



ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe

REF C-3032-100	10 (0,1 ml)
REF C-3032-400	40 (0,4 ml)

Για την ποιοτική ανίχνευση των ενισχύσεων του ανθρώπινου γονιδίου ERBB2 και των άλφα δορυφόρων του χρωμοσώματος 17 με χρωμογονικό υβριδισμό *in situ* (CISH)

4250380P078RA



In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν

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

1. Επιδιωκόμενος σκοπός

Το ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe (PD12) 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 και έχουν ενσωματωθεί σε παραφίνη, όπως ο καρκίνος του μαστού, με χρωμογονικό *in situ* υβριδισμό (CISH). Ο ανιχνευτής προορίζεται να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με το ZytoDot 2C CISH Implementation Kit (Αρ. Προϊόντος C-3044-10/-40).

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 δεν πρέπει να λαμβάνονται θεραπευτικά μέτρα με βάση μόνο το αποτέλεσμα της εξέτασης.

2. Αρχή της δοκιμής

Η τεχνική χρωμογόνου *in situ* υβριδισμού (CISH) επιτρέπει την ανίχνευση και την οπτικοποίηση συγκεκριμένων αλληλουχιών νουκλεϊκών οξέων σε κυτταρικά παρασκευάσματα. Θραύσματα νουκλεοτιδίων επισημασμένα με απτένιο, οι λεγόμενοι ανιχνευτές CISH (χρωμογόνου *in situ* υβριδισμού), και οι συμπληρωματικές τους αλληλουχίες 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. Ο σχηματισμός διπλής όψης του επισημασμένου ανιχνευτή μπορεί να οπτικοποιηθεί, χρησιμοποιώντας πρωτεύοντα (μη μαρκαρισμένα) αντισώματα, τα οποία ανιχνεύονται από δευτερογενή πολυμερισμένα συζευγμένα με ένζυμα αντισώματα. Η ενζυμική αντίδραση με χρωμογόνα υποστρώματα οδηγεί στον σχηματισμό έγχρωμων ιζημάτων. Μετά την αντιχρώση του πυρήνα με μια πυρηνική χρωστική, τα υβριδισμένα θραύσματα ανιχνευτή οπτικοποιούνται με μικροσκοπία φωτός.

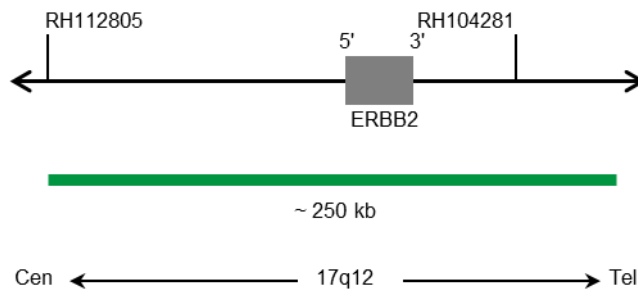
3. Παρεχόμενα αντιδραστήρια

Το ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe αποτελείται από:

- Πολυνουκλεοτίδια επισημασμένα με διγοξιγενίνη (~1,1 ng/μl), τα οποία στοχεύουν αλληλουχίες που χαρτογραφούνται στο 17q12* (chr17:37,725,661-37,973,541) που φιλοξενεί την περιοχή του γονιδίου ERBB2 (βλ. Εικ. 1).
- Πολυνουκλεοτίδια σημασμένα με δινιτροφαινόλιο (~1,1 ng/μl), τα οποία στοχεύουν σε αλληλουχίες που χαρτογραφούνται στο 17p11.1-q11.1, ειδικά 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)

Ο ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe διατίθεται σε δύο μεγέθη:

- C-3032-100: 0.1 ml (10 αντιδράσεις των 10 μl η καθεμία)
- C-3032-400: 0.4 ml (40 αντιδράσεις των 10 μl η καθεμία)

4. Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- ZytoDot 2C CISH Implementation Kit (Αρ. Προϊόντος C-3044-10/-40)
- Δείγματα θετικών και αρνητικών μαρτύρων
- Πλακίδια μικροσκοπίου, θετικά φορτισμένα
- Υδατόλουτρο (80 °C, 98 °C)
- Υβριδιστής ή θερμαινόμενη πλάκα
- Υβριδιστής ή θάλαμος υγρασίας σε φούρνο υβριδισμού
- Ρυθμιζόμενες πιπέττες (10 μl, 1000 μl)
- Δοχεία ή λουτρά χρώσης
- Χρονόμετρο
- Βαθμονομημένο θερμόμετρο
- Αιθανόλη ή αλκοόλη αντιδραστήριου
- Ξυλένιο
- Μεθανόλη 100%
- Υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂) 30%
- Απιονισμένο ή απεσταγμένο νερό
- Καλυπτρίδες (22 mm x 22 mm, 24 mm x 32 mm)
- Ελαστικό τσιμεντοειδές, π.χ., Fixogum Rubber Cement (Αρ. Προϊόντος E-4005-50/-125) ή παρόμοιο
- Επαρκώς συντηρημένο μικροσκόπιο φωτός (400-630x)

5. Αποθήκευση και χειρισμός

Φυλάσσεται στους 2-8 °C σε όρθια θέση. 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!
- 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.
- Τα δείγματα δεν πρέπει να αφήνονται να στεγνώσουν κατά τη διάρκεια των βημάτων υβριδισμού και πλύσης.

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/αναθυμιάσεις/αέρια/αιθάλη/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.
- Μόνο για μη αυτοματοποιημένη χρήση.
- 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 CISH (χρωμογόνου *in situ* υβριδισμού), 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 τις διαδικασίες που περιγράφονται σε αυτές τις οδηγίες χρήσης. Τροποποιήσεις σε αυτές τις διαδικασίες ενδέχεται να αλλάξουν την απόδοση 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 ακόλουθα σταθεροποιητικά δεν είναι συμβατά με το ISH (*in situ* υβριδισμό):

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

9. Προετοιμασία δειγμάτων

Προετοιμάστε τα δείγματα, όπως περιγράφεται στις οδηγίες χρήσης του ZytoDot 2C CISH Implementation Kit.

10. Προπαρασκευαστική επεξεργασία της συσκευής

Το προϊόν είναι έτοιμο για χρήση. 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 περιστρέψτε το για λίγο προς τα κάτω.

11. Διαδικασία ανάλυσης

Προεπεξεργασία δείγματος

Εκτελέστε την προεπεξεργασία του δείγματος (αποκλήρωση, πρωτεόλυση) σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης του ZytoDot 2C CISH Implementation Kit.

Μετουσίωση και υβριδισμός

- Μεταφέρετε με πιπέττα 10 μl περιεχομένου του ανιχνευτή σε κάθε προεπεξεργασμένο δείγμα.
- Καλύψτε τα δείγματα με καλυπτρίδα 22 mm x 22 mm (αποφύγετε τις παγιδευμένες φυσαλίδες) και σφραγίστε την καλυπτρίδα.

Συνιστούμε τη χρήση ελαστικού τσιμεντοειδούς (π.χ. *Fixogum*) για τη σφράγιση.

- Τοποθετήστε τα πλακίδια σε θερμή πλάκα ή υβριδιστή και μετουσιώστε τα δείγματα για 5 λεπτά στους 79 °C.
- Μεταφέρετε τα πλακίδια σε θάλαμο υγρασίας και υβριδοποιήστε όλη τη νύχτα στους 37 °C (π.χ. σε φούρνο υβριδισμού).

Είναι σημαντικό τα δείγματα να μη στεγνώνουν κατά τη διάρκεια του υβριδισμού.

Μετα-υβριδισμός

Εκτελέστε διαδικασία μετα-υβριδισμού (πλύση, ανίχνευση, αντίχρωση, στερέωση, μικροσκοπία), σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης του ZytoDot 2C CISH Implementation Kit.

12. Ερμηνεία αποτελεσμάτων

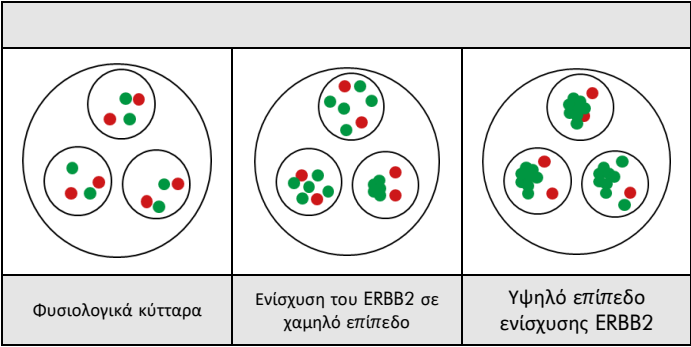
Χρησιμοποιώντας το kit εφαρμογής ZytoDot 2C CISH, τα σήματα υβριδισμού των πολυνουκλεοτιδίων που έχουν επισημανθεί με διγοξιγενίνη εμφανίζονται ως διακριτές κουκκίδες σκούρου πράσινου χρώματος (περιοχή γονιδίου ERBB2) και τα πολυνουκλεοτίδια που έχουν επισημανθεί με δινιτροφαινύλιο εμφανίζονται ως διακριτές κουκκίδες φωτεινού κόκκινου χρώματος (CEN 17).

Κανονική κατάσταση: Στις ενδιάμεσες φάσεις φυσιολογικών κυττάρων ή κυττάρων χωρίς ενίσχυση που περιλαμβάνει την περιοχή του γονιδίου ERBB2, εμφανίζονται δύο διακριτά πράσινα σήματα σε σχήμα κουκκίδας και δύο διακριτά κόκκινα σήματα σε σχήμα κουκκίδας (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 καφέ σήματα.



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 CISH (χρωμογόνου *in situ* υβριδισμού) μπορούν να εμφανιστούν ως μικρές ομάδες σημάτων. Έτσι, δύο ή τρία σήματα ίδιου μεγέθους, που χωρίζονται με απόσταση ≤ 1 διαμέτρου σήματος, θα πρέπει να υπολογίζονται ως ένα σήμα.
- Πριν από την απαρίθμηση του σήματος, το δείγμα θα πρέπει να σαρωθεί για οποιαδήποτε πιθανή ενδοογκική ετερογένεια σε μεγέθυνση 100 έως 200 φορές.
- Η οπτικοποίηση των σημάτων θα πρέπει να εκτελείται σε μεγέθυνση τουλάχιστον 400 φορές με αποτέλεσμα εύκολα ορατά σήματα. Μεγέθυνση 630 φορές συνιστάται για ανιχνευτές που ανιχνεύουν χρωμοσωμικές θραύσεις. Μη χρησιμοποιείτε φακούς φίλτρου ενίσχυσης αντίθεσης, καθώς αυτό μπορεί να παραμορφώσει το χρώμα του σήματος. Για να λάβετε σήματα σε φωτεινά χρώματα, ανοίξτε το διάφραγμα του ανοίγματος. Φροντίστε να εστιάσετε πάνω-κάτω, όταν αξιολογείτε έναν πυρήνα, καθώς τα κόκκινα και πράσινα σήματα μπορεί να βρίσκονται το ένα πάνω στο άλλο.
- Μην αξιολογείτε περιοχές νέκρωσης, αλληλοεπικαλυπτόμενους πυρήνες, πυρήνες που έχουν υποστεί υπερβολική πέψη και πυρήνες με ασθενή ένταση σήματος.
- Λόγω της μίτωσης, μπορεί να είναι ορατά επιπλέον σήματα ακόμη και σε ένα μικρό ποσοστό μη νεοπλασματικών κυττάρων. Περιστασιακά, πυρήνες με ελλείποντα σήματα μπορεί να παρατηρηθούν σε δείγματα ενσωματωμένα σε παραφίνη, λόγω τεχνουργμάτων κοπής.
- 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:	91% (95% CI 86.0 – 95.0) με βάση ένα διμεταβλητό μοντέλο
Διαγνωστική εξειδίκευση:	97% (95% CI 93.0 – 99.0) 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.

Αδύναμα σήματα ή καθόλου σήματα

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Η πρωτεολυτική προεπεξεργασία δεν πραγματοποιήθηκε σωστά	Βελτιστοποιήστε τον χρόνο επώασης της πεψίνης, αυξήστε ή μειώστε εάν είναι απαραίτητο
Εξάτμιση ανιχνευτή	Όταν χρησιμοποιείτε υβριδιστή, είναι υποχρεωτική η χρήση των υγρών λωρίδων/γεμάτων με νερό δεξαμενών. Όταν χρησιμοποιείτε φούρνο υβριδισμού, απαιτείται η χρήση ενός θαλάμου υγρασίας. Επιπλέον, η καλυπτρίδα θα πρέπει να σφραγίζεται πλήρως, π.χ. με Fixogum, για να αποφευχθεί η ξήρανση του δείγματος κατά τον υβριδισμό.
Ο χρόνος αντίχρωσης είναι πολύ μεγάλος	Αποφύγετε τη σκούρα αντίχρωση, γιατί μπορεί να κρύψει τα θετικά σήματα χρώσης
Η κυάνωση της αντίχρωσης δεν έγινε σωστά	Χρησιμοποιήστε κρύο τρεχούμενο νερό βρύσης για κυάνωση· μη χρησιμοποιείτε ζεστό ή καυτό νερό ή αντιδραστήρια κυάνωσης

Τα σήματα είναι πολύ δυνατά

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Η πρωτεολυτική προεπεξεργασία διεξήχθη για πολύ καιρό	Βελτιστοποιήστε τον χρόνο επώασης της πεψίνης, αυξήστε ή μειώστε εάν είναι απαραίτητο
Ο χρόνος επώασης του διαλύματος AP-Red δεν είναι σωστός	Εάν απαιτείται, ο χρόνος επώασης μπορεί να μειωθεί σε 5 λεπτά. Μη θερμαίνετε το διάλυμα υποστρώματος πάνω από 25 °C· επώαστε μόνον σε θερμοκρασία δωματίου
Ο χρόνος επώασης του διαλύματος HRP-Green δεν είναι σωστός	Εάν απαιτείται, ο χρόνος επώασης μπορεί να μειωθεί σε 7 λεπτά. Μη θερμαίνετε το διάλυμα υποστρώματος πάνω από 25 °C· επώαστε μόνον σε θερμοκρασία δωματίου



Τα κόκκινα σήματα είναι πολύ αδύναμα

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Το διάλυμα AP-Red εκτέθηκε σε έντονο άμεσο φως	Προετοιμάστε και χρησιμοποιήστε το διάλυμα AP-Red προστατευμένο από έντονο άμεσο φως
Το διάλυμα AP-Red παρασκευάστηκε πολύ νωρίς	Προετοιμάστε πριν από την άμεση χρήση
Ο χρόνος επώασης του διαλύματος AP-Red δεν είναι σωστός	Εάν απαιτείται, ο χρόνος επώασης μπορεί να επεκταθεί έως και 15 λεπτά
Ανεπαρκής προετοιμασία χρωμογόνου υποστρώματος	Μην αυξάνετε τον όγκο του διαλύματος A

Τα πράσινα σήματα είναι πολύ αδύναμα

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Ο χρόνος επώασης οποιωνδήποτε σταδίων πλύσης μετά από την χρώση με HRP-Green είναι πολύ μεγάλος	Μην υπερβαίνετε τους δεδομένους χρόνους επώασης
Ο χρόνος επώασης του διαλύματος HRP-Green δεν είναι σωστός	Εάν απαιτείται, ο χρόνος επώασης μπορεί να επεκταθεί έως και 15 λεπτά
Ανεπαρκής προετοιμασία χρωμογόνου υποστρώματος	Μην αυξάνετε τον όγκο του διαλύματος A

Τα σήματα εξασθενούν ή συγχωνεύονται

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Έχει χρησιμοποιηθεί ακατάλληλο διάλυμα στερέωσης	Χρησιμοποιείτε μόνον το διάλυμα στερέωσης που παρέχεται με το κιτ ή διαλύματα στερέωσης με βάση το ξυλένιο και χωρίς ακαθαρσίες· μη χρησιμοποιείτε ταινία καλυπτρίδας
Τα τμήματα δεν αφυδατώθηκαν σωστά	Χρησιμοποιήστε φρέσκα διαλύματα αιθανόλης και ξυλένιου· χρησιμοποιήστε μόνον ξυλένιο «καθαρής» ποιότητας

Ανώμαλη ή σε ορισμένα σημεία πολύ ελαφριά χρώση

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Ατελής αποκήρωση	Χρησιμοποιήστε φρέσκα διαλύματα· ελέγξτε τη διάρκεια των χρόνων αποκήρωσης
Ο όγκος του αντιδραστηρίου είναι πολύ μικρός	Βεβαιωθείτε ότι ο όγκος του αντιδραστηρίου είναι αρκετά μεγάλος, ώστε να καλύπτει την περιοχή του ιστού

Ασυνεπή αποτελέσματα

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Ανεπαρκές στέγνωμα πριν από την εφαρμογή του ανιχνευτή	Επεκτείνετε το στέγνωμα στον αέρα
Πάρα πολύ νερό/ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης στον ιστό πριν από την εφαρμογή πεψίνης, αντισωμάτων ή/και χρωματικών υποστρωμάτων	Βεβαιωθείτε ότι η περίσσεια του υγρού έχει αφαιρεθεί από το τμήμα του ιστού με στύπωμα ή τίναγμα από το πλακίδιο. Μικρές ποσότητες υπολειπόμενου νερού/ρυθμιστικού διαλύματος δεν παρεμβαίνουν στη δοκιμή
Παραλλαγές στις μεθόδους στερέωσης και ενσωμάτωσης ιστών	Βελτιστοποιήστε τις μεθόδους στερέωσης και ενσωμάτωσης

Διακυμάνσεις στο πάχος τομής ιστού	Βελτιστοποίηση τομής
------------------------------------	----------------------

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 διεξήχθη για μεγάλο χρονικό διάστημα	Μειώστε τον χρόνο επώασης της πεψίνης

Διασταυρούμενα σήματα υβριδισμού· θορυβώδεις υπόβαθρο

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Τα τμήματα στέγνωσαν οποιαδήποτε στιγμή κατά τη διάρκεια ή μετά τον υβριδισμό	Αποφύγετε το στέγνωμα των τμημάτων· χρησιμοποιήστε θάλαμο υγρασίας· σφραγίστε σωστά την καλυπτρίδα
Παρατεταμένος χρόνος επώασης του υποστρώματος	Μειώστε τον χρόνο επώασης του υποστρώματος
Ατελής αποκήρωση	Χρησιμοποιήστε φρέσκα διαλύματα· ελέγξτε τη διάρκεια της αποκήρωσης
Η πρωτεολυτική προεπεξεργασία είναι πολύ ισχυρή	Βελτιστοποιήστε τον χρόνο επώασης της πεψίνης
Τα πλακίδια ψύχονται σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τον υβριδισμό	Μεταφέρετε τα πλακίδια γρήγορα σε θερμοκρασία υβριδισμού

Αλληλοεπικαλυπτόμενα σήματα

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Ακατάλληλο πάχος τομών ιστού	Προετοιμάστε τομές μικροτόμου 3-5 μm

Το δείγμα επιπλέει στο πλακίδιο

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Η πρωτεολυτική προεπεξεργασία είναι πολύ ισχυρή	Συντομεύστε τον χρόνο επώασης πεψίνης

17. Βιβλιογραφία

- Ali AHM, et al. (2019) *Open Access Maced J Med Sci* 7: 1917.
- Bhargava R, et al. (2005) *Am J Clin Pathol* 123: 237-43.
- Hwang CC, et al. (2011) *Histopathology* 59: 984-92.
- Kurihara N, et al. (2019) *J Clin Pathol* 72: 603-608.
- Mayr D, et al. (2009) *Histopathology* 55: 716-23.
- Miligy IM, et al. (2019) *Br J Cancer* 120: 1075-1082.
- Nie X, et al. (2013) *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 33: 379-84.
- Pfarr N, et al. (2017) *Genes chromosomes cancer* 56: 255-264.
- Saito Y, et al. (2016) *Sci Rep* 6: 1-8.
- Schiavon BN, et al. (2012) *Am J Surg Pathol.*: 1489-1496
- 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.
- Wolf FF, et al. (2015) *J Bras Patol Med Lab* 51: 407-414.

18. Αναθεώρηση



www.zytovision.com

Ανατρέξτε στη διεύθυνση 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
Για τη σύνοψη της ασφάλειας και της απόδοσης, ανατρέξτε στη διεύθυνση www.zytovision.com.



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

Εμπορικά σήματα:

Τα ZytoVision® και ZytoDot® είναι εμπορικά σήματα της ZytoVision GmbH.