*Zyto*Light
SPEC CKS1B/CDKN2C Dual Color Probe

REF Z-2276-50 — 5 (0,05 ml)

REF Z-2276-200 — 20 (0,2 ml)

CKS1B genini içeren amplifikasyonların/kazanımların ve CDKN2C genini içeren delesyonların floresan *in situ* hibridizasyon (FISH) ile kalitatif tespiti için

4250380P361R8

CE 0483

IVD

İn vitro diagnostik tıbbi cihaz

IVDR (AB) 2017/746'ya göre

1. Hedeflenen amaç

Zyto*Light* SPEC CKS1B/CDKN2C Dual Color Probe (**PL232**), sitolojik örneklerde 1q21.3-q22'de insan CKS1B genini içeren amplifikasyonların/kazanımların ve 1p32.3'te insan CDKN2C genini içeren delesyonların floresan in situ hibridizasyon (FISH) ile kalitatif tespiti için kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Probun Zyto*Light* FISH-Cytology Implementation Kit (Ürün No. Z-2099-20) ile birlikte kullanılması amaçlanmıştır.

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.

Probun çeşitli kanserlerin ayırıcı tanısına yardımcı olarak kullanılması amaçlanmıştır ve terapötik önlemler yalnızca test sonucuna göre başlatılmamalıdır.

2. Test prensibi

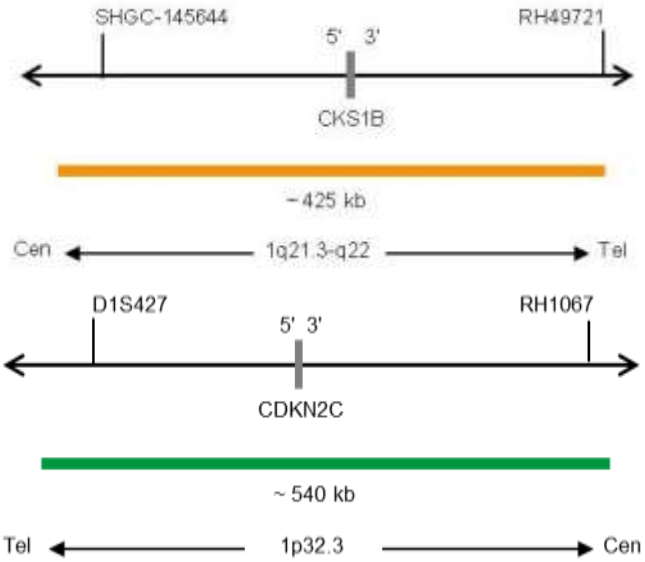
Floresan *in situ* hibridizasyon (FISH) tekniği, hücre preparatlarında spesifik nükleik asit dizilerinin tespit edilmesini ve görüntülenmesini sağlar. FISH probları olarak adlandırılan floresan işaretli DNA parçaları ve preparatlardaki tamamlayıcı hedef DNA iplikleri birlikte denatüre edilir ve daha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

Zyto*Light* SPEC CKS1B/CDKN2C Dual Color Probe oluşmaktadır:

- CDKN2C gen bölgesini barındıran 1q21.3-q22* (chr1:154,722,168-155,144,639) içinde haritalanan dizileri hedefleyen ZyGreen (eksitasyon 503 nm/emisyon 528 nm) işaretli polinükleotitler (~10.0 ng/µl) (bkz. Şekil 1).
- CKS1B gen bölgesini barındıran 1q21.3-q22* (chr1:154,722,168-155,144,639) içinde haritalanan dizileri hedefleyen ZyOrange (uyarma 547 nm/emisyon 572 nm) işaretli polinükleotitler (~4,5 ng/µl) (bkz. Şekil 1).
- Formamid bazlı hibridizasyon tamponu

*İnsan Genomu Düzenlemesine göre GRCh37/hg19



Şekil 1: Üst: SPEC CKS1B Prob haritası, Alt: SPEC CDKN2C Prob haritası (ölçeklendirilmemiştir)

Zyto*Light* SPEC CKS1B/CDKN2C Dual Color Probe iki boyutta mevcuttur:

- Z-2276-50: 0,05 ml (her biri 10 µl'lik 5 reaksiyon)
- Z-2276-200: 0,2 ml (her biri 10 µl'lik 20 reaksiyon)

4. Gerekli ancak sağlanmayan malzemeler

- Zyto*Light* FISH-Cytology Implementation Kit (Ürün No. Z-2099-20)
- Pozitif ve negatif kontrol numuneleri
- Mikroskop lamları, kaplanmamış
- Su banyosu (70 °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
- 37 formaldehit, asitsiz veya %10 formalin, nötral tamponlu
- 2x Salin-Sodyum Sitrat (SSC), örneğin, 20x SSC Solution (Ürün No. WB-0003-50)
- 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

- *İn vitro* diagnostik kullanım için.
- Sadece profesyonel kullanım içindir.
- Yalnızca otomatik olmayan kullanım içindir.
- İlgilenilen anormal sinyal modeli için analitik normal sınır, kalifiye bir patolog/insan genetikçisi tarafından belirlenmelidir.
- Herhangi bir pozitif boyamanın klinik yorumu veya yokluğu, klinik öykü, morfoloji, diğer histopatolojik kriterler ve diğer tanı testleri bağlamında yapılmalıdır. FISH probları, reaktifleri, tanı panelleri ve boyalı preparatı üretmek için kullanılan yöntemler hakkında bilgi sahibi olmak kalifiye bir patolog/insan genetikçisinin sorumluluğundadır. Boyama, boyanmış slaytları gözden geçirmekten ve pozitif ve negatif kontrollerin yeterliliğini sağlamaktan 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, çözdürme, 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.

9. Numunelerin hazırlanması

Örnekleri ZytoLight FISH-Cytology 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
Numune ön işlemini (mum alma, proteoliz) 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. Lamları bir sıcak plaka veya hibridizatör üzerine yerleştirin ve örnekleri 72 °C'de 5 dakika denatüre edin.
4. Lamları 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-Cytology Implementation Kit kullanım talimatlarına göre gerçekleştirin.

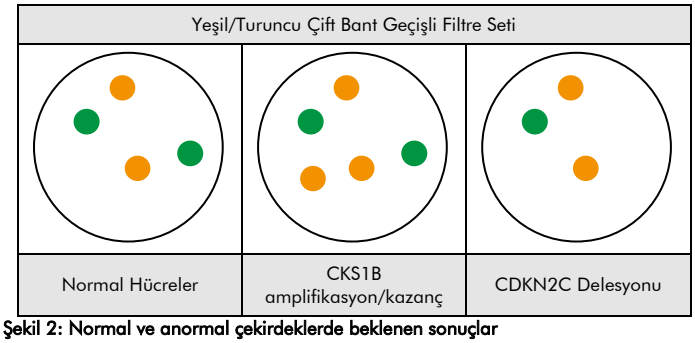
12. Sonuçların yorumlanması

Uygun filtre setleri kullanıldığında, probun hibridizasyon sinyalleri yeşil (CDKN2C gen bölgesi) ve turuncu (CKS1B gen bölgesi) görünür.

Normal durum: Normal hücrelerin veya CKS1B gen bölgesini içeren bir amplifikasyon/kazanım veya CDKN2C gen bölgesini içeren bir delesyon içermeyen hücrelerin interfazlarında, iki turuncu sinyal ve iki yeşil sinyal görünür (bkz. Şekil 2).

Anormal bir durum: CKS1B gen bölgesinde amplifikasyon/kazanım olan hücrelerde, artan sayıda turuncu sinyal gözlenecektir. CDKN2C gen bölgesini etkileyen delesyona sahip bir hücrede, daha az sayıda yeşil sinyal gözlenecektir. CDKN2C gen bölgesinin sadece bir kısmını etkileyen delesyonlar, boyutu azalmış yeşil sinyallerle normal bir sinyal modeliyle sonuçlanabilir (bkz. Şekil 2).

Çakışan sinyaller sarı sinyaller olarak görünebilir.



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

Performans, ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kitin kullanım talimatlarına göre değerlendirilmiştir.

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

Günden Güne Tekrar Üretilebilirlik, bir denetçinin 10 farklı günde elde ettiği sonuçları karşılaştırarak ve uyumu değerlendirerek test edilmiştir..

	Yüzde Anlaşma
negatif numune	100%
pozitif numune	100%

Tekrarlanabilirlik, bir denetçiden 10 farklı günde elde edilen tekrarlanan sonuçlar karşılaştırılarak ve uyum değerlendirilerek test edilmiştir.

	Yüzde Anlaşma
negatif numune	100%
pozitif numune	100%

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
Proteolitik ön işlem düzgün yapılmamış	Pepsin inkübasyon süresini optimize edin, gerekirse artırın veya azaltın
Buharlaşma 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 kurumasını önlemek için lamel Fixogum ile tamamen kapatılmalıdır
Kullanılan uygunsuz filtre setleri	Probun flokromlarına uygun filtre setleri kullanın. 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

Çapraz hibridizasyon sinyalleri; gürültülü arka plan

Olası neden	Eylem
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
Proteolitik ön işlem düzgün yapılmamış	Pepsin inkübasyon süresini optimize edin, gerekirse azaltın
Prob uygulamasından önce yetersiz kurutma	Hava ile kurutmayı uzatın

Zayıf karşı leke

Olası neden	Eylem
Düşük konsantrasyonlu DAPI çözeltisi	Bunun yerine DAPI/DuraTect-Solution (ultra) (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.
- 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.