

Kullanım Talimatları (IFU)

Cen X/Y/21  $\alpha$ -satellite Probe Combination TC

REF ELZ-1009/1

CE IVD

Vücut dışında kullanılan (in vitro) tıbbi  
tanı cihazı 98/79/EC AB Yönetmeliğine göre



**Kullanım Amacı**

ELZ-1009 iFISH® Cen X/Y/21  $\alpha$ -satellite Probe Combination TC, floresan in situ hibridizasyon (FISH) tekniği ile insan X, Y ve 21. kromozomlarının sayısal anomalilerinin tespitine yönelik olarak geliştirilmiş, prenatal tanı ve konjenital anomaliler ile ilişkili sitogenetik değerlendirmelerde kullanılan bir üç renkli prob kombinasyonudur.

**Klinik Bağlantı**

Trizomi 21 (Edwards Sendromu), prenatal dönemde tespit edilebilen en yaygın otozomal sayısal anomalilerden biridir ve ciddi gelişimsel bozukluklar, konjenital kalp defektleri, kraniyofasiyal dismorfiler ve yaşla bağdaşmayan birçok fenotipik bulgu ile karakterizedir. Ayrıca, Turner Sendromu (45,X), Klinefelter Sendromu (47,XXY), 47,YYY ve 47,XXX gibi cinsiyet kromozomu anöloidileri de prenatal tanıda sık olarak incelenen genetik bozukluklar arasında yer alır. X kromozomuna özgü DXZ1 (Xp11.1-q11.1), Y kromozomuna özgü DYZ3 (Yp11.1-q11.1) ve 21. kromozoma özgü 21q22.13 dizilerini hedefleyen üç farklı renkli prob içermektedir. Bu sayede, anöloid taramaları kapsamında sayısal kromozomal bozuklukların doğrudan ve hızlı bir şekilde saptanmasına olanak tanır.

Geleneksel sitogenetik yöntemlere kıyasla daha kısa sürede sonuç veren FISH tabanlı analizler, özellikle fetal hücrelerden elde edilen çekirdek içi kromozom yapılarını değerlendirme açısından avantaj sağlar. Bu nedenle, söz konusu kit, invaziv prenatal tanı prosedürleri (amniyosentez, CVS) sırasında elde edilen örneklerde trizomi ve cinsiyet kromozomu anomalilerinin doğrulanmasına değerli bir moleküler sitogenetik araç olarak kabul edilmektedir.

**Test Prensipli**

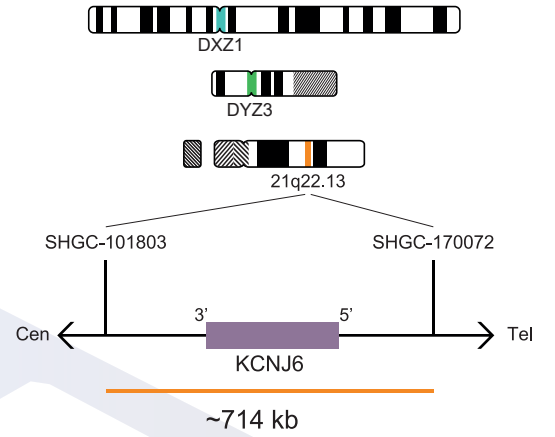
iFISH® ürünleri, hedeflenen genetik bölgelere özgü olarak tasarlanmış DNA problemlerinin, örnek hücre DNA'sı ile in situ melezlenmesine dayanmaktadır. Hazırlanan lamalar üzerinde bulunan hücreler sabitlenip denatüre edilir; ardından, işaretli prob örnek DNA ile hibrit oluşturmak üzere uygulanır. Hibridizasyon sonrasında, bağlanmamış problemler yıkama adımları ile uzaklaştırılır. Yıkama işleminin ardından, DNA'nın zıt boyanması amacıyla DAPI uygulanır. Bu işlem, hücresel morfolojinin belirginleşmesini ve kromatin yapısının değerlendirilmesini sağlar. Hibridize olmuş prob fragmentleri, FISH problemlerine doğrudan bağlı florokromlara özgü eksitasyon ve emisyon filtrelerine sahip bir floresan mikroskopu kullanılarak görüntülenir. Kullanılan prob tipi (ör. delesyon, amplifikasyon, breakapart veya füzyon problemleri), elde edilen sinyal deseninin yorumlanmasını sağlar. Bu yöntem, hem metafaz kromozomlarında hem de interfaz çekirdeklerinde kalitatif değerlendirme yapılmasına olanak sunar.

**Sağlanan Reaktifler**

**Prob Spesifikasyonu:**

- DXZ1, Xp11.1-q11.1, Mavi 2.0
- DYZ3, Yp11.1-q11.1, Yeşil
- 21q22.13, Turuncu

Mavi 2.0 floroforla işaretlenmiş prob bileşeni, X kromozomunun sentromerik bölgesinde yer alan DXZ1 dizisini hedef alır ve Xp11.1-q11.1 bandına özgüdür. Yeşil floroforla işaretlenmiş prob bileşeni, Y kromozomunun sentromerik bölgesinde yer alan DYZ3 dizisini hedef alır ve Yp11.1-q11.1 bandına özgüdür. Turuncu floroforla işaretlenmiş prob bileşeni, 21. kromozomun sentromerik bölgesinde yer alan 21q22.13 dizisini hedef alır ve 21q22.13 bandına özgüdür.



**Gerekli Diğer Malzemeler**

- 70 °C'ye ayarlanabilir su banyosu
- 80 °C'ye kadar ısıtılabilen hibridizasyon cihazı veya sıcak levha
- Hibridizasyon sırasında kullanılmak üzere nemli kap
- Mikroskop lamaları
- 24 x 24 mm boyutunda lameller
- 37 °C'ye ayarlanabilir etüv
- Uygun donanıma sahip floresan mikroskop
- Floresan mikroskopa uyumlu, onaylanmış immersiyon yağı
- Kalibre edilmiş termometre
- Zamanlayıcı / zaman sayacı
- Kauçuk yalıtım çözümü (örneğin: Fixogum Rubber Cement)
- Preparat yıkama kapları
- Deiyonize veya distile su
- Tween-20
- %100 etanol
- 20X SSC (Sodyum salin sitrat) çözeltisi

**Florokrom Spesifikasyon**

Florokrom	Eksitasyon maks.	Emisyon maks.
Mavi 2.0	400 nm	423 nm
Yeşil	547 nm	576 nm
Turuncu	547 nm	576 nm

**Uyarılar ve Tedbirler**

- Bu ürün yalnızca in vitro tanı amaçlıdır ve yalnızca profesyonel kullanıcılar tarafından kullanılmalıdır.
- Kullanmadan önce kullanım talimatlarını okuyun!
- DNA problemleri ve DAPI içeren reaktiflerle çalışırken tek kullanımlık eldiven, koruyucu gözlük ve laboratuvar önlüğü giyilmelidir.
- DAPI, olası kanserojen etkileri nedeniyle dikkatle kullanılmalıdır.
- Reaktiflerle doğrudan temastan kaçınılmalıdır. Cilt ile temas halinde, temas bölgesi derhal bol su ile yıkanmalıdır.
- Prob, doğrudan işiğe karşı hassastır. Tüm işlemler mümkünse karanlık ortamda ya da ışık geçirmez malzemelerle gerçekleştirilmelidir.
- Numunelerin çapraz kontaminasyonundan kaçınılmalı, her örnek için ayrı ve steril ekipman kullanılmalıdır.
- Protokolde belirtilen adımlar dışına çıkılması, yanlış pozitif/negatif sonuçlara yol açabilir.
- Problemler farklı ürünlerle seyreltilmemeli veya karıştırılmamalıdır.
- Operatörün turuncu, yeşil ve mavi renkleri ayırt edebilme yetisine sahip olması beklenir.
- Tüm atıklar, kurumunuzun biyolojik ve kimyasal atık yönetmeliğine uygun olarak bertaraf edilmelidir.
- Reaktiflerin son kullanma tarihleri kontrol edilmeli ve süresi geçmiş ürünler kullanılmamalıdır.
- Profesyonel kullanıcılar için talep edilmesi halinde, ürünle ilişkili Malzeme Güvenlik Bilgi Formu (MSDS) temin edilebilir.

## Saklama ve Kullanım Koşulları

- iFISH® kitleri, etiket üzerinde belirtilen son kullanma tarihine kadar -25 °C ile -15 °C arasında bir dondurucuda saklanmalıdır.
- Prob ve karşıt boya şişeleri doğrudan ışık almayan, karanlık bir ortamda muhafaza edilmelidir.
- Reaktiflerin sürekli ışığa maruz kalması, floresan sinyal kalitesini olumsuz etkileyebilir. Kullanım ve saklama sırasında ışığa karşı korunmalıdır.
- Kullanımdan hemen sonra reaktifler, saklama koşullarına uygun şekilde geri yerleştirilmelidir.
- Reaktiflerin etiket üzerinde belirtilen son kullanma tarihi aşıldıysa kullanılmamalıdır.
- Uygun saklama ve kullanım koşullarında, ürünler son kullanma tarihine kadar stabilitesini korur.

## Sınırlamalar

- Bu ürün yalnızca in vitro tanı amaçlıdır ve profesyonel kullanım için tasarlanmıştır.
- Test yalnızca FISH yönteminde uzman, yetkin ve deneyimli laboratuvar personeli tarafından uygulanmalı; yorumlama işlemi patoloji ve sitogenetik konusunda yetkin kişilerce yapılmalıdır.
- FISH sonuçları, klinik tanı için tek başına yeterli değildir. Yorumlama, hastanın klinik öyküsü, morfolojik bulguları, diğer laboratuvar testleri ve tanısal kriterlerle birlikte yapılmalıdır.
- Problar yalnızca kullanım kılavuzunda tanımlanan hedef lokusları tespit etmek amacıyla kullanılmalıdır. Hedef bölge dışında kalan genomik kayıplar, delesyonlar veya yapısal değişiklikler bu ürün ile tespit edilemez.
- FISH sinyalinin kalitesi, numunenin hazırlanma süreci (örneğin: fiksasyon, kurutma, yıkama, ısıtma, dondurma, kesit alma) ile doğrudan ilişkilidir. Bu adımlarda yapılan hatalar, zayıf sinyal, arka plan boyanması veya artefaktlara yol açabilir.
- Preparat kalitesi ve numune bütünlüğü, sinyal yoğunluğu ve lokalizasyonunun tutarlılığı üzerinde etkili olabilir. Örneğin yapısal bozuklukları ve heterojenitesi, yorumlamayı güçleştirebilir.
- Kullanım kılavuzunda tanımlanan prosedürler dışında yapılan uygulamalar, testin performansını ve güvenilirliğini olumsuz etkileyebilir.
- Protokole bağlı kalınmaması durumunda yanlış pozitif veya yanlış negatif sonuçlar meydana gelebilir.
- Tedavi kararları, yalnızca FISH analiz sonuçlarına dayanarak verilmemelidir; diğer tanısal testler ve klinik değerlendirme ile birlikte ele alınmalıdır.

## FISH Protokolü

### 1. Preparat Hazırlığı

- Hücre süspansiyonu, temiz bir mikroskop lamı üzerine damlatılır ve oda sıcaklığında tamamen kurutulur.
- (İsteğe bağlı) Hücresel atıkları uzaklaştırmak ve sinyal-gürültü oranını iyileştirmek amacıyla, preparatlar 2xSSC'de 2 dakika inkübe edilir. Ardından %70, %85 ve %100 etanol serilerinde sırasıyla 2'şer dakika dehidrasyon uygulanır.

### 2. Prob Uygulanması

- Kurumuş preparat üzerine 10 µl prob damlatılır.
- Üzerine 24 x 24 mm lamel kapatılır ve problemlerin buharlaşmasını önlemek için kenarları kauçuk yalıtım solüsyonu (örneğin Rubber Cement) ile sabitlenir.

### 3. Denatürasyon ve Hibridizasyon

- Preparatlar, 72 °C'de 4 dakika denatüre edilir.
- Ardından, 37 °C'de nemli ortamda 16–18 saat boyunca hibridizasyon gerçekleştirilir.

### 4. Yıkama İşlemleri

- Lameli ve yapıştırıcıyı dikkatlice kaldırın.
- Hibridizasyon sonrası lamalar, 72 °C'de 0,4xSSC içinde 30 saniye yıkanır.
- Ardından, oda sıcaklığında hazırlanmış 2xSSC / 0,05% Tween-20 çözeltisinde 1 dakika yıkanır.

### 5. Karşıt Boyama ve Saklama

- Kurumuş preparat üzerine 10 µl DAPI Counterstain damlatılır ve 24 x 24 mm lamel ile kapatılır.
- Renğin belirginleşmesi için 4 °C'de 10 dakika bekletin.
- Floresan mikroskop kullanarak analiz edin.

## Performans Özellikleri

### 1. Doğruluk

Klinik örneklerde yüksek korelasyon (>%98) ile konvansiyonel sitogenetik analizleri destekler.

### 2. Analitik Duyarlılık

Kromozomal mozaiklik durumlarında %5–10 oranında düşük düzeydeki hücre alt klonlarını saptayabilir.

### 3. Analitik Özgüllük

Sadece DXZ1, DY3 ve 21q22.13 bölgelerine hibritizasyon sağlar; non-spesifik bağlanma gözlenmez.

### 4. Tekrarlanabilirlik

Farklı operatörler ve günler arasında yapılan analizlerde tutarlı sinyal örüntüsü sağlanmıştır.

### 5. Klinik Uygunluk

Prenatal tanıda kullanılan 250'den fazla örnek ile valide edilmiş, klinik karar destek aracı olarak kullanılabilir.

## Sorun Giderme

### Zayıf Sinyal veya Hiç Sinyal

Olası Sebep	Açıklama	Önerilen Çözüm
Hedef DNA dizisinin örnekte bulunmaması	Test edilen örnekte hedeflenen genetik yeniden düzenleme mevcut olmayabilir.	Uygun pozitif ve negatif kontroller ile testin doğruluğunu teyit edin.
Hatalı sıcaklık yönetimi (proteoliz, denatürasyon, hibridizasyon, yıkama)	Sıcaklık sapmaları hibridizasyon verimliliğini azaltarak sinyal kaybına neden olabilir.	Kullanılan tüm cihazların sıcaklıklarını kalibre edilmiş termometre ile doğrulayın.
Proteolitik ön işlem süresinin yetersiz veya aşırı olması	Yetersiz enzim inkübasyonu hedef dizilere erişimi kısıtlar; aşırı inkübasyon hücresel yapıları tahrip edebilir.	Pepsin inkübasyonu süresini optimize ederek hücre morfolojisini ve sinyal kalitesini dengeleyin.
Hibridizasyon sırasında prob buharlaşması	Prob solüsyonunun buharlaşması hibridizasyon verimliliğini düşürür.	Nemli ortam sağlayın, lamelleri Fixogum gibi bir lastik solüsyonla iyice yalıtarak kurumayı önleyin.
Güçlü yıkama tamponu konsantrasyonunun hatalı hazırlanması	Çok seyreltilmiş yıkama tamponları bağlanmış problemleri yeterince koruyamaz.	Yıkama tamponlarının doğru konsantrasyonlarda hazırlandığından emin olun.
Eski veya kontamine dehidrasyon solüsyonlarının kullanılması	Kullanım ömrü dolmuş etanol solüsyonları dehidrasyonu etkileyerek sinyal zayıflamasına yol açar.	Dehidrasyon solüsyonlarını taze hazırlayın ve doğru koşullarda saklayın.
Floresan mikroskopunun yanlış ayarlanması	Yanlış odaklama, filtre seçimi veya ışık yoğunluğu ayarları zayıf sinyallerle sonuçlanır.	Mikroskopun optik ve elektriksel ayarlarını düzenli olarak kontrol edin ve optimize edin.
Uygun olmayan filtre seti kullanımı	Yanlış filtre setleri kullanıldığında hedef sinyaller algılanamaz.	Problemlerin florokromlarına uygun eksitasyon ve emisyon filtre setlerini kullanın.
Problemlerin/floforların ışıktan zarar görmesi	Güçlü ışık florokromları bozarak sinyal kaybına neden olur.	Hibridizasyon ve yıkama adımlarını karanlıkta veya düşük ışık altında gerçekleştirin.

### Çapraz Hibridizasyon Sinyalleri veya Kötü Zemin

Olası Sebep	Açıklama	Önerilen Çözüm
Aşırı proteolitik ön işlem	Aşırı sindirim hücresel bütünlüğü bozarak spesifik olmayan bağlanmalara yol açabilir.	Pepsin inkübasyonu süresini kısaltarak hücresel yapıyı koruyun.
Örneğe aşırı miktarda prob uygulanması	Aşırı prob kullanımı zemin boyanmasının artmasına sebep olur.	Prob hacmini azaltın ve örnek üzerine homojen şekilde dağıtım sağlayın.
Lamların hibridizasyon öncesi soğuması	Soğuyan lamlar prob bağlanmasını ve sinyal yoğunluğunu olumsuz etkiler.	Lamları doğrudan 37°C'ye getirerek soğuma etkisini azaltın.
Güçlü yıkama tamponunun çok yüksek konsantrasyonu	Yüksek tuz konsantrasyonu spesifik olmayan bağlanmaları artırabilir.	Tampon konsantrasyonunu üretici önerilerine uygun şekilde ayarlayın.
Yıkama adımındaki sıcaklıkların düşük olması	Yetersiz sıcaklık, spesifik olmayan bağlanmaları tam olarak ortadan kaldıramaz.	Yıkama sıcaklıklarını optimum seviyelere yükseltin.
Örneklerin inkübasyonu sırasında dehidre olması	Kuruyan lamlar hem spesifik sinyalleri hem de morfolojiyi olumsuz etkiler.	Inkübasyonu nemli ortamda yapın ve lamelleri etkin şekilde yalıtın.

### Bozuk Morfoloji

Olası Sebep	Açıklama	Önerilen Çözüm
Yetersiz veya aşırı proteolitik ön işlem	Hücre yapısının fazla zarar görmesi veya yetersiz ayrışması doğru sinyal yorumunu engeller.	Pepsin inkübasyonu süresini optimize ederek hem erişimi hem de morfolojiyi koruyun.
Uygulama öncesi yetersiz kurutma	Yeterince kurutulmamış preparatlar hibridizasyon sırasında dağıntı sinyale sebep olur.	Havada kurutma süresini uzatarak örneklerin stabilitesini sağlayın.

Olası Sebep	Açıklama	Önerilen Çözüm
DAPI çözeltisinin konsantrasyonunun düşük olması	Yetersiz DAPI boyaması nükleer yapının net görüntülenmesini engeller.	Tavsiye edilen konsantrasyonda DAPI çözeltisi kullanın (örneğin DuraTect-Solution).
DAPI inkübasyon süresinin kısa olması	Kısa süreli boyama hücrenin yeterince boyanmasını sağlayamaz.	İnkübasyon süresini uzatarak daha belirgin hücre kontrastı elde edin.









## Genel Ekstra Sorunlar

Olası Sebep	Açıklama	Önerilen Çözüm
Yüksek arka plan sinyali	Yetersiz yıkama adımları spesifik olmayan floresan sinyallere yol açabilir.	Yıkama süresini ve sıcaklığını artırarak arka planı azaltın.
Düşük sinyal yoğunluğu	Eksik denatürasyon hedef dizilerin erişimini azaltır.	Denatürasyon sıcaklığını ve süresini optimize edin.
Lam kırılması	Ani sıcaklık değişimi lam camlarının çatlamasına neden olur.	Isıtma ve soğutma işlemlerinde sıcaklık değişimini kontrollü yapın.
Sinyal kaybı	Aşırı uzun yıkamalar veya aşırı sıcaklık sinyal stabilitesini azaltır.	Yıkama adımlarını sürelerle ve sıcaklıklara uygun şekilde optimize edin.

## Referanslar

- Shaffer LG et al. (2001). The application of FISH in prenatal diagnosis. Genet Med.
- Bi W et al. (2004). FISH for rapid prenatal diagnosis. Clin Genet.
- Grati FR et al. (2005). Rapid aneuploidy screening by interphase FISH in prenatal diagnosis. Prenat Diagn.
- Barch MJ et al. (1997). The AGT Cytogenetics Laboratory Manual. Lippincott-Raven.
- Yaron Y et al. (1998). Prenatal detection of sex chromosome aneuploidies by FISH. Am J Med Genet.

## Kullanılan Semboller

EN ISO 15223-1:2021 - "Tıbbi cihazlar - Üretici tarafından sağlanacak bilgilerde kullanılacak semboller - Bölüm 1: Genel gereklilikler" (© International Organization for Standardization)	
Sembol	Başlık
	tr: Bu sembol, bir ürünün "In Vitro Tanı Tıbbi Cihazı" olduğunu gösterir.
	tr: Üretici
	tr: Test sayısı
	tr: Son kullanma tarihi
	Tüm uyarılar, ünlem işaretli bir uyarı üçgeni ile belirtilir. tr: Karakterine bağlı olarak DİKKAT veya UYARI kelimeleri ile tamamlanırlar.
	tr: Referans numarası
	tr: Parti numarası
	tr: Saklama için sıcaklık sınırlaması. Alt ve üst sınırlar belirtilmiştir.

## Markalar

iFISH, MYC Biyoteknoloji Anonim Şirketi'nin tescilli ticari markasıdır.



## MYC Biyoteknoloji Anonim Şirketi

Aşağı Öveçler Mahallesi  
1296 Sokak No: 9 Çankaya  
ANKARA  
06460  
TÜRKİYE

Tel: +90 (0312) 479 42 23  
E-posta: info@mycbiyoteknoloji.com  
Web sitesi: www.mycbiyoteknoloji.com