



## ZytoLight

### SPEC MYB Dual Color Break Apart Probe

REF	Z-2143-50	Σ	5 (0,05 ml)
REF	Z-2143-200	Σ	20 (0,2 ml)

6q23.3'de insan MYB genini içeren translokasyonların floresan *in situ* hibridizasyon (FISH) ile kalitatif tespiti için

4250380P204QP



İn vitro diagnostik tıbbi cihaz

IVDR (AB) 2017/746'ya göre

#### 1. Hedeflenen amaç

The **ZytoLight SPEC MYB Dual Color Break Apart Probe (PL100)**, adenoid kistik karsinom (ACC) gibi sitolojik veya formalinle sabitlenmiş, parafine gömülü örneklerde 6q23.3'te insan MYB genini içeren translokasyonların floresan *in situ* hibridizasyon (FISH) ile kalitatif tespiti için kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Prob, **ZytoLight FISH Implementation Kits** (Ürün No. Z-2028-5 veya Z-2099-20) ile birlikte kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

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

Sonda, ACC'nin ayırıcı tanısına yardımcı olarak kullanılmak üzere tasarlanmıştır ve terapötik önlemler yalnızca test sonucuna göre başlatılmamalıdır.

#### 2. Test prensibi

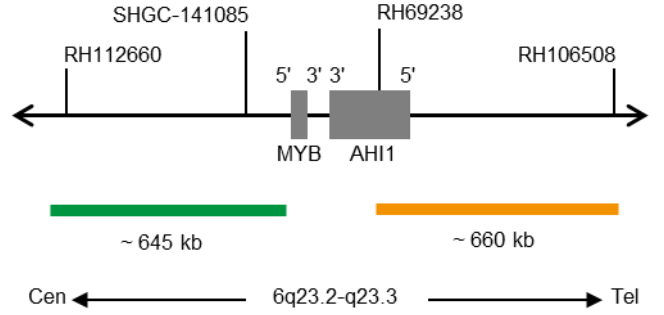
Floresan *in situ* hibridizasyon (FISH) tekniği, hücre preparatlarında spesifik nükleik asit dizilerinin tespit edilmesini ve görüntülenmesini sağlar. FISH problemleri olarak adlandırılan floresan işaretli DNA parçaları ve preparatlardaki tamamlayıcı hedef DNA iplikleri birlikte denatüre edilir ve daha sonra hibridizasyon sırasında tavlama 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 mikroskopu kullanılarak gözlemlenir.

#### 3. Sağlanan reaktifler

**ZytoLight SPEC MYB Dual Color Break Apart Probe** oluşmaktadır:

- ZyGreen (eksitasyon 503 nm/emisyon 528 nm) işaretli polinükleotidler (~10 ng/μl), 6q23.2-q23.3\* (chr6:134,840,690-135,483,752) MYB kırılma noktası bölgesinin proksimalinde eşlenen dizileri hedefler (bkz. Şekil 1).
- MYB kırılma noktası bölgesinin distalinde 6q23.3\* (chr6:135,728,667-136,390,142) içinde eşlenen dizileri hedefleyen ZyOrange (eksitasyon 547 nm/emisyon 572 nm) etiketli polinükleotidler (~4,5 ng/μl) (bkz. Şekil 1).
- Formamid bazlı hibridizasyon tamponu

\*İnsan Genomu Düzenlemesine göre GRCh37/hg19



Şekil 1: SPEC MYB sonda haritası (ölçekli değil)

**ZytoLight SPEC MYB Dual Color Break Apart Probe** iki boyutta mevcuttur

- Z-2143-50: 0.05 ml (her biri 10 μl'lik 5 reaksiyon)
- Z-2143-200: 0.2 ml (her biri 10 μl'lik 20 reaksiyon)

#### 4. Gerekli ancak sağlanmayan malzemeler

- Pozitif ve negatif kontrol numuneleri
- Hibridizatör veya sıcak plaka
- Hibridizasyon fırınında hibridizatör veya nem odası
- Zamanlayıcı
- Boyama kavanozları veya banyoları
- Kalibre edilmiş termometre
- Ayarlanabilir pipetler (10 μl, 25 μl)
- Etanol veya reaktif alkol
- 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 mikroskopu (400-1000x)
- Floresan mikroskopu için onaylı daldırma yağı
- Uygun filtre setleri

#### Sitoloji Örnekleri

- ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit** (Ürün No. Z-2099-20)
- Mikroskop lamaları, kaplanmamış
- Su banyosu (70 °C)
- 37 formaldehit, asitsiz veya %10 formalin, nötral tamponlu
- 2x Salin-Sodyum Sitrata (SSC), örneğin, **20x SSC Solution** (Ürün No. WB-0003-50)

#### FFPE Örnekleri

- ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit** (Ürün No. Z-2028-5/-20)
- Mikroskop lamaları, pozitif yüklü
- Su banyosu (37 °C, 98 °C)
- Ksilen

#### 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.
- Yeniden kullanıma açıkça izin verilmediği sürece reaktifleri yeniden 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 tanı testleri 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 numunedeki 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 fiksatifi
- B5 fiksatif
- Asidik fiksatifler (örn. pikrik asit)
- Zenker fiksatifi
- Alkoller (tek başına kullanıldığında)
- Merkürük klorür
- Formaldehit/çinko fiksatifi
- Hollanda'nın sabitleyicisi
- Tamponlanmamış formalin

## 9. Numunelerin hazırlanması

Örnekleri, ilgili ZytoVision Implementation Kit'nin 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

### Sitoloji Örnekleri

#### Numune ön işlemi

Numune ön işlemini ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit kullanım talimatlarına göre 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.

*Sızdırmazlık için kauçuk çimento (örn. Fixogum) kullanmanızı öneririz.*

3. Lamaları sıcak bir plakaya veya hibridizatöre yerleştirin ve örnekleri 72 °C'de 5 dakika boyunca denatüre edin.
4. Lamayı bir nem odasına aktarın ve gece boyunca 37 °C'de hibridize edin (örneğin, bir hibridizasyon fırınında).

*Hibridizasyon adımı sırasında numunelerin kurumaması çok önemlidir.*

#### Hibridizasyon sonrası

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

### FFPE Örnekleri

#### 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.

*Sızdırmazlık için kauçuk çimento (örn. Fixogum) kullanmanızı öneririz.*

3. Lamaları sıcak bir plaka veya hibridizatör üzerine yerleştirin ve örnekleri 75 °C'de 10 dakika denatüre edin
4. Lamaları bir nem odasına aktarın ve gece boyunca 37 °C'de hibridize edin (örneğin, 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.

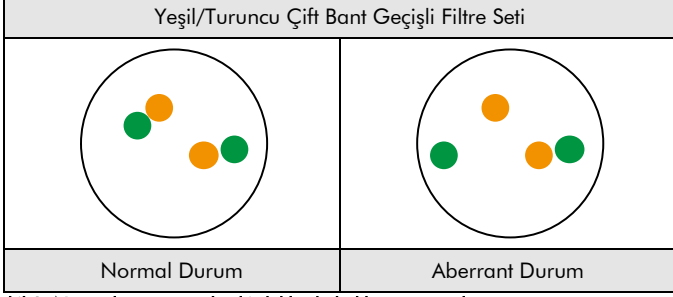
## 12. Sonuçların yorumlanması

Uygun filtre setleri kullanıldığında, probun hibridizasyon sinyalleri yeşil (MYB kırılma noktası bölgesinin proksimalinde) ve turuncu (MYB kırılma noktası bölgesinin distalinde) görünür.

**Normal durum:** Normal hücrelerin veya MYB gen bölgesini içeren bir translokasyonu olmayan hücrelerin interfazlarında, iki yeşil/turuncu füzyon sinyali görülür (bkz. Şekil 2).

**Anormal bir durum:** Bir translokasyondan etkilenen bir MYB gen bölgesi, bir ayrı yeşil sinyal ve bir ayrı turuncu sinyal ile gösterilir (bkz. Şekil 2).

*Çakışan sinyaller sarı sinyaller olarak görünebilir.*



Şekil 2: Normal ve anormal çekirdekte beklenen sonuçlar

Küçük delesyonlar, duplikasyonlar veya inversiyonlardan kaynaklanan genomik sapmalar göze çarpmayan sinyal modellerine neden olabilir.

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,  $\leq 1$  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 Implementation Kits*'in kullanım talimatlarına göre değerlendirilmiştir.

<b>Analitik hassasiyet:</b>	100% (95% CI 98.5 – 100.0)
<b>Analitik özgüllük:</b>	100% (95% CI 97.0 – 100.0)

## 14.2 Klinik performans

<b>Tanısıl duyarlılık:</b>	90% (95% CI 61.5 – 99.8) vs. RT-PCR 100% (95% CI 75.7 – 99.1) vs. NGS 100% (95% CI 61.5 – 99.8) vs. RNA dizilimi
<b>Teşhis özgüllüğü:</b>	100% (95% CI 61.5 – 99.8) vs. RT-PCR 88.89% (95% CI 75.7 – 99.1) vs. NGS 83.33% (95% CI 61.5 – 99.8) vs. RNA dizilimi

## 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. Bu bölümdeki bazı ipuçları yalnızca *ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit* kullanıldığında geçerlidir. Daha fazla bilgi için lütfen [www.zytovision.com](http://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 <i>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit</i> 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. Ek olarak, hibridizasyon sırasında örneğin kurummasını önlemek için lamel Fixogum ile tamamen kapatılmalıdır
Kullanılan uygunsuz filtre setleri	Probu 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 sabitlenmemiş	Fiksasyon süresini ve fiksatif optimize edin veya <i>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit</i> 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 yüzer**

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**

- Kievits T, et al. (1990) *Cytogenet Cell Genet* 53: 134-6.
- Martelotto LG, et al. (2015) *J Pathol*.
- Massé J, et al. (2020) *Mod Pathol*.
- Sun B, et al. (2021) *Am J Cancer Res*.
- Wilkinson DG: In Situ Hybridization, A Practical Approach, *Oxford University Press* (1992) ISBN 0 19 963327 4.

**18. Revizyon**[www.zytovision.com](http://www.zytovision.com)

En güncel kullanım talimatları ve farklı dillerdeki kullanım talimatları için lütfen [www.zytovision.com](http://www.zytovision.com) adresine bakın.

Uzmanlarımız sorularınızı yanıtlamak için hazırdır. Lütfen [helptech@zytovision.com](mailto:helptech@zytovision.com) ile iletişime geçin. Güvenlik ve performans özeti için lütfen bkz. [www.zytovision.com](http://www.zytovision.com).



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

**Ticari markalar:**

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