



**ZytoMation**

## **ERBB2/CEN 17 Dual Color FISH Probe**

**REF** Z-2292-5.1ML Μέχρι 20 (5,1 ml)

Για την ποιοτική ανίχνευση των ανθρώπινων ενισχύσεων του γονιδίου ERBB2 και των άλφα δορυφόρων του χρωμοσώματος 17 με υβριδισμό φθορισμού *in situ* (FISH) σε αυτοματοποιημένα συστήματα Bond

4250380P373RF



In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν

σύμφωνα με τον Κανονισμό IVDR (κανονισμό για τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα) (ΕΕ) 2017/746

### 1. Επιδιωκόμενος σκοπός

Ο **ZytoMation ERBB2/CEN 17 Dual Color FISH Probe (PL246)** προορίζεται να χρησιμοποιηθεί για την ποιοτική ανίχνευση των ενισχύσεων που αφορούν το ανθρώπινο γονίδιο ERBB2 καθώς και για την ανίχνευση των άλφα δορυφόρων του χρωμοσώματος 17 σε δείγματα που έχουν σταθεροποιηθεί με φορμόλη, ενσωματωμένα σε παραφίνη, όπως ο καρκίνος του μαστού και ο καρκίνος του γαστρικού/γαστροοισοφαγικού σωλήνα, με υβριδισμό φθορισμού *in situ* (FISH). Ο ανιχνευτής προορίζεται για χρήση σε συνδυασμό με το **Bond FISH Kit** (DS9636) στο αυτοματοποιημένο σύστημα Bond-MAX ή Bond III της Leica Biosystems.

Το προϊόν προορίζεται μόνο για επαγγελματική χρήση. Όλες οι δοκιμές που χρησιμοποιούν το προϊόν πρέπει να εκτελούνται σε πιστοποιημένο, αδειοδοτημένο εργαστήριο παθολογικής ανατομικής από εξειδικευμένο προσωπικό, υπό την επίβλεψη παθολογοανατόμου/γενετιστή.

Ο ανιχνευτής προορίζεται να χρησιμοποιηθεί ως βοήθημα για τη διαφορική διάγνωση του καρκίνου του μαστού και του καρκίνου της γαστρικής/γαστροοισοφαγικής συμβολής και δεν πρέπει να λαμβάνονται θεραπευτικά μέτρα με βάση μόνο το αποτέλεσμα της εξέτασης.

### 2. Αρχή της δοκιμής

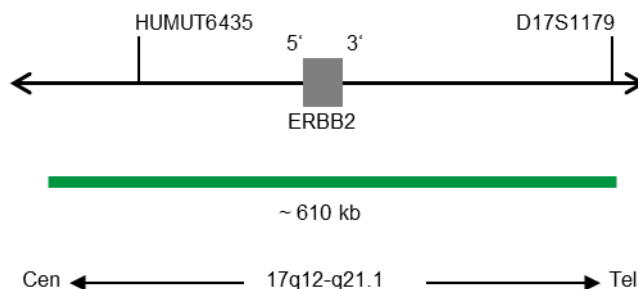
Η τεχνική *in situ* υβριδισμού φθορισμού (FISH) επιτρέπει την ανίχνευση και την οπτικοποίηση συγκεκριμένων αλληλουχιών νουκλεϊκών οξέων σε κυτταρικά παρασκευάσματα. Τα επισημασμένα με φθορισμό θραύσματα DNA, οι λεγόμενοι ανιχνευτές FISH (*in situ* υβριδισμού φθορισμού), και οι συμπληρωματικοί τους κλώνοι DNA στόχου στα παρασκευάσματα συν-μετουσιώνονται και στη συνέχεια αφήνονται να ανόπτονται κατά τη διάρκεια του υβριδισμού. Κατόπιν, τα μη ειδικά και μη δεσμευμένα θραύσματα ανιχνευτή αφαιρούνται με αυστηρά βήματα πλύσης. Μετά την αντιχρώση του DNA με φθορίζουσα χρωστική DAPI, τα υβριδισμένα θραύσματα ανιχνευτή οπτικοποιούνται, χρησιμοποιώντας μικροσκόπιο φθορισμού εξοπλισμένο με φίλτρα διέγερσης και εκπομπής ειδικά για τα φθοροχρωματικά, με τα οποία έχουν επισημανθεί απευθείας τα θραύσματα ανιχνευτή FISH.

### 3. Παρεχόμενα αντιδραστήρια

Το **ZytoMation ERBB2/CEN 17 Dual Color FISH Probe** αποτελείται από:

- Πολυνουκλεοτίδια σημασμένα με ZyGreen (διέγερση 503 nm/εκπομπή 528 nm) (~5,0 ng/μl), τα οποία στοχεύουν αλληλουχίες που χαρτογραφούνται στο 17q12-q21.1\* (chr17:37,572,531-38,181,308) και φιλοξενούν την περιοχή του γονιδίου ERBB2 (βλ. Εικ. 1).
- Πολυνουκλεοτίδια σημασμένα με ZyOrange (διέγερση 547 nm/εκπομπή 572 nm) (~0,2 ng/μl), τα οποία στοχεύουν σε αλληλουχίες που χαρτογραφούνται στο 17p11.1-q11.1 και είναι ειδικές για την άλφα δορυφορική κεντρομερική περιοχή D17Z1 του χρωμοσώματος 17 (βλ. Εικ. 1).
- Ρυθμιστικό υβριδισμού με βάση το φορμαμίδιο

\*σύμφωνα με την Εθνική Συνέλευση Ανθρώπινου Γονιδιώματος GRCh37/hg19



Εικ. 1: SPEC ERBB2 χάρτης ανιχνευτή (όχι σε κλίμακα)

Το **ZytoMation ERBB2/CEN 17 Dual Color FISH Probe** διατίθεται σε ένα μέγεθος:

- Z-2292-5.1ML: 5,1 ml (έως 20 αντιδράσεις των 240 μl η καθεμία)

### 4. Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Ένα πλήρως αυτοματοποιημένο σύστημα Bond-MAX ή Bond-III (Leica Biosystems)
- Bond FISH Kit** (DS9636)
- Bond Epitope Retrieval Solution 2** (AR9640)
- Bond Enzyme Pretreatment Kit** (AR9551)
- DAPI/DuraTect-Solution** (MT-0007-0.8)
- Δείγματα θετικών και αρνητικών μαρτύρων
- Πλακίδια μικροσκοπίου, θετικά φορτισμένα
- Ρυθμιζόμενες πιπέτες (20 μl, 1000 μl)
- Δοχεία ή λουτρά χρώσης
- Χρονόμετρο
- Αιθανόλη ή αλκοόλη αντιδραστήριου
- Απιονισμένο ή απεσταγμένο νερό
- Καλυπτρίδες (24 mm x 50 mm)
- Επαρκώς συντηρημένο μικροσκόπιο φθορισμού (400-1000x)
- Έλαιο εμβάπτισης εγκεκριμένο για μικροσκοπία φθορισμού
- Κατάλληλα σερβιέρες φίλτρων

Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τα υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται, ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του αντίστοιχου πλήρως αυτοματοποιημένου συστήματος χρώσης.

### 5. Αποθήκευση και χειρισμός

Φυλάσσεται στους 2-8 °C σε όρθια θέση προστατευμένο από το φως. Χρησιμοποιήστε το προστατευμένο από το φως. Πριν ανοίξετε το φιαλίδιο, ανακινήστε το υγρό. Επαναφέρετε στις συνθήκες αποθήκευσης αμέσως μετά τη χρήση. Μη χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα. Το προϊόν είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα, εφόσον γίνεται ανάλογος χειρισμός.

### 6. Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

- Διαβάστε τις οδηγίες χρήσης πριν από τη χρήση!
- Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης!
- Ο ανιχνευτής δεν πρέπει να χρησιμοποιείται σε χειροκίνητες διαδικασίες FISH (*in situ* φθορισμού υβριδισμού)!
- Αυτό το προϊόν περιέχει ουσίες (σε χαμηλές συγκεντρώσεις και όγκους) που είναι επιβλαβείς για την υγεία και δυνητικά μολυσματικές.

Αποφύγετε οποιαδήποτε άμεση επαφή με τα αντιδραστήρια. Λάβετε κατάλληλα προστατευτικά μέτρα (χρησιμοποιήστε γάντια μίας χρήσης, προστατευτικά γυαλιά και ρούχα εργαστηρίου)!

- Αναφέρετε κάθε σοβαρό περιστατικό που έχει συμβεί σχετικά με το προϊόν στον κατασκευαστή και την αρμόδια αρχή σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς!
- Εάν τα αντιδραστήρια έρθουν σε επαφή με το δέρμα, ξεπλύνετε αμέσως το δέρμα με άφθονη ποσότητα νερού!
- Κατόπιν αιτήματος διατίθεται για τον επαγγελματία χρήστη ένα δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού.
- Μην επαναχρησιμοποιείτε αντιδραστήρια, εκτός εάν η επαναχρησιμοποίηση επιτρέπεται ρητά!
- Αποφύγετε τη διασταυρούμενη μόλυνση των δειγμάτων, καθώς αυτό μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα.
- Ο ανιχνευτής δεν πρέπει να εκτίθεται στο φως, ιδιαίτερα σε δυνατό φως, για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, δηλαδή όλα τα βήματα θα πρέπει να εκτελούνται, όπου είναι δυνατόν, στο σκοτάδι ή/και χρησιμοποιώντας φωτοστεγή δοχεία.

#### Δηλώσεις επικινδυνότητας και προφύλαξης:

Το συστατικό που καθορίζει τον κίνδυνο είναι το φορμαμίδιο.



#### Κίνδυνος

H351	Υποπτο για πρόκληση καρκίνου.
H360FD	Μπορεί να βλάψει τη γονιμότητα. Μπορεί να βλάψει το έμβρυο.
H373	Μπορεί να προκαλέσει βλάβη στα όργανα λόγω παρατεταμένης ή επανειλημμένης έκθεσης.
P201	Εφοδιαστείτε με τις ειδικές οδηγίες πριν από τη χρήση.
P202	Μην το χειρίζεστε, έως ότου διαβάσετε και κατανοήσετε όλες τις προφυλάξεις ασφαλείας.
P260	Μην αναπνέετε σκόνη/αεριοσυστάσεις/αέρια/αερίδια/ατμούς/σπρέυ.
P280	Φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα προστασίας ματιών/προσώπου.
P308+P313	Σε περίπτωση έκθεσης ή ανησυχίας: Λάβετε ιατρική συμβουλή/προσοχή.
P405	Φυλάσσεται κλειδωμένο.

#### 7. Περιορισμοί

- Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
- Μόνο για επαγγελματική χρήση.
- Για χρήση μόνο στο πλήρως αυτοματοποιημένο σύστημα Bond-MAX ή Bond-III (Leica).
- Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε θετικής χρώσης ή απουσίας της πρέπει να γίνεται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού, της μορφολογίας, άλλων ιστοπαθολογικών κριτηρίων καθώς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων. Είναι ευθύνη ενός ειδικευμένου παθολογοανατόμου/γενετιστή να είναι εξοικειωμένος με τους ανιχνευτές FISH (*in situ* υβριδισμού φθορισμού), τα αντιδραστήρια, τα διαγνωστικά πάνελ και τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του χρωματισμένου παρασκευάσματος. Η χρώση πρέπει να πραγματοποιείται σε πιστοποιημένο, αδειοδοτημένο εργαστήριο υπό την επίβλεψη παθολογοανατόμου/γενετιστή που είναι υπεύθυνος για την επισκόπηση των χρωματισμένων πλακιδίων και τη διασφάλιση της επάρκειας των θετικών και αρνητικών μαρτύρων.
- Η χρώση του δείγματος, ειδικότερα η ένταση του σήματος και η χρώση του υποβάθρου, εξαρτώνται από τον χειρισμό και την επεξεργασία του δείγματος πριν από τη χρώση. Η ακατάλληλη στερέωση, ψύξη, απόψυξη, το πλύσιμο, στέγνωμα, η θέρμανση, τμήση ή μόλυνση με άλλα δείγματα ή υγρά μπορεί να προκαλέσουν τεχνουργήματα ή ψευδή αποτελέσματα. Ασυνεπή αποτελέσματα μπορεί να προκύψουν από διακυμάνσεις στις μεθόδους στερέωσης και ενσωμάτωσης, καθώς και από εγγενείς ανωμαλίες εντός του δείγματος.

- Ο ανιχνευτής θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνον για την ανίχνευση τόπων που περιγράφονται στο κεφάλαιο 3. «Παρεχόμενα αντιδραστήρια».
- Η απόδοση επικυρώθηκε, χρησιμοποιώντας το πλήρως αυτοματοποιημένο σύστημα Bond-MAX (Leica) και τις διαδικασίες που περιγράφονται σε αυτήν την οδηγία χρήσης. Τυχόν τροποποιήσεις σε αυτές τις διαδικασίες ενδέχεται να αλλάξουν την απόδοση του *in vitro* διαγνωστικού προϊόντος (IVD) ως CE και πρέπει να επικυρωθούν από τον χρήστη. Αυτό το IVD (*in vitro* διαγνωστικό) προϊόν είναι πιστοποιημένο ως CE, μόνον όταν χρησιμοποιείται όπως περιγράφεται σε αυτές τις οδηγίες χρήσης εντός του πεδίου της προβλεπόμενης χρήσης.

#### 8. Παρεμβάλλουσες ουσίες

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια που υπάρχουν στο δείγμα ενδέχεται να εμφανίζουν αυτοφθορισμό που εμποδίζει την αναγνώριση σήματος.

Τα ακόλουθα σταθεροποιητικά δεν είναι συμβατά με το FISH (*in situ* φθορισμό υβριδισμού):

- Σταθεροποιητικό Bouin
- B5 σταθεροποιητικό
- Ώξινα σταθεροποιητικά (π.χ. πικρικό οξύ)
- Σταθεροποιητικό Zenker
- Αλκοόλες (όταν χρησιμοποιούνται μόνες τους)
- Χλωριούχος υδράργυρος
- Σταθεροποιητικό φορμαλδεΐδης/ψευδαργύρου
- Σταθεροποιητικό Hollande
- Μη ρυθμισμένη φορμαλίνη

#### 9. Προετοιμασία δειγμάτων

Συστάσεις:

- Στερέωση σε 10% ουδέτερα ρυθμισμένη φορμαλίνη για 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (18-25 °C).
- Μέγεθος δείγματος ≤ 0,5 cm<sup>3</sup>.
- Χρησιμοποιήστε παραφίνη εξαιρετικής ποιότητας.
- Η ενσωμάτωση πρέπει να πραγματοποιείται σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από 65 °C.
- Προετοιμάστε τομές μικροτόμου 2-4 μm.
- Χρησιμοποιήστε θετικά φορτισμένα πλακίδια μικροσκοπίου.
- Στερεώστε για 2-16 ώρες στους 50-60 °C.

#### 10. Προπαρασκευαστική επεξεργασία της συσκευής

Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμειξη ή αραιώση. Φέρτε τον ανιχνευτή σε θερμοκρασία δωματίου (18-25 °C) πριν από τη χρήση, προστατέψτε τον από το φως. Πριν ανοίξετε το φιαλίδιο, αναμείξτε το με στροβιλισμό και τινάξτε το για λίγο προς τα κάτω.

#### 11. Διαδικασία ανάλυσης

Το ZytoMation ERBB2/CEN 17 Dual Color FISH Probe προορίζεται για χρήση στο πλήρως αυτοματοποιημένο σύστημα Bond-MAX ή Bond-III σε συνδυασμό με τα αντίστοιχα κιτ FISH και πρωτόκολλα FISH (*in situ* φθορισμού υβριδισμού). Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στις αντίστοιχες οδηγίες χρήσης του συστήματος που χρησιμοποιείται.

##### 11.1 Ρύθμιση αντικειμενοφόρου πλάκας στο πλήρως αυτοματοποιημένο σύστημα Bond-MAX ή Bond-III

Ορίστε τα ακόλουθα βήματα πρωτοκόλλου στο μενού Slide Setup (Ρύθμιση διαφανειών):

Χρώση:	*FISH Protocol D
Προετοιμασία:	*Dewax
HIER:	set up as described in step 1 below
Ένζυμο:	set up as described in step 2 below
Μετουσίωση:	*Denaturation (10min)
Υβριδισμός:	*ISH Hybridization (12Hr)

##### Προεπεξεργασία δείγματος

Εκτελέστε την προεπεξεργασία του δείγματος (αποκλήρωση, πρωτεόλυση) σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης του πλήρως αυτοματοποιημένου συστήματος χρώσης.

Ανάλογα με το δείγμα, ενδέχεται να χρειαστούν προσαρμογές στο πρωτόκολλο. Ο χρήστης πρέπει να πραγματοποιήσει επικύρωση των πρωτοκόλλων που αποκλίνουν από τα συνιστώμενα πρωτόκολλα.

1. Προεπεξεργαστείτε τα δείγματα με το Bond Epitope Retrieval Solution 2 για 25 λεπτά στους 100°C.

Για το πρωτόκολλο *HIER*, δημιουργήστε ένα νέο πρωτόκολλο όπως περιγράφεται στις αντίστοιχες οδηγίες χρήσης του αυτοματοποιημένου συστήματος *Bond-MAX/Bond-III*. Επιλέξτε το πρωτόκολλο για το θήμα πρωτοκόλλου «*HIER*» στο *Slide Setup*.

2. Προεπεξεργαστείτε τα δείγματα με BOND Enzyme Dilution στους 37°C.

Για την ενζυμική πέψη, επιλέξτε ένα πρωτόκολλο σύμφωνα με τις συνθήκες που έχουν προ-εγκριθεί από τον χρήστη ανάλογα με το δείγμα και τις συνθήκες *HIER*, μετουσίωσης και υβριδοποίησης. Επιλέξτε το πρωτόκολλο για το θήμα πρωτοκόλλου «*Enzyme*» στο *Slide Setup*.

Μετουσίωση και υβριδισμός

1. Ρυθμίστε τη μετουσίωση των δειγμάτων σε 10 λεπτά στους 95°C.

Επιλέξτε το προκαθορισμένο πρωτόκολλο «*\*Denaturation (10min)*» για το θήμα πρωτοκόλλου «*Denaturation*» στο *Slide Setup*.

2. Ρυθμίστε τον υβριδισμό των δειγμάτων σε 12 ώρες στους 37°C.

Επιλέξτε το προκαθορισμένο πρωτόκολλο «*\*ISH Hybridization (12Hr)*» για το θήμα πρωτοκόλλου «*Hybridization*» στο *Slide Setup*.

11.2 Εκτέλεση χρώσης

1. Τοποθετήστε πλακίδια, ανιχνευτή FISH, αραιώση ενζύμου και το BOND FISH Kit στο σύστημα σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης.
2. Όταν ολοκληρωθεί η διαδικασία χρώσης, αφαιρέστε τα πλακίδια από το όργανο. Προστατέψτε τα πλακίδια από το φως.

11.3 Μετα-υβριδισμός και ανίχνευση

1. Αφυδατώστε τα πλακίδια με 70%, 90% και 100% αιθανόλη το καθένα για 1 λεπτό.
2. Στεγνώστε τα δείγματα στον αέρα στο σκοτάδι.
3. Μεταφέρετε με πιπέττα 20 μl φθορίζουσας χρωστικής DAPI/DuraTect-Solution (MT7) στα πλακίδια. Αποφεύγοντας τις παγιδευμένες φυσαλίδες, καλύψτε τα δείγματα με καλυπτρίδα (24 mm x 50 mm). Επωάστε στο σκοτάδι για 15 λεπτά.

Με τη χρήση ενός στόμιου πιπέττας που έχει κοπεί για να αυξηθεί το μέγεθος του ανοίγματος μπορεί να διευκολυνθεί η διαδικασία της πιπέττας. Αποφύγετε την παρατεταμένη έκθεση στο φως.

4. Αποθηκεύστε το πλακίδιο στο σκοτάδι. Για μεγαλύτερες περιόδους αποθήκευσης, αυτό πρέπει να γίνεται στους 2-8 °C.
5. Η αξιολόγηση του υλικού του δείγματος πραγματοποιείται με μικροσκοπία φθορισμού.

12. Ερμηνεία αποτελεσμάτων

Με τη χρήση κατάλληλων σετ φίλτρων, τα σήματα υβριδισμού του ανιχνευτή εμφανίζονται πράσινα (περιοχή του γονιδίου ERBB2) και πορτοκαλί (CEN 17).

**Κανονική κατάσταση:** Στις ενδιάμεσες φάσεις φυσιολογικών κυττάρων ή κυττάρων χωρίς ενίσχυση που περιλαμβάνει την περιοχή του γονιδίου ERBB2, εμφανίζονται δύο πράσινα και δύο πορτοκαλί σήματα (βλ. Εικ. 2).

**Μη κανονική κατάσταση:** Σε κύτταρα με ενίσχυση της περιοχής του γονιδίου ERBB2 θα παρατηρηθεί αυξημένος αριθμός πράσινων σημάτων ή συστάδων πράσινων σημάτων. (βλ. Εικ. 2).

Τα επικαλυπτόμενα σήματα μπορεί να εμφανίζονται ως κίτρινα σήματα.

Πράσινο/πορτοκαλί διπλό σετ ζωνοπερατών φίλτρων		
Φυσιολογικά κύτταρα	Ενίσχυση του ERBB2 σε χαμηλό επίπεδο	Υψηλό επίπεδο ενίσχυσης ERBB2

Εικ. 2: Αναμενόμενα αποτελέσματα σε κανονικούς και αποκλίνοντες πυρήνες

Άλλα μοτίβα σήματος από αυτά που περιγράφονται παραπάνω μπορεί να παρατηρηθούν σε ορισμένα μη φυσιολογικά δείγματα. Αυτά τα απροσδόκητα μοτίβα σήματος θα πρέπει να διερευνηθούν περαιτέρω.

Παρακαλώ σημειώστε:

- Λόγω της αποσυμπυκνωμένης χρωματίνης, τα μεμονωμένα σήματα FISH (*in situ* υβριδισμού φθορισμού) μπορούν να εμφανιστούν ως μικρές ομάδες σημάτων. Έτσι, δύο ή τρία σήματα ίδιου μεγέθους, που χωρίζονται με απόσταση  $\leq 1$  διαμέτρου σήματος, θα πρέπει να υπολογίζονται ως ένα σήμα.
- Μην αξιολογείτε αλληλοεπικαλυπτόμενους πυρήνες.
- Μη μετράτε πυρήνες που έχουν υποστεί υπερβολική πέψη (αναγνωρίζονται από σκοτεινές περιοχές που είναι ορατές στο εσωτερικό των πυρήνων).
- Μη μετράτε πυρήνες με ισχυρό αυτο-φθορισμό, που εμποδίζει την αναγνώριση σήματος.
- Ένα αρνητικό ή μη συγκεκριμένο αποτέλεσμα μπορεί να προκληθεί από πολλούς παράγοντες (βλ. κεφάλαιο 16 «Αντιμετώπιση προβλημάτων»).
- Για τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων, ο χρήστης πρέπει να επικυρώσει το προϊόν αυτό πριν από τη χρήση με διαγνωστικές διαδικασίες σύμφωνα με τις εθνικές ή/και διεθνείς οδηγίες.

13. Συνιστώμενες διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου

Προκειμένου να παρακολουθείται η σωστή απόδοση των επεξεργασμένων δειγμάτων και των αντιδραστηρίων δοκιμής, κάθε ανάλυση θα πρέπει να συνοδεύεται από εσωτερικούς και εξωτερικούς μάρτυρες. Εάν οι εσωτερικοί ή/και εξωτερικοί μάρτυρες δεν καταφέρουν να επιδείξουν την κατάλληλη χρώση, τα αποτελέσματα με τα δείγματα ασθενών πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

**Εσωτερικοί μάρτυρες:** Μη νεοπλασματικά κύτταρα εντός του δείγματος που εμφανίζουν φυσιολογικό μοτίβο σήματος, π.χ. ινοβλάστες.

**Εξωτερικοί μάρτυρες:** Επικυρωμένα δείγματα θετικών και αρνητικών μαρτύρων.

14. Χαρακτηριστικά απόδοσης

14.1 Αναλυτικές επιδόσεις

Η απόδοση του ανιχνευτή καθορίστηκε με σύγκριση με τον αντίστοιχο ανιχνευτή FISH εγκεκριμένο από το IVD.

Αναλυτική ευαισθησία:	100% (95% CI 98.5 – 100.0)
Αναλυτική εξειδίκευση:	100% (95% CI 97.0 – 100.0)



14.2 Κλινική απόδοση

Διαγνωστική ευαισθησία:	Καρκίνος του μαστού: 93% (95% CI 91.0 – 95.0 με βάση ένα διμεταβλητό μοντέλο Καρκίνος του στομάχου και καρκίνος της γαστροοισοφαγικής συμβολής: 88% (95% CI 74.0 – 95.0) με βάση ένα διμεταβλητό μοντέλο
Διαγνωστική εξειδίκευση:	Καρκίνος του μαστού: 98% (95% CI 97.0 – 99.0) based on a bivariate model Καρκίνος του στομάχου και καρκίνος της γαστροοισοφαγικής συμβολής: 95% (95% CI 92.0 – 97.0) με βάση ένα διμεταβλητό μοντέλο

15. Απόρριψη

Η απόρριψη των αντιδραστηρίων πρέπει να πραγματοποιείται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς.

16. Αντιμετώπιση προβλημάτων

Οποιαδήποτε απόκλιση από τις οδηγίες λειτουργίας μπορεί να οδηγήσει σε κατώτερα αποτελέσματα χρώσης ή σε καθόλου χρώση. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στη διεύθυνση [www.zytovision.com](http://www.zytovision.com).

Αδύναμα σήματα ή καθόλου σήματα

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Το δείγμα κυττάρου ή ιστού δεν έχει στερεωθεί σωστά	Βελτιστοποιήστε τον χρόνο στερέωσης και το σταθεροποιητικό
Η πρωτεολυτική προεπεξεργασία δεν πραγματοποιήθηκε σωστά	Βελτιστοποιήστε τη συγκέντρωση του ενζύμου και τον χρόνο επώασης, αυξήστε ή μειώστε εάν είναι απαραίτητο
Χρησιμοποιούνται ακατάλληλα σετ φίλτρων	Χρησιμοποιήστε σετ φίλτρων κατάλληλα για τα φθοροχρωματικά του ανιχνευτή. Τα σετ φίλτρων τριπλής ζώνης παρέχουν λιγότερο φως σε σύγκριση με τα σετ φίλτρων μονής ή διπλής ζώνης. Κατά συνέπεια, τα σήματα μπορεί να φαίνονται πιο αμυδρά, εάν χρησιμοποιείτε αυτά τα σετ φίλτρων τριπλής ζώνης.

Διασαυρούμενα σήματα υβριδισμού· θορυβώδεις υπόβαθρο

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Η πρωτεολυτική προεπεξεργασία είναι πολύ ισχυρή	Μειώστε τη συγκέντρωση του ενζύμου ή τον χρόνο επώασης

Υποβαθμισμένη μορφολογία

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Το δείγμα κυττάρου ή ιστού δεν έχει στερεωθεί σωστά	Βελτιστοποιήστε τον χρόνο στερέωσης και το σταθεροποιητικό
Η πρωτεολυτική προεπεξεργασία δεν πραγματοποιήθηκε σωστά	Βελτιστοποιήστε τη συγκέντρωση του ενζύμου ή τον χρόνο επώασης, μειώστε εάν είναι απαραίτητο
Η θερμική προεπεξεργασία δεν πραγματοποιήθηκε σωστά	Βελτιστοποιήστε τη θερμική προεπεξεργασία

Αλληλεπικαλυπτόμενοι πυρήνες

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Ακατάλληλο πάχος τομών ιστού	Προετοιμάστε τομές μικροτόμου 2-4 μm

Το δείγμα επιπλέει στο πλακίδιο

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Ανεπαρκές στέγνωμα του τμήματος ιστού	Προσαρμόστε τον χρόνο για να στεγνώσουν επαρκώς οι ιστοί πριν από τη χρώση
Στερέωση σε φορμαλίνη που δεν ήταν σωστά ουδέτερα ρυθμισμένη	Χρησιμοποιήστε κατάλληλη ουδέτερα ρυθμισμένη φορμαλίνη υψηλής ποιότητας

Αδύναμη αντίχρωση

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Χαμηλής συγκέντρωσης διάλυμα φθορίζουσας χρωστικής DAPI	Αντί αυτού, χρησιμοποιήστε DAPI/DuraTect-Solution (ultra) (Αρ. Προϊόντος MT-0008-0.8)
Ο χρόνος επώασης της φθορίζουσας χρωστικής DAPI είναι πολύ μικρός	Προσαρμόστε τον χρόνο επώασης της φθορίζουσας χρωστικής DAPI

17. Βιβλιογραφία

- 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.
- Köseoglu RD, et al. (2019) *Eur J Breast Health* 15: 43.
- Nielsen SL, et al. (2017) *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 25: 320-328.
- 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. Αναθεώρηση



[www.zytovision.com](http://www.zytovision.com)

Ανατρέξτε στη διεύθυνση [www.zytovision.com](http://www.zytovision.com) για τις πιο πρόσφατες οδηγίες χρήσης καθώς και για οδηγίες χρήσης σε διάφορες γλώσσες.

Οι ειδικοί μας είναι πρόθυμοι να απαντήσουν στις ερωτήσεις σας. Επικοινωνήστε στη διεύθυνση [helptech@zytovision.com](mailto:helptech@zytovision.com) Για τη σύνοψη της ασφάλειας και της απόδοσης, ανατρέξτε στη διεύθυνση [www.zytovision.com](http://www.zytovision.com).



ZytoVision GmbH  
Fischkai 1  
27572 Bremerhaven / Γερμανία  
Τηλέφωνο: +49 471 4832-300  
Φαξ: +49 471 4832-509  
[www.zytovision.com](http://www.zytovision.com)  
E-Mail: [info@zytovision.com](mailto:info@zytovision.com)

**Εμπορικά σήματα:**  
Τα ZytoVision® και ZytoMation® είναι εμπορικά σήματα της ZytoVision GmbH.