdır. Uygun olmayan fiksasyon, dondurma, çözündürme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit alma veya diğer numuneler veya sıvılarla kontaminasyon artefaktlara veya yanlış sonuçlara neden olabilir. Tutarsız sonuçlar, fiksasyon ve gömme yöntemlerindeki farklılıkların yanı sıra numune içindeki doğal düzensizliklerden de kaynaklanabilir.
- Prob yalnızca bölüm 3'te açıklanan lokusları tespit etmek için kullanılmalıdır. "Sağlanan reaktifler".
- Performans, bu kullanım talimatlarında açıklanan prosedürler kullanılarak doğrulanmıştır. Bu prosedürlerde yapılacak değişiklikler performansı değiştirebilir ve kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır. Bu IVD, yalnızca bu kullanım talimatında açıklandığı şekilde amaçlanan kullanım kapsamında kullanıldığında CE sertifikasına sahiptir.

8. Müdahale eden maddeler

Örnekte bulunan kırmızı kan hücreleri, sinyalin tanınmasını engelleyen otofloresans sergileyebilir.

Aşağıdaki fiksatifler FISH ile uyumlu değildir:

- Bouin'in fiksatif
- B5 fiksatif
- Asidik fiksatifler (örn. pikrik asit)
- Zenker fiksatif
- Alkoller (tek başına kullanıldığında)
- Merkürük klorür
- Formaldehit/çinko fiksatif
- Hollande'ın sabitleyicisi
- Tamponlanmamış formalin

9. Numunelerin hazırlanması

Örnekleri ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit kullanım talimatlarında açıklandığı şekilde hazırlayın.

10. Cihazın hazırlık işlemi

Ürün kullanıma hazırdır. Sulandırma, karıştırma veya seyreltme gerekmez. Kullanmadan önce probu oda sıcaklığına (18-25 °C) getirin, ışıktan koruyun. Flakonu açmadan önce vorteksleyerek karıştırın ve kısa bir süre döndürün.

11. Tahlil prosedürü

Numune ön işlemi

ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit kullanım talimatlarına göre numune ön işlemini (mum alma, proteoliz) gerçekleştirin.

Denatürasyon ve hibridizasyon

1. Ön işlemden geçirilmiş her numuneye 10 µl prob pipetleyin.
2. Örnekleri 22 mm x 22 mm lamel ile kaplayın (sıkışmış kabarcıklardan kaçının) ve lameli kapatın.
3. Sızdırmazlık için *kauçuk çimento* (örn. *Fixogum*) kullanmanızı öneririz.
3. Lamaları sıcak bir plakaya veya hibridizatöre yerleştirin ve numuneleri 75 °C'de 10 dakika denatüre edin.
4. Lamaları bir nem odasına aktarın ve gece boyunca 37 °C'de hibridize edin (örn. bir hibridizasyon fırınında).

Hibridizasyon adımı sırasında numunelerin kurumaması çok önemlidir.

Hibridizasyon sonrası

Hibridizasyon sonrası işlemleri (yıkama, karşı boyama, floresan mikroskobu) ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit kullanım talimatlarına göre gerçekleştirin.

12. Sonuçların yorumlanması

Uygun filtre setleri kullanıldığında, probun hibridizasyon sinyalleri yeşil (CEN 17) ve turuncu (ERBB2 gen bölgesi) görünür.

Normal durum: Normal hücrelerin veya ERBB2 gen bölgesini içeren bir amplifikasyon içermeyen hücrelerin interfazlarında, iki yeşil sinyal ve iki turuncu sinyal görünür (bkz. Şekil 2).

Anormal bir durum: ERBB2 gen bölgesinde amplifikasyon olan hücrelerde, turuncu sinyallerin veya turuncu sinyal kümelerinin sayısında artış gözlenecektir (bkz. Şekil 2).

Çakışan sinyaller sarı sinyaller olarak görünebilir.

Yeşil/Turuncu Çift Bant Geçişli Filtre Seti		
Normal Hücreler	Düşük seviye ERBB2 amplifikasyonu	Yüksek düzeyde ERBB2 amplifikasyonu

Şekil 2: Normal ve anormal çekirdeklerde beklenen sonuçlar

Bazı anormal numunelerde yukarıda açıklananlardan farklı sinyal modelleri gözlemlenebilir. Bu beklenmedik sinyal modelleri daha fazla araştırılmalıdır.

Lütfen unutmayın:

- Dekondense kromatin nedeniyle, tek FISH sinyalleri küçük sinyal kümeleri olarak görünebilir. Bu nedenle, ≤ 1 sinyal çapı mesafeyle ayrılmış aynı boyuttaki iki veya üç sinyal tek bir sinyal olarak sayılmalıdır.
- Örtüşen çekirdekleri değerlendirmeyin.
- Aşırı sindirilmiş çekirdekleri saymayın (çekirdeklerin içinde görünen koyu alanlarla tanınır).
- Sinyal tanımayı engelleyen güçlü oto-floresanslı çekirdekleri saymayın.
- Negatif veya spesifik olmayan bir sonuç birden fazla faktörden kaynaklanabilir (bkz. Bölüm 16 "Sorun Giderme").
- Sonuçların doğru bir şekilde yorumlanabilmesi için, kullanıcı bu ürünü tanı prosedürlerinde kullanmadan önce ulusal ve/veya uluslararası kılavuzlara göre doğrulamalıdır.

13. Önerilen kalite kontrol prosedürleri

İşlenmiş numunelerin ve test reaktiflerinin doğru performansını izlemek için, her tahlile dahili ve harici kontroller eşlik etmelidir. Dahili ve/veya harici kontroller uygun boyamayı gösteremezse, hasta numuneleriyle elde edilen sonuçlar geçersiz kabul edilmelidir.

Dahili kontrol: Örnek içinde normal sinyal paterni sergileyen neoplastik olmayan hücreler, örneğin fibroblastlar.

Harici kontrol: Onaylanmış pozitif ve negatif kontrol numuneleri.

14. Performans özellikleri

14.1 Analitik performans

Performans, ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit'in kullanım talimatlarına göre değerlendirilmiştir.

Analitik hassasiyet:	100% (95% CI 98.5 – 100.0)
Analitik özgüllük:	100% (95% CI 97.0 – 100.0)

14.2 Klinik performans

Tanısal duyarlılık:	Meme kanseri: 93% (95% CI 91.0 – 95.0) iki değişkenli bir modele dayalı Mide kanseri ve gastroözofageal bileşke kanseri: 88% (95% CI 74.0 – 95.0) iki değişkenli bir modele dayalı
Tehsis özgüllüğü:	Meme kanseri: 98% (95% CI 97.0 – 99.0) iki değişkenli bir modele dayalı Mide kanseri ve gastroözofageal bileşke kanseri: 95% (95% CI 92.0 – 97.0) iki değişkenli bir modele dayalı

15. Bertaraf

Reaktiflerin imhası yerel yönetmeliklere uygun olarak gerçekleştirilmelidir.

16. Sorun Giderme

Kullanım talimatlarından herhangi bir sapma, düşük boyama sonuçlarına veya hiç boyama olmamasına neden olabilir. Daha fazla bilgi için lütfen www.zytovision.com adresine bakın.

Zayıf sinyaller veya hiç sinyal yok

Olası neden	Eylem
Hücre veya doku örneği uygun şekilde sabitlenmemiş	Fiksasyon süresini ve fiksatif optimize edin veya <u>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit</u> kılavuzunun "tahlil prosedürü" bölümünde açıklandığı gibi bir post-fiksasyon adımı uygulayın
Proteolitik ön işlem düzgün yapılmamış	Pepsin inkübasyon süresini optimize edin, gerekirse artırın veya azaltın
Buharlaştırma probu	Bir hibridizatör kullanırken, ıslak şeritlerin/su dolu tankların kullanılması zorunludur. Bir hibridizasyon fırını kullanıldığında, bir nem odasının kullanılması gereklidir. Ayrıca, hibridizasyon sırasında numunenin kurumasını önlemek için lamel, örneğin Fixogum ile tamamen kapatılmalıdır
Kullanılan uygunsuz filtre setleri	Proben flokromlarına uygun filtre setleri kullanın. <i>Üçlü bant geçiren filtre setleri, tekli veya ikili bant geçiren filtre setlerine kıyasla daha az ışık sağlar. Sonuç olarak, bu üçlü bant geçiren filtre setleri kullanıldığında sinyaller daha soluk görünebilir</i>

Çapraz hibridizasyon sinyalleri; gürültülü arka plan

Olası neden	Eylem
Eksik mum alma	Taze solüsyonlar kullanın; mum alma süresini kontrol edin
Proteolitik ön işlem çok güçlü	Pepsin inkübasyon süresini azaltın
Hibridizasyondan önce oda sıcaklığına soğutulmuş slaytlar	Lamları hızlı bir şekilde 37 °C'ye aktarın

Morfoloji bozulmuş

Olası neden	Eylem
Hücre veya doku örneği uygun şekilde sabitlenmemiştir	Fiksasyon süresini ve fiksatif optimize edin veya <u>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit</u> kılavuzunun "tahlil prosedürü" bölümünde açıklandığı gibi bir post-fiksasyon adımı uygulayın
Proteolitik ön işlem düzgün yapılmamış	Pepsin inkübasyon süresini optimize edin, gerekirse azaltın
Prob uygulamasından önce yetersiz kurutma	Hava ile kurutmayı uzatın

Örtüşen çekirdekler

Olası neden	Eylem
Doku kesitlerinin uygun olmayan kalınlığı	2-4 µm mikrotom kesitleri hazırlayın

Numune lam üzerinde yüzür

Olası neden	Eylem
Proteolitik ön işlem çok güçlü	Pepsin inkübasyon süresini azaltın

Zayıf karşı leke

Olası neden	Eylem
Düşük konsantrasyonlu DAPI çözeltisi	Bunun yerine <u>DAPI/DuraTect-Solution (ultra)</u> (Ürün No. MT-0008-0.8) kullanın

DAPI inkübasyon süresi çok kısa	DAPI inkübasyon süresini ayarlayın
---------------------------------	------------------------------------

17. Edebiyat

- 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.
- Page R, et al. (2022) *PloS one* 17(6): e0270139
- 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. Revizyon



www.zytovision.com

En güncel kullanım talimatları ve farklı dillerdeki kullanım talimatları için lütfen www.zytovision.com adresine bakın.

Uzmanlarımız sorularınızı yanıtlamak için hazırdır. Lütfen helptech@zytovision.com ile iletişime geçin Güvenlik ve performans özeti için lütfen bkz. www.zytovision.com.



ZytoVision GmbH
Fischkai 1
27572 Bremerhaven/ Almanya
Telefon numarası: +49 471 4832-300
Faks: +49 471 4832-509
www.zytovision.com
E-posta: info@zytovision.com

Ticari markalar:

ZytoVision® ve ZytoLight®, ZytoVision GmbH'nin ticari markalarıdır.