



ZytoDot 2C
SPEC ERBB2/CEN 17 Probe Kit

REF C-3022-10 Σ 10
REF C-3022-40 Σ 40

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

4250380N467W



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 Kit 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).

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 ενζυματική 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 Kit διατίθεται σε δύο μεγέθη και αποτελείται από τα εξής:

Κωδι κός	Συστατικό	Ποσότητα		Δοχείο
		40	10	
PT2	Heat Pretreatment Solution EDTA	500 ml	150 ml	Μπουκάλι με βιδωτό καπάκι (μεγάλο)
ES1	Pepsin Solution	4 ml	1 ml	Σταγονομετρικό φιαλίδιο, λευκό πώμα
PD12	ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe	0.4 ml	0.1 ml	Δοχείο αντίδρασης, καφέ καπάκι
WB1	Wash Buffer SSC	560 ml	210 ml	Μπουκάλι με βιδωτό καπάκι (μεγάλο)
WB5	20x Wash Buffer TBS	2x 50 ml	50 ml	Μπουκάλι με βιδωτό καπάκι
AB14	Anti-DIG/DNP-Mix	4 ml	1 ml	Σταγονομετρικό φιαλίδιο, κίτρινο πώμα
AB13	HRP/AP-Polymer-Mix	4 ml	1 ml	Σταγονομετρικό φιαλίδιο, μπλε πώμα
SB6a	AP-Red Solution A	0.4 ml	0.1 ml	Σταγονομετρικό φιαλίδιο, κόκκινο πώμα (μικρό)
SB6b	AP-Red Solution B	15 ml	4 ml	Σταγονομετρικό φιαλίδιο, κόκκινο πώμα
SB7a	HRP-Green Solution A	0.8 ml	0.2 ml	Σταγονομετρικό φιαλίδιο, πράσινο πώμα (μικρό)
SB7b	HRP-Green Solution B	15 ml	4 ml	Σταγονομετρικό φιαλίδιο, πράσινο πώμα
CS2	Nuclear Blue Solution	20 ml	4 ml	Μπουκάλι με βιδωτό καπάκι, μαύρο
MT4	Mounting Solution (alcoholic)	4 ml	1 ml	Γυάλινο μπουκάλι, καφέ
	Δοχείο αντιδράσεων AP-Red	2	1	Βαθμονομημένη κούπα, κόκκινο πώμα
	Δοχείο αντιδράσεων HRP-Green	2	1	Βαθμονομημένη κούπα, πράσινο πώμα
	Οδηγίες χρήσης	1	1	

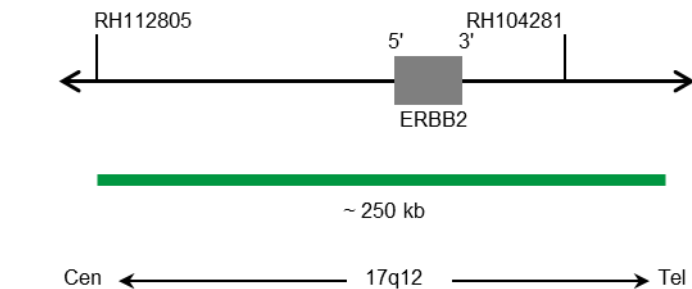
C-3022-10 (10 τεστ): Τα συστατικά PD12, ES1, AB14, AB13, SB6a-b, SB7a-b, CS2, και MT4 επαρκούν για 10 αντιδράσεις. Το συστατικό PT2 επαρκεί για 2 δοχεία χρώσης των 70 ml το καθένα. Το συστατικό WB1 επαρκεί για 3 δοχεία χρώσης των 70 ml το καθένα. Το συστατικό WB5 επαρκεί για 14 δοχεία χρώσης των 70 ml το καθένα.

C-3022-40 (40 τεστ): Τα συστατικά PD12, ES1, AB14, AB13, SB6a-b, SB7a-b, CS2, και MT4 επαρκούν για 40 αντιδράσεις. Το συστατικό PT2 επαρκεί για 7 δοχεία χρώσης των 70 ml το καθένα. Το συστατικό WB1 επαρκεί για 8 δοχεία χρώσης των 70 ml το καθένα. Το συστατικό WB5 επαρκεί για 28 δοχεία χρώσης των 70 ml το καθένα.

Το ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe (PD12) 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)

4. Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- 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 πιπέτες (10 μl, 1000 μl)
- Δοχεία ή λουτρά χρώσης
- Χρονόμετρο
- Βαθμονομημένο θερμόμετρο
- Αιθανόλη ή αλκοόλη αντιδραστήριου
- Ξυλένιο
- Μεθανόλη 100%
- Υπεροξειδίο 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.

Ειδική επισήμανση του ES1:

- | | |
|--------|--|
| EUH208 | Περιέχει πεψίνη Α. Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική αντίδραση. |
| EUH210 | Δελτίο δεδομένων ασφαλείας παρέχεται εφόσον ζητηθεί. |

Δηλώσεις επικινδυνότητας και προφύλαξης του SB6a:

- | | |
|------|---|
| H412 | Επιβλαβές για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις. |
| P273 | Να αποφεύγεται η απελευθέρωση στο περιβάλλον. |

Δηλώσεις επικινδυνότητας και προφύλαξης για τα AB13, AB14, PT2, SB7b, WB1 και WB5:

Το συστατικό που προσδιορίζει τον κίνδυνο είναι μια μάζα αντίδρασης των εξής: 5-χλωρο-2-μεθυλο-4-ισοθειαζολίνη-3-όνη [ΕΚ αρ. 247-500-7] και 2-μεθυλο-2H-ισοθειαζόλ-3-όνη [ΕΚ αρ. 220-239-6] (3:1).



Προειδοποίηση

- | | |
|-----------|--|
| H317 | Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση. |
| P261 | Αποφεύγετε να αναπνέετε σκόνη/αναθυμιάσεις/αέρια/σταγονίδια/ατμούς/εκνεφώματα. |
| P272 | Τα μολυσμένα ενδύματα εργασίας δεν πρέπει να βγαίνουν από τον χώρο εργασίας. |
| P280 | Φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα προστασίας ματιών/προσώπου. |
| P302+P352 | ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ: Πλύνετε με άφθονο νερό. |
| P333+P313 | Εάν παρατηρηθεί ερεθισμός του δέρματος ή εμφανιστεί εξάνθημα: Λάβετε ιατρική συμβουλή/προσοχή. |
| P362+P364 | Βγάλτε τα μολυσμένα ρούχα και πλύνετε τα πριν τα επαναχρησιμοποιήσετε. |

Δηλώσεις επικινδυνότητας και προφύλαξης για το SB7a:

Τα συστατικά που προσδιορίζουν τον κίνδυνο είναι η μεθανόλη και το διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου 30%.



Κίνδυνος

- | | |
|----------------|---|
| H225 | Υγρό και ατμοί πολύ εύφλεκτα. |
| H301+H311+H331 | Τοξικό σε περίπτωση κατάποσης, σε επαφή με το δέρμα και σε περίπτωση εισπνοής. |
| H370 | Προκαλεί βλάβες στα όργανα. |
| P210 | Μακριά από θερμότητα, θερμές επιφάνειες, σπινθήρες, γυμνές φλόγες και άλλες πηγές ανάφλεξης. Μην καπνίζετε. |
| P233 | Να διατηρείται ο περιέκτης ερμητικά κλειστός. |
| P260 | Μην αναπνέετε σκόνη/αναθυμιάσεις/αέρια/αιθάλη/ατμούς/σπρέυ. |
| P280 | Φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα προστασίας ματιών/προσώπου. |
| P308+P311 | Σε περίπτωση έκθεσης ή ανησυχίας: Καλέστε το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/έναν γιατρό. |
| P403+P235 | Αποθηκεύεται σε καλά αεριζόμενο χώρο. Διατηρείται δροσερό. |

Δηλώσεις επικινδυνότητας και προφύλαξης για το CS2:

Το συστατικό που προσδιορίζει τον κίνδυνο είναι η αιθανοδιόλη και η αιθυλενογλυκόλη.



Προειδοποίηση

- | | |
|------|--|
| H373 | Μπορεί να προκαλέσει βλάβη στα νεφρά λόγω παρατεταμένης ή επανειλημμένης έκθεσης σε περίπτωση κατάποσης. |
| P260 | Μην αναπνέετε σκόνη/αναθυμιάσεις/αέρια/αιθάλη/ατμούς/σπρέυ. |
| P314 | Συμβουλευθείτε/επισκεφθείτε γιατρό, εάν αισθανθείτε αδιαθεσία. |

Δηλώσεις επικινδυνότητας και προφύλαξης για το MT4:

Το συστατικό που προσδιορίζει τον κίνδυνο είναι το ξυλένιο.

**Προειδοποίηση**

H226	Υγρό και ατμοί πολύ εύφλεκτα.
H312+H332	Επιβλαβές σε επαφή με το δέρμα ή σε περίπτωση εισπνοής.
H315	Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος.
H319	Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό.
H335	Μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό της αναπνευστικής οδού.
H373	Μπορεί να προκαλέσει βλάβη στα όργανα λόγω παρατεταμένης ή επανειλημμένης έκθεσης.
P210	Μακριά από θερμότητα, θερμές επιφάνειες, σπινθήρες, γυμνές φλόγες και άλλες πηγές ανάφλεξης. Μην καπνίζετε.
P260	Μην αναπνέετε σκόνη/αναθυμιάσεις/αέρια/αιθάλη/ατμούς/σπρέυ.
P280	Φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα προστασίας ματιών/προσώπου.
P305+P351+P338	ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Αφαιρέστε τους φακούς επαφής, εάν υπάρχουν και είναι εύκολο να το κάνετε. Συνεχίστε το ξέπλυμα.
P337+P313	Εάν ο ερεθισμός των ματιών επιμένει: Λάβετε ιατρική συμβουλή/προσοχή.
P403+P235	Αποθηκεύεται σε καλά αεριζόμενο χώρο. Διατηρείται δροσερό.
EUH208	Περιέχει 2-μεθυλοπροπ-2-ενοϊκό μεθυλεστέρα, 2-μεθυλοπροπενεϊκό μεθυλεστέρα, μεθακρυλικό μεθυλεστέρα. Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική αντίδραση.

Δηλώσεις επικινδυνότητας και προφύλαξης για το PD12:

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

Συστάσεις:

- Σε κάθε βήμα της προετοιμασίας να αποφεύγετε τη διασταυρούμενη μόλυνση των δειγμάτων, καθώς αυτή μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα.
- Σταθεροποίηση σε 10% ουδέτερα ρυθμισμένη φορμαλίνη για 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C).
- Μέγεθος δείγματος $\leq 0,5 \text{ cm}^3$.
- Χρησιμοποιήστε παραφίνη εξαιρετικής ποιότητας.
- Η ενσωμάτωση πρέπει να πραγματοποιείται σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από 65°C.
- Προετοιμάστε τομές μικροτόμου 3-5 μm .
- Χρησιμοποιήστε θετικά φορτισμένα πλακίδια μικροσκοπίου.
- Σταθεροποιήστε τα αποκόμματα ιστών για 2-16 ώρες στους 50-60°C.

10. Προπαρασκευαστική επεξεργασία της συσκευής

Το 20x Wash Buffer TBS (WB5) πρέπει να υποβάλλεται σε προετοιμασία σύμφωνα με τις οδηγίες στο κεφάλαιο 11. "Διαδικασία ανάλυσης". Όλα τα άλλα αντιδραστήρια του kit είναι έτοιμα για χρήση. Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμειξη ή αραιώση. Φέρτε τον ανιχνευτή σε θερμοκρασία δωματίου (RT) και αναμείξτε τον για λίγο πριν από τη χρήση.

11. Διαδικασία ανάλυσης**11.1 Ημέρα 1****Προπαρασκευαστικά βήματα**

1. Προετοιμάστε μια σειρά με αιθανόλη (διαλύματα αιθανόλης 70%, 90% και 100%). Αραιώστε 100% αιθανόλη με αποιονισμένο ή αποσταγμένο νερό. Τα διαλύματα αυτά μπορούν να αποθηκευτούν στους κατάλληλους περιέκτες και να επαναχρησιμοποιηθούν.
2. Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2): Θερμάνετε σε θερμοκρασία έως και 98°C σε καλυμμένο δοχείο χρώσης.
3. Προετοιμασία του 3% H_2O_2 : Αραιώστε 1 μέρος 30% H_2O_2 σε 9 μέρη μεθανόλης 100%.

4. Ανιχνευτής χρωμογόνου *in situ* υβριδισμού *ZytoDot 2C CISH*: Πριν από τη χρήση, φέρτε το σε θερμοκρασία δωματίου.

Προεπεξεργασία (αποκλήρωση/πρωτεόλυση)

1. Επλώστε τα πλακίδια για 10 λεπτά στους 70°C (π.χ. επάνω σε μια καυτή πλάκα).
2. Επλώστε τα πλακίδια 2 φορές από 5 λεπτά μέσα σε ξυλένιο.
3. Επλώστε τα πλακίδια 3 φορές από 3 λεπτά σε αιθανόλη 100%.
4. Επλώστε τα πλακίδια για 5 λεπτά σε 3% H₂O₂.
5. Πλύνετε τα πλακίδια 2 φορές από 1 λεπτό σε απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό.
6. Επλώστε για 15 λεπτά σε προθερμασμένο Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2) στους 98°C.

Χρησιμοποιείτε οκτώ πλακίδια ανά δοχείο χρώσης (προσθέστε ομοίωμα πλακιδίων εάν χρειαστεί).

7. Μεταφέρετε τα πλακίδια αμέσως σε απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό και πλύνετε τα 2 φορές από 2 λεπτά.
8. Εφαρμόστε (στάγδην) Pepsin Solution (ES1) στο δείγμα και επλώστε για 5 έως 15 λεπτά στους 37°C σε θάλαμο υγρασίας.

Το **ES1** ενδέχεται να σχηματίσει ιζήματα, τα οποία, ωστόσο, δεν επηρεάζουν την ποιότητα.

Ως γενικό κανόνα, συνιστούμε να εξακριβώνεται ο βέλτιστος χρόνος για πρωτεόλυση σε προδοκιμές.

9. Βυθίστε τα πλακίδια σε απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό.
10. Αφυδάτωση σε: αιθανόλη 70%, 90% και 100%, έκαστο για 1 λεπτό.
11. Στεγνώστε τα μέρη με στεγνό αέρα.

Σημείωση: Βεβαιωθείτε ότι στεγνώσατε πλήρως τα μέρη προτού χρησιμοποιήσετε τον ανιχνευτή.

Μετουσίωση και υβριδισμός

1. Μεταφέρετε με πιπέττα 10 μl περιεχομένου του ανιχνευτή σε κάθε προεπεξεργασμένο δείγμα.
2. 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.

3. Τοποθετήστε τα πλακίδια σε θερμή πλάκα ή σε υβριδιστή και μετουσίωστε τα δείγματα για 5 λεπτά στους 79°C.
4. 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.

11.2 Ημέρα 2

Προπαρασκευαστικά βήματα

1. Wash Buffer SSC (WB1): Για αυστηρή έκπλυση θερμάνετε σε θερμοκρασία έως και 80°C σε καλυμμένο δοχείο χρώσης. Το **WB1** ενδέχεται να σχηματίσει ιζήματα, τα οποία, ωστόσο, δεν επηρεάζουν την ποιότητα και διαλύονται όταν θερμαίνονται.
2. Προετοιμασία ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης 1x Wash Buffer TBS: Αραιώστε 1 μέρος 20x Wash Buffer TBS (WB5) σε 19 μέρη απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό.

Το αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης 1x Wash Buffer TBS είναι σταθερό για μία εβδομάδα όταν αποθηκεύεται στους 2-8°C.

3. Anti-DIG/DNP-Mix (AB14), HRP/AP-Polymer-Mix (AB13), AP-Red Solution A (SB6a), AP-Red Solution B (SB6b), HRP-Green Solution A (SB7a), HRP-Green Solution B (SB7b), Nuclear Blue Solution (CS2), Mounting Solution (alcoholic) (MT4): Πριν από τη χρήση, φέρτε το σε θερμοκρασία δωματίου.

Τα συστατικά **SB7a** και **SB7b** ενδέχεται να σχηματίσουν ιζήματα, τα οποία, ωστόσο, δεν επηρεάζουν την ποιότητα.

Μετα-υβριδισμός και ανίχνευση

1. Αφαιρέστε προσεκτικά το ελαστικό τσιμεντοειδές ή την κόλλα.
2. Αφαιρέστε την καλυπτρίδα βυθίζοντας τα πλακίδια σε Wash Buffer SSC (WB1) σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά.

Το **WB1** μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί για μία ακόμη μόνο φορά (σύνολο 2 φορές). Αποθηκεύστε στους 2-8°C το πολύ για μία εβδομάδα.

3. Πλύνετε τα πλακίδια για 5 λεπτά σε Wash Buffer SSC (WB1) σε θερμοκρασία 80°C.

Χρησιμοποιείτε οκτώ πλακίδια ανά δοχείο χρώσης (προσθέστε ομοίωμα πλακιδίων εάν χρειαστεί).

4. Πλύνετε τα πλακίδια 2 φορές από 1 λεπτό σε απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό.
5. Βυθίστε τα πλακίδια σε ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης 1x Wash Buffer TBS
6. Εφαρμόστε Anti-DIG/DNP-Mix (AB14) (1-2 σταγόνες ανά πλακίδιο) στα πλακίδια και επλώστε για 15 λεπτά στους 37°C σε θάλαμο υγρασίας.
7. Πλύνετε τα πλακίδια 3 φορές από 1 λεπτό σε 1x Wash Buffer TBS.
8. Εφαρμόστε HRP/AP-Polymer-Mix (AB13) (1-2 σταγόνες ανά πλακίδιο) στα πλακίδια και επλώστε για 15 λεπτά στους 37°C σε θάλαμο υγρασίας.
9. Πλύνετε τα πλακίδια 3 φορές από 1 λεπτό σε 1x Wash Buffer TBS.
10. Προετοιμάστε το διάλυμα AP-Red (διάλυμα εργασίας): συμπληρώστε 1 ml διαλύματος AP-Red B (**SB6b**) σε μια βαθμονομημένη κούπα και προσθέστε μία σταγόνα (30 μl) διαλύματος AP-Red A (**SB6a**). Ανακατέψτε καλά.
11. Εφαρμόστε διάλυμα AP-Red (1-2 σταγόνες ανά πλακίδιο) στα πλακίδια και επλώστε σε σκοτεινό χώρο για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.
12. Στη διάρκεια της επώασης, προετοιμάστε το πράσινο διάλυμα HRP (διάλυμα εργασίας): συμπληρώστε με HRP-Green Solution B 1 ml (SB7b) σε μια βαθμονομημένη κούπα και προσθέστε δύο σταγόνες (2 x 20 μl) HRP-Green Solution A (SB7a). Ανακατέψτε καλά.
13. Πλύνετε τα πλακίδια για 2 λεπτά σε απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό.
14. Εφαρμόστε διάλυμα HRP-Green (1-2 σταγόνες ανά πλακίδιο) στα πλακίδια και επλώστε σε σκοτεινό χώρο για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.
15. Πλύνετε τα πλακίδια για 2 λεπτά σε απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό.
16. Εφαρμόστε αντιχρώση στα δείγματα για 2 λεπτά με το Nuclear Blue Solution (CS2).
17. Μεταφέρετε τα πλακίδια σε ένα δοχείο χρώσης και ξεπλύνετε τα για 2 λεπτά κάτω από τρεχούμενο κρύο νερό βρύσης.
18. Αφυδατώστε 3 φορές από 30 δευτερόλεπτα σε αιθανόλη 100% (να χρησιμοποιείτε μόνο εξαιρετικά καθαρή αιθανόλη).
19. Επλώστε τα πλακίδια 2 φορές από 30 δευτερόλεπτα μέσα σε ξυλένιο (να χρησιμοποιείτε μόνο εξαιρετικά καθαρό ξυλένιο).

Μην παρατείνετε ή συντομεύετε τον χρόνο επώασης, καθώς αυτό ενδέχεται να έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια των σημάτων!

20. Αποφύγετε τυχόν παγιδευμένες φυσαλίδες, καλύψτε τα δείγματα με μια καλυπτρίδα (22 mm x 22 mm, 24 mm x 32 mm) χρησιμοποιώντας το Mounting Solution (alcoholic) (MT4). Περιμένετε περίπου 20 με 30 λεπτά ώσπου να ακινητοποιηθεί η καλυπτρίδα.

Με τη χρήση ενός στόμιου πιπέττας που έχει κοπεί για να αυξηθεί το μέγεθος του ανοίγματος μπορεί να διευκολυνθεί η διαδικασία της πιπέττας.

21. Αξιολογήστε τη χρώση των δειγμάτων χρησιμοποιώντας μικροσκόπιο φωτός.

12. Ερμηνεία αποτελεσμάτων

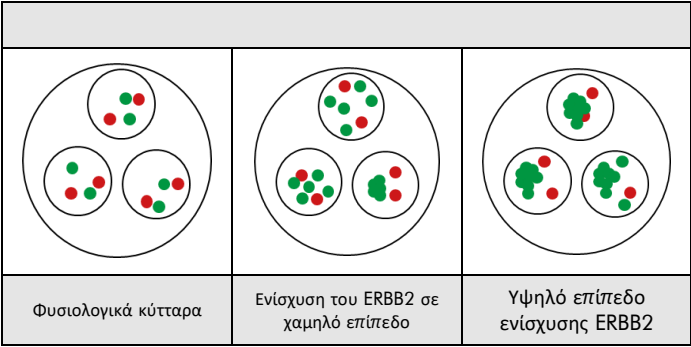
Χρησιμοποιώντας το kit εφαρμογής ZytoDot 2C CISH, τα σήματα υβριδισμού των πολυνουκλεοτιδίων που έχουν επισημανθεί με διγοξιγενίνη εμφανίζονται ως διακριτές κουκκίδες σκούρου πράσινου χρώματος (περιοχή γονιδίου ERBB2) και τα πολυνουκλεοτίδια που έχουν επισημανθεί με δινιτροφαινύλιο εμφανίζονται ως διακριτές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