



ZytoFast PLUS CISH Implementation Kit HRP-DAB

REF T-1063-40

Σ 40

За използване при процедури за хромогенна *in situ*
хибридизация (CISH)

4250380N567Z



Ин витро диагностично медицинско устройство
в съответствие с IVDR (EC) 2017/746

1. Предвидена употреба

ZytoFast PLUS CISH Implementation Kit HRP-DAB е предназначен да се използва в комбинация с маркирани с дигоксигенин ZytoFast сонди върху фиксирани във формалин и вградени в парафин проби чрез хромогенна *in situ* хибридизация (CISH).

Продуктът е предназначен само за професионална употреба. Всички тестове, при които се използва продуктът, трябва да се извършват в сертифицирана, лицензирана патологоанатомична лаборатория, под наблюдението на патолог/ генетик квалифициран за съответната дейност.

2. Принцип на изпитване

Техниката на хромогенната *in situ* хибридизация (CISH) позволява откриването и визуализирането на специфични последователности от нуклеинови киселини в клетъчни препарати. Маркираните с хаптен нуклеотидни фрагменти, т.нар. сонди CISH, и техните комплементарни целеви последователности в препаратите се ко-денатурират и впоследствие се оставят да се отграват по време на хибридизацията. След това неспецифичните и несвързани сондови фрагменти се отстраняват чрез стриктно измиване. Дуплексното образуване на маркираната сонда може да се визуализира с помощта на първични (немаркирани) антитела, които се откриват с вторични полимеризирани ензимно конюгирани антитела. Ензимната реакция с хромогенни субстрати впоследствие води до образуване на цветни утайки. След контраоцветяване на ядрото с ядрено багрило хибридизираните фрагменти на сондата се визуализират чрез светлинна микроскопия.

3. Предоставени реактиви

Комплектът ZytoFast PLUS CISH Implementation Kit HRP-DAB се предлага в един размер и се състои от:

код	Компонент	Количество Σ 40	Количество
PT2	Heat Pretreatment Solution EDTA	500 ml	Бутилка с винтова капачка (голяма)
ES1	Pepsin Solution	4 ml	Бутилка с капкомер, бяла капачка
WB5	20x Wash Buffer TBS	4x 50 ml	Бутилка с винтова капачка
AB1	Mouse-Anti-Dig	4 ml	Бутилка с капкомер, розова шапка
AB2	Anti-Mouse-HRP-Polymer	4 ml	Бутилка с капкомер, виолетова капачка
SB1a	DAB Solution A	0.3 ml	Бутилка с капкомер, сива капачка (малка)
SB1b	DAB Solution B	10 ml	Бутилка с капкомер, сива капачка
CS2	Nuclear Blue Solution	20 ml	Бутилка с винтова капачка, черен
MT4	Mounting Solution (alcoholic)	4 ml	Съгласна бутилка, кафяво
	Инструкции за употреба	1	

T-1063-40 (40 tests): Компонентите **ES1**, **AB1**, **AB2**, **SB1a-b**, **CS2**, и **MT4** са достатъчни за 40 реакции. Компонентът **PT2** достатъчен за 7 буркани за оцветяване от 70 ml всеки. Компонентът **WB5** е достатъчен за 57 буркани за оцветяване от по 70 ml.

4. Необходими материали, които не са осигурени

- Маркиран с дигоксигенин ZytoFast CISH Probe
- Положителни и отрицателни контролни образци
- Микроскопски стъкла, положително заредени
- Водна баня (55 °C, 98 °C)
- Хибридизатор или гореща плоча
- Хибридизатор или камера за влажност в пещта за хибридизация
- Регулируеми калибрирани пипети (10 µl, 1000 µl)
- Оцветяване на буркани или вани
- Таймер
- Калибриран термометър
- Етанол или реактивен алкохол
- Ксилол
- Метанол 100%
- Водороден пероксид (H₂O₂) 30%
- Дейонизирана или дестилирана вода
- Покривни стъкла (22 mm x 22 mm, 24 mm x 32 mm)
- Каучуков цимент, например Fixogum Rubber Cement (Prod. No. E-4005-50/-125) или подобен
- Подходящо поддържан светлинен микроскоп (100-200x)

5. Съхранение и обработка

Съхранявайте при температура 2-8 °C в изправено положение. Върнете при условията на съхранение веднага след употреба. Не използвайте реагентите след изтичане на срока на годност, посочен на етикета. Продуктът е стабилен до датата на изтичане на срока на годност, посочена на етикета, когато се третира по подходящ начин.

6. Предупреждения и предпазни мерки

- Прочетете инструкциите за употреба преди да ги използвате!
- Не използвайте реагентите след изтичане на срока на годност!
- Този продукт съдържа вещества (в ниски концентрации и обеми), които са вредни за здравето. Избягвайте всякакъв пряк контакт с реагентите. Вземете подходящи мерки за защита (използвайте ръкавици за еднократна употреба, защитни очила и лабораторно облекло)!
- Докладвайте за всеки сериозен инцидент, възникнал във връзка с продукта, на производителя и на компетентния орган съгласно местните разпоредби!
- Ако реагентите попаднат върху кожата, незабавно я изплакнете с голямо количество вода!

- При поискване за професионалния потребител се предоставя информационен лист за безопасност на материала.
- Не използвайте повторно реагентите, освен ако повторната употреба не е изрично разрешена!
- Избягвайте кръстосано замърсяване на пробите, тъй като това може да доведе до грешни резултати.
- Не трябва да се допуска изсъхване на образците по време на хибридизацията и промиването.

Предупреждения за опасност и предпазни мерки за AB1, AB2, PT2, и WB5:

Компонентът, определящ опасността, е смес от: 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин-3-он [EC № 247-500-7] и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он [EC № 220-239-6] (3:1).



Предупреждение

H317	Може да причини алергична кожна реакция.
P261	Избягвайте вдишване на прах/пушек/газ/дим/изпарения/аерозоли
P272	Да не се изнася замърсено работно облекло извън работното помещение.
P280	Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.
P302+P352	ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА: Измийте обилно с вода/...
P333+P313	При поява на кожно дразнене или обрив на кожата: Потърсете медицински съвет/помощ.
P362+P364	Свалете замърсеното облекло и го изперете преди повторна употреба.

Предупреждения за опасност и предпазни мерки за CS2:

Компонентът, определящ опасността, е етанедиол, етиленгликол.



Предупреждение

H373	Може да причини увреждане на бъбреците при продължителна или многократна експозиция при поглъщане.
P260	Не вдишвайте прах/пушек/газ/дим/изпарения/аерозоли.

Предупреждения за опасност и предпазни мерки за MT4:

Компонентът, определящ опасността, е ксилол..



Предупреждение

H226	Запалими течност и пари.
H312+H332	Вреден при контакт с кожата или при вдишване.
H315	Предизвиква дразнене на кожата.
H319	Предизвиква сериозно дразнене на очите.
H335	Може да предизвика дразнене на дихателните пътища.
H373	Може да причини увреждане на органите при продължителна или повтаряща се експозиция
P210	Да се пази от топлина, нагорещени повърхности, искри, открит пламък, и други източници на запалване. Тютюнопушенето е забранено.
P260	Не вдишвайте прах/пушек/газ/дим/изпарения/аерозоли
P280	Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице/предпазни средства за защита на слуха.

P305+P351+P338	ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: промивайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно. Продължете с изплакването.
P337+P313	При продължително дразнене на очите: Потърсете медицински съвет/помощ.
P403+P235	Да се съхранява на добре проветриво място. Да се съхранява на хладно.
EUN208	Съдържа methyl 2-methylprop-2-enoate; methyl 2-methylpropenoate; methyl methacrylate. Може да предизвика алергична реакция.

Предупреждения за опасност и предпазни мерки за SB1a:

Компонентът, определящ опасността, е бифенил 3,3',4,4'-тетраилтетраамин; диаминобензидин.



Опасност

H350	Може да причини рак
P201	Преди употреба се снабдете със специални инструкции.
P202	Не използвайте преди да сте прочели и разбрали всички предпазни мерки за безопасност.
P280	Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.
P308+P313	ПРИ явна или предполагаема експозиция: Потърсете медицински съвет/помощ.
P405	Да се съхранява под ключ.

Предупреждения за опасност и предпазни мерки за SB1b:

Компонентът, определящ опасността, е смес от: 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин-3-он [EC № 247-500-7] и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он [EC № 220-239-6] (3:1)



Опасност

H317	Може да причини алергична кожна реакция.
H360D	Избягвайте вдишване на прах/пушек/газ/дим/изпарения/аерозоли
P201	Да не се изнася замърсено работно облекло извън работното помещение.
P261	Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.
P280	ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА: Измийте обилно с вода/...
P302+P352	При поява на кожно дразнене или обрив на кожата: Потърсете медицински съвет/помощ.
P308+P313	Свалете замърсеното облекло и го изперете преди повторна употреба.
P362+P364	Може да причини алергична кожна реакция.

Специално етикетирание на ES1:

EUN208	Съдържа Pepsin A. Може да предизвика алергична реакция.
EUN210	Информационен лист за безопасност ще бъде представен при поискване.

7. Ограничения

- За *in vitro* диагностична употреба.
- Само за професионална употреба.
- Само за неавтоматизирана употреба.
- Клиничната интерпретация на всяко положително оцветяване или липсата на такова трябва да се направи в контекста на клиничната анамнеза, морфологията, други хистопатологични критерии, както и други диагностични тестове. Отговорност на квалифицирания патолог/човешки генетик квалифициран за съответната дейност.е да познава ISH сондите, реагентите, диагностичните панели и методите, използвани за получаване на оцветения препарат. Оцветяването трябва да се извършва в сертифицирана, лицензирана лаборатория под надзора на патолог/ генетик квалифициран за съответната дейност., който отговаря за прегледа на оцветените препарати и за осигуряване на адекватността на положителните и отрицателните контроли.
- Оцветяването на образеца, особено интензивността на сигнала и фоновото оцветяване, зависи от обработката на образеца преди оцветяването. Неправилното фиксиране, замразяване, размразяване, измиване, сушене, нагряване, рязане или замърсяване с други проби или течности може да доведе до артефакти или фалшиви резултати. Несъответстващите резултати могат да се дължат на разлики в методите на фиксиране и вграждане, както и на присъщи на образеца нередности.
- Изпълнението беше валидирано, като бяха използвани процедурите, описани в инструкцията за употреба на съответната сонда *ZytoVision* и комплекта за изпълнение. Модификациите на тези процедури могат да променят ефективността и трябва да бъдат потвърдени от потребителя. Този IVD е сертифициран като CE само когато се използва, както е описано в тази инструкция за употреба в рамките на предвидената употреба.

8. Пречещи вещества

Следните фиксатори са несъвместими с ISH:

- Фиксатив на Bouin
- Фиксатор B5
- Киселинни фиксатори (напр. пикринова киселина)
- Фиксатив на Zenker
- Алкохоли (когато се използват самостоятелно)
- Живачен хлорид
- Формалдехид/цинков фиксатор
- Фиксаторът на Оланд
- Небуферизиран формалин

9. Подготовка на образци

- Избягвайте кръстосано замърсяване на пробите, тъй като това може да доведе до грешни резултати.
- Фиксиране в 10% неутрално буферизиран формалин за 24 часа при стайна температура (RT, 18°C-25°C).
- Размер на извадката $\leq 0,5 \text{ cm}^3$.
- Използвайте висококачествен парафин.
- Вграждането трябва да се извършва при температури, по-ниски от 65°C.
- Подгответе 3-5 μm микротомни разрези.
- Използвайте положително заредени микроскопски стъкла.
- Фиксирайте тъканните участъци за 2-16 часа при 50-60°C

10. Подготвителна обработка на устройството

20x Wash Buffer TBS (WB5) трябва да се приготви съгласно инструкциите в точка 11. "Процедура за анализ". Всички останали реагенти от комплекта са готови за употреба. Не се изисква възстановяване, смесване или разреждане.

11. Процедура за анализ

Подготвителни стъпки

- (1) *Пригответе серия от етанол (70%, 90% и 100% разтвори на етанол):* Разредете 100% етанол с дейонизирана или дестилирана вода. Тези разтвори могат да се съхраняват в подходящи съдове и да се използват повторно.

- (2) *Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2):* Загрейте до 98°C в покрит буркан за оцветяване.
- (3) *Приготвяне на 1x буфер за промиване TBS:* Разредете 1 част от *20x Wash Buffer TBS (WB5)* в 19 части дейонизирана или дестилирана вода.
Разреденият 1x промивен буфер TBS е стабилен в продължение на една седмица, когато се съхранява при 2-8°C.
- (4) *1x Wash Buffer TBS:* За промиване на стрингенс, загрейте до 55°C в покрит буркан за оцветяване.
- (5) *ZytoFast CISH Probe:* Преди употреба се привежда в хибридна температура и се разбърква добре.
- (6) *Приготвяне на 3% H₂O₂:* Разредете 1 част 30% H₂O₂ в 9 части 100% метанол
- (7) *Mouse-Anti-DIG (AB1), Anti-Mouse-HRP-Polymer (AB2), DAB Solution A (SB1a), DAB Solution B (SB1b), Nuclear Blue Solution (CS2), Mounting Solution (alcoholic) (MT4):* Приведете до RT (18°C-25°C) преди употреба.

Предварителна обработка (обезпаразитяване/протеолиза)

- (1) Инкубирайте предметите за 10 минути при 70°C (напр. върху гореща плоча).
- (2) Инкубирайте предметите за 2 пъти по 5 минути в ксилол.
- (3) Инкубирайте предметни стъкла за 3 пъти по 3 минути в 100% етанол.
- (4) Инкубирайте предметите за 5 минути в 3% H₂O₂.
- (5) Измийте предметите 2 пъти по 1 мин. в дейонизирана или дестилирана вода при RT.
- (6) Инкубирайте за 15 минути в предварително затоплен *Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2)* при 98°C.

Използвайте осем предметни стъкла за всеки буркан за оцветяване (ако е необходимо, добавете фиктивни стъкла).

- (7) Незабавно прехвърлете предметни стъкла в дейонизирана или дестилирана вода и ги промийте за 2 пъти по 2 мин.
- (8) Нанесете (на капки) *Pepsin Solution (ES1)* върху образеца и го инкубирайте за 5-15 минути при 37°C в камера с висока влажност.

ES1 може да образува утайки, които не влияят на качеството.

Като общо правило препоръчваме да се определи оптималното време за протеолиза в предварителни тестове.

- (9) Потопете предметни стъкла в дейонизирана или дестилирана вода при RT.
- (10) Дехидратация при: 70%, 90% и 100% етанол, всяка за 1 мин.
- (11) Изсушете участъците на въздух.

Забележка: Уверете се, че участъците са напълно изсъхнали, преди да нанесете сондата.

Денатурация и хибридизация

- (1) Нанесете с пипета 10 μl от *ZytoFast CISH Probe* върху всеки предварително обработен образец.
- (2) Покрийте образците с покривно стъкло с размери 22 mm x 22 mm (избягвайте образуването на мехурчета) и запечатайте покривното стъкло.

Препоръчваме ви да използвате гумен цимент (напр. Fixogum) за уплътняване.

- (3) Поставете предметни стъкла върху гореща плоча или хибридизатор и денатурирайте образците за 5 минути при 75°C.
- (4) Преместете предметни стъкла в камера за влажност и хибридирайте (напр. в хибридизационна фурна) за 1 час при 37°C за сонди за насочване на ДНК* или при 55°C за сонди за насочване към РНК*.

** Присъединете се към инструкциите за употреба, придружаващи сондата. Важно е образците да не изсъхват по време на хибридизацията.*

Последваща хибридизация и откриване

- (1) Внимателно отстранете гумения цимент или лепилото.
- (2) Отстранете покривното стъкло, като потопите предметите в *1x Wash Buffer TBS* при RT за 5 мин.
- (3) Измийте предметите за 5 минути в *1x Wash Buffer TBS* при 55°C.

Използвайте осем предметни стъкла за всеки буркан за оцветяване (ако е необходимо, добавете фиктивни стъкла).

- (4) Измийте предметите за 5 минути в 1x Wash Buffer TBS при RT.
- (5) Нанесете Mouse-Anti-DIG (AB1) (1-2 капки на предметно стъкло) върху предметни стъкла и инкубирайте за 30 минути при 37°C в камера с висока влажност.
- (6) Измийте предметите 3 пъти за 1 мин. 1x Wash Buffer TBS при RT.
- (7) Нанесете Anti-Mouse-HRP-Polymer (AB2) ((1-2 капки на предметно стъкло) върху предметни стъкла и инкубирайте за 30 минути при 37°C в камера с висока влажност.
- (8) Измийте предметите 3 пъти за 1 мин. в 1x Wash Buffer TBS при RT.
- (9) Приготвяне на DAB Solution (рабочен разтвор): напълнете 1 ml DAB Solution B (SB1b) в градуирана чаша и добавете една капка (30 µl) DAB Solution A (SB1a). Разбъркайте добре.
- (10) Нанесете DAB Solution 1-2 капки на предметно стъкло) върху предметни стъкла и инкубирайте за 20 минути при 37°C в камера с висока влажност.
- (11) Измийте предметите 3 пъти по 1 мин. в дейонизирана или дестилирана вода при RT.
- (12) Оцветете пробите в продължение на -25 минути с Nuclear Blue Solution (CS2).
- (13) Прехвърлете предметите в буркан за оцветяване и ги измийте за 2 минути под студена течаща вода.
- (14) Дехидрирайте 3 пъти по 30 сек. в 100% етанол (използвайте много чист етанол).
- (15) Инкубирайте предметите за 2 пъти по 30 сек. в ксиол (използвайте много чист ксиол).
- (16) Изсушете на въздух за около 2 мин.
- (17) Избягвайки уловените мехурчета, покрийте пробите с покривно стъкло (22 mm x 22 mm; 24 mm x 32 mm), като използвате Mounting Solution (alcoholic) (MT4) Изчакайте 20-30 min, за да се обездвижи покривалото.

Използването на отрязан накрайник на пипета, за да се увеличи размерът на отвора, може да улесни процеса на пипетиране.

- (18) Оценете оцветените проби чрез светлинна микроскопия.

12. Тълкуване на резултатите

При използване на ZytoFast PLUS CISH Implementation Kit HRP-DAB, хибридизацията на маркирани с дигоксигенин олигонуклеотиди се появява като кафяво оцветени преципитати. Контраоцветяването на пробите с Nuclear Blue Solution (CS2) ще доведе до оцветяване на ядрата в светливиолетово-синьо.

В зависимост от приложената ZytoFast probe, положителна реактивност в целевите клетки се открива съответно в цитоплазмата или в ядрото. За по-подробно описание на очакваната картина на сигнала, моля, вижте инструкциите за употреба, придружаващи ZytoFast probe.

13. Препоръчителни процедури за контрол на качеството

Вижте инструкциите за употреба на съответната сонда ZytoVision.

14. Работни характеристики

Вижте инструкциите за употреба на съответната сонда ZytoVision.

15. Изхвърляне

Изхвърлянето на реагентите трябва да се извършва в съответствие с местните разпоредби.

16. Отстраняване на неизправности

Всяко отклонение от инструкциите за работа може да доведе до по-лоши резултати при оцветяването или до липса на оцветяване. Моля, вижте www.zytovision.com за повече информация.

Слаби сигнали или липса на такива

Възможна причина	Действие
Протеолитичната предварителна обработка не е извършена правилно	Оптимизирайте времето за инкубиране на пепсин, ако е необходимо, увеличете или намалете
Изпаряване на сондата	Когато използвате хибридизатор, използването на мокрите ленти/напълнените с вода резервоари е задължително. При използване на пещ за хибридизация е задължително използването на камера за влажност. Освен това покривното стъкло трябва да се запечата напълно, напр. с Fixogum, за да се предотврати изсъхването на пробата по време на хибридизацията
Недостатъчна подготовка на хромогенния субстрат	Вместо да пригответе цветните субстрати чрез накапване, използвайте пипета
Твърде дълго време за оцветяване	Избягвайте тъмно контраоцветяване, тъй като то може да затъмни положителните сигнали от оцветяването.
Синьото покритие на контраста не е извършено правилно	Използвайте студена течаща вода от чешмата за посиняване; не използвайте топла или гореща вода или реактиви за посиняване.

Сигналите избледняват или се сливат

Възможна причина	Действие
Използвано е неподходящо решение за монтаж	Използвайте само монтажния разтвор, предоставен с комплекта или препоръчан в инструкциите за употреба. Използвайте разтвори, които не съдържат никакви примеси; не използвайте тиксо за покриване

Неравномерни или само на някои места много леки петна

Възможна причина	Действие
Непълно обезпаразитяване	Използвайте пресни разтвори; проверете продължителността на обезпаразитяването
Твърде малък обем на реагента	Уверете се, че обемът на реактива е достатъчно голям, за да покрие тъканната област

Непоследователни резултати

Възможна причина	Действие
Недостатъчно изсушаване преди нанасяне на сондата	Удължаване на сушенето на въздух
Твърде много вода/буфер за промиване върху тъканта преди нанасянето на пепсин, антитела и/или цветни субстрати	Уверете се, че излишната течност е отстранена от тъканния участък, като я забършете или изтръскате от предметно стъкло. Малки количества остатъчна вода/буфер за промиване не пречат на теста.
Вариации в методите за фиксиране и вграждане на тъкани	Оптимизиране на методите за фиксиране и вграждане
Вариации в дебелината на тъканния участък	Оптимизиране на разделянето

Разрушена морфология

Възможна причина	Действие
Клетъчната или тъканната проба не е била правилно фиксирана	Оптимизиране на времето за фиксиране и фиксатора
Протеолитичната предварителна обработка не е извършена правилно	Оптимизиране на времето за инкубиране на пепсин

Шумният фон

Възможна причина	Действие
Изсъхване на секциите по всяко време по време на или след хибридизацията	Избягвайте изсушаването на секциите; използвайте камера за влажност; запечатйте правилно покривното стъкло
Удължено време за инкубиране на субстрата	Съкращаване на времето за инкубиране на субстрата
Непълно обезпаразитяване	Използвайте пресни разтвори; проверете продължителността на депарафинирането
Протеолитичната предварителна обработка не е извършена правилно	Оптимизиране на времето за инкубиране на пепсин
Слайдове, охладени до стайна температура преди хибридизация	Прехвърлете бързо предметите за хибридизация на температурата.

Припокриващи се сигнали

Възможна причина	Действие
Неподходяща дебелина на тъканните разрези	Подготвяне на 3-5 µm микротомни разрези

Образците се издигат извън предметно стъкло

Възможна причина	Действие
Твърде силна протеолитична предварителна обработка	Съкращаване на времето за инкубиране на пепсин

17. Литература

- Isola J, Tanner M (2004) *Methods Mol Med* 97: 133-44.
- Speel EJ, et al. (1994) *J Histochem Cytochem* 42: 1299-307.
- Tsukamoto T, et al. (1991) *Int J Dev Biol* 35: 25-32.
- Wilkinson DG: *In Situ Hybridization, A Practical Approach*, Oxford University Press (1992), ISBN 0 19 963327 4.

18. Ревизия

Revision	Description of the change
1.2.1	11. Процедура за анализ Стъпките на предварителна обработка сега се извършват в обратен ред: Отсега нататък инкубирането в <u>Heat Pretreatment Solution EDTA</u> трябва да се извърши преди прилагането на <u>Pepsin Solution</u> . Освен това дехидратирането на предметни стъкла в серия етанол след предварителната обработка вече е задължително, за да се намали времето за сушене.


www.zytovision.com

Моля, вижте www.zytovision.com за най-новите инструкции за употреба, както и за инструкции за употреба на различни езици.

Нашите експерти са на разположение, за да отговорят на въпросите ви.

Моля, свържете се с helptech@zytovision.com



ZytoVision GmbH
Fischkai 1
27572 Bremerhaven/ Германия
Телефон: +49 471 4832-300
Факс: +49 471 4832-509
www.zytovision.com
Имейл: info@zytovision.com

Търговски марки:

ZytoVision® и ZytoFast® са търговски марки на ZytoVision GmbH.