



SurePath with ProEx C Immunocytochemical Test Kit



REF 490501	SurePath with ProEx C Immunocytochemical Test Kit	75
REF 490500	SurePath with ProEx C Immunocytochemical Test Counterstains	75

ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Το **SurePath** με **ProEx C** Immunocytochemical Test (ανοσοϊστοχημική εξέταση **ProEx C**) προορίζεται για την ποιοτική αξιολόγηση της ελαττωματικής επαγωγής κατά τη φάση S σε δείγματα τραχηλικής κυτταρολογίας που συλλέγονται σε **SurePath** Preservative Fluid (συντηρητικό υγρό **SurePath**). Τα αποτελέσματα της εξέτασης παρέχουν συμπληρωματικές πληροφορίες για διαγνωσικές τραχηλικής κυτταρολογίας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Οι πρωτεΐνες συντήρησης μικροσκοπικών χρωμοσωμάτων (MCM) παίζουν έναν κεντρικό ρόλο στον διπλασιασμό του ευκαρυωτικού DNA. Καθεμία από τις πρωτεΐνες MCM έχει μοτίβα ATPάσης εξαρτώμενα από DNA στην υψηλώς συντηρητική κεντρική περιοχή της. Τα επίπεδα των πρωτεϊνών MCM γενικώς αυξάνονται με μεταβλητό τρόπο καθώς τα φυσιολογικά κύτταρα προχωρούν από την φάση G0 στη φάση G1/S του κυτταρικού κύκλου. Η τοποϊσομεράση II άλφα (TOP2A) είναι ένα απαραίτητο πυρηνικό ένζυμο που εμπλέκεται στο διπλασιασμό του DNA και αποτελεί στόχο για πολλά αντικαρκινικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία κατά του καρκίνου. Η μειωμένη έκφραση της TOP2A είναι ένας κυρίαρχος μηχανισμός αντίστασης σε διάφορους θεραπευτικούς παράγοντες. Μια σημαντική παραλλαγή στο φάσμα έκφρασης της πρωτεΐνης αυτής παρατηρήθηκε σε πολλούς και διαφορετικούς όγκους. Η TOP2A επικρατεί στα πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα και τροποποιείται στην φάση M από φωσφορύλιωση σε συγκεκριμένες θέσεις, ένα κρίσιμο γεγονός για τη συμπίκνωση και διαχωρισμό των μιτωτικών χρωμοσωμάτων.

Το **ProEx C** Antibody Cocktail (Κοκτέιλ αντισωμάτων C) περιέχει μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού έναντι των MCM2 και TOP2A, τα οποία έχουν απομονωθεί από υπερκείμενη ιστοκαλλιέργεια και είναι αραιωμένα σε ρυθμιστικό διάλυμα φυσιολογικού ορού με σταθεροποιητές πρωτεϊνών και νατραζίδιο 0,09%.

ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Το **SurePath** με **ProEx C** Immunocytochemical Test kit (Κιτ της ανοσοκυτταροχημικής εξέτασης) περιέχει ένα κοκτέιλ αντισωμάτων, αντιδραστήρια ανίχνευσης και αντίχρωσης απαραίτητα για την ολοκλήρωση μιας διαδικασίας τριών βημάτων χειροκίνητης ή αυτοματοποιημένης ανοσοκυτταροχημικής χρώσης για τα συνήθως παρασκευαζόμενα τραχηλικά δείγματα λεπτής στιβάδας. Μετά την επώαση του δείγματος με ένα ιδιοκτησιακού καθεστώτος κοκτέιλ αντισωμάτων ποντικού, επιλεκτικής δέσμευσης μονοκλωνικού αντισώματος, ενδεικτικού θετικής εξέτασης, η εποπτική παρουσίαση περιλαμβάνει ένα μοναδικό σύστημα έτοιμου προς χρήση αντισώματος ενωμένου με ένζυμο και χρωμογόνο. Το ενζυμικό αντιδραστήριο είναι ένα δευτεροταγές αντίσωμα αίγας έναντι ποντικού, σύμπλοκο υπεροξειδάσης από ραφανίδα, που συνδέεται με μια αλυσίδα πολυμερούς δεξτράνης. Η προσθήκη ενός ειδικού χρωμογόνου προκαλεί το σχηματισμό ενός ορατού χρωμογόνου προϊόντος που εντοπίζεται στις θέσεις δέσμευσης αντιγόνου-αντισώματος. Στη συνέχεια το δείγμα αντιχρωματίζεται με αιματοξυλίνη, εφαρμόζεται ένας παράγοντας μπλε χρώσης και στην αντικειμενοφόρο τοποθετείται καλυπτρίδα. Τα αποτελέσματα ερμηνεύονται χρησιμοποιώντας οπτικό μικροσκόπιο. Θετικό αποτέλεσμα, ενδεικτικό υψηλού βαθμού τραχηλικής νόσου, επιτυγχάνεται όταν οι πυρήνες στα κύτταρα υπό εξέταση χρωματιστούν με καφέ χρώμα.

Μια βιβλιοθήκη αναφοράς για δυνητικά θετικές αντικειμενοφόρους μπορεί να δημιουργηθεί χρησιμοποιώντας αυτοματοποιημένο εξοπλισμό απεικόνισης. Η βιβλιοθήκη κατόπιν μπορεί να εξεταστεί για να προσδιοριστεί ένα θετικό ή αρνητικό αποτέλεσμα.

Το **SurePath** με **ProEx C** Immunocytochemical Test εφαρμόζεται τόσο στη χειροκίνητη όσο και στην αυτοματοποιημένη χρώση.

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Περιλαμβάνονται τα παρακάτω υλικά, τα οποία επαρκούν για 75 παρασκευάσματα λεπτής στιβάδας:

Αρ. φιαλιδίου	Περιγραφή	
1a	Αποκλεισμός υπεροξειδάσης: Ρυθμιστικό υπεροξειδίου του υδρογόνου συν σταθεροποιητής και ιδιοκτησιακά συστατικά	2–8 °C
1b	Αποκλεισμός πρωτεϊνών: Καθαρή πρωτεΐνη συν ιδιοκτησιακός συνδυασμός πρωτεϊνών σε τροποποιημένο PBS με συντηρητικό και τασιενεργό	2–8 °C
2	Κοκτέιλ αντισωμάτων: Έτοιμο προς χρήση κοκτέιλ μονοκλωνικών αντισωμάτων που παρέχεται σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris με Tween 20. Περιέχει σταθεροποιητικές πρωτεΐνες και αντιμικροβιακό αντιδραστήριο.	2–8 °C
3a	Ιχνηλάτη ποντικού: Δεσμεύεται στα μονοκλωνικά αντισώματα ποντικού	2–8 °C
3b	Αντιδραστήριο πολυμερούς: Πολυμερές συζυγές με υπεροξειδάση αγριοραπανίου που δεσμεύεται στο αντιδραστήριο ιχνηλάτη ποντικού	2–8 °C
4a	Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος DAB: Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος που χρησιμοποιείται για την παρασκευή του χρωμογόνου DAB	2–8 °C
4b	DAB: Διάλυμα χρωμογόνου 3,3-διαμινοβενζιδίνης	2–8 °C
5	Hematoxylin (Αιματοξυλίνη): Υδατική αιματοξυλίνη του Mayer	15–30 °C
6	Ουσία μπλε χρώσης: Τρις ρυθμιστικό φυσιολογικό διάλυμα με Tween 20 και 0,09% NaN ₃	15–30 °C

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΡΟΜΗΘΕΥΟΝΤΑΙ

- Μαντηλάκια καθαρισμού
- **BD SureDetect** SiHa Cell Line (Κυτταρική γραμμή SiHa)
- Απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό
- Αιθανόλη (95% και 100%)
- Γυάλινες καλυπτρίδες
- Γάντια
- Υγρός θάλαμος
- Φωτονικό μικροσκόπιο (αντικειμενικούς φακούς 10x, 20x [προαιρετικά], 40x)
- Μέσο επικάλυψης
- Πιπέτες και ρύγχη πιπετών (ικανές να μεταφέρουν όγκους 20 µL, 200 µL και 1000 µL)
- **BD SureDetect** Slide Preparation Buffer 10X (Ρυθμιστικό διάλυμα προκατεργασίας)
- Δοχεία ή λουτρά χρώσης
- Χρονόμετρο (με δυνατότητα διαστημάτων 1–60 λεπτά)
- Τρις ρυθμιστικός φυσιολογικός ορός (TBS)
- Tween 20
- Αρνητικός μάρτυρας IgG ποντικού γενικής χρήσεως
- Στροβιλιστής
- Ξυλένιο ή υποκατάστατα ξυλενίου
- Ατμόλουτρο/υδατόλουτρο

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

490500 SurePath με ProEx C Immunocytochemical Counterstains

Προσοχή



H302 Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης. **H315** Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος. **H319** Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό.

P264 Πλύνετε σχολαστικά μετά το χειρισμό. **P280** Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο. **P301+P312** ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΚΑΤΑΠΟΣΗΣ: Καλέστε το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ ή ένα γιατρό εάν αισθανθείτε αδιαθεσία. **P302+P352** ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ: Πλύνετε με άφθονο σαπούνι και νερό. **P305+P351+P338** ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εφόσον είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε. **P501** Διάθεση του περιεχομένου/περιέκτη σύμφωνα με τους τοπικούς/περιφερειακούς/εθνικούς/διεθνείς κανονισμούς.

490501 SurePath με ProEx C Immunocytochemical Test Kit

Κίνδυνος



H341 Ύποπτο για πρόκληση γενετικών ελαττωμάτων. **H350** Μπορεί να προκαλέσει καρκίνο.

P281 Χρησιμοποιείτε μέσα ατομικής προστασίας όταν απαιτείται. **P308+P313** ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ έκθεσης ή πιθανότητας έκθεσης: Συμβουλευθείτε/Επισκεφθείτε γιατρό. **P405** Φυλάσσεται κλειδωμένο. **P501** Διάθεση του περιεχομένου/περιέκτη σύμφωνα με τους τοπικούς/περιφερειακούς/εθνικούς/διεθνείς κανονισμούς.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

1. Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
2. Οι παρασκευασμένες αντικειμενοφόροι **SurePath** πρέπει να τοποθετούνται στο ρυθμιστικό διάλυμα προκατεργασίας αμέσως μόλις παρασκευαστούν. Οι αντικειμενοφόροι πρέπει να παραμένουν στο ρυθμιστικό διάλυμα προκατεργασίας επί τουλάχιστον 1 ώρα, αλλά όχι περισσότερο από 72 ώρες πριν από την ανοσοκυταροχημεία.
3. Μην επιτρέψετε να στεγνώσουν οι αντικειμενοφόροι οποιαδήποτε στιγμή κατά τη διάρκεια της διαδικασίας. Οι αντικειμενοφόροι που αφέθηκαν να στεγνώσουν κατά τη διάρκεια της διαδικασίας μπορεί να παρουσιάσουν αυξημένη χρώση του υπόβαθρου.
4. Πρέπει να χειρίζεστε τα δείγματα και όλα τα υλικά που εκτίθενται στα δείγματα ως πιθανά λοιμογόνα και να τα απορρίπτετε με τις κατάλληλες προφυλάξεις. Ποτέ μην αναρροφάτε τα αντιδραστήρια και τα δείγματα με το στόμα και αποφεύγετε την επαφή τους με το δέρμα και τις βλεννογόνους μεμβράνες. Εάν τα αντιδραστήρια έλθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, ξεπλύνετε με άφθονο νερό.
5. Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή επιμόλυνση των αντιδραστηρίων για την αποφυγή της μη ειδικής χρώσης.
6. Χρόνοι επώασης, θερμοκρασίες και μέθοδοι διαφορετικοί από εκείνους που έχουν καθοριστεί μπορεί να οδηγήσουν σε εσφαλμένα αποτελέσματα.
7. Τα αντιδραστήρια έχουν αραιωθεί για βέλτιστη απόδοση. Περαιτέρω αραιώση πιθανόν να προκαλέσει απώλεια χρώσης του αντιγόνου.
8. Τα συστατικά του kit εξαρτώνται από την παρτίδα. Μην αντικαθιστάτε τα συστατικά του kit με άλλα με διαφορετικούς αριθμούς παρτίδων παραγωγής. Οι αριθμοί παρτίδων υπάρχουν στις ετικέτες συσκευασίας.

9. Μην χρησιμοποιείτε το **SurePath** με **ProEx C** μετά την ημερομηνία λήξης που είναι τυπωμένη στη συσκευασία. Ο χρήστης πρέπει να κάνει επαλήθευση των συνθηκών στις περιπτώσεις που τα αντιδραστήρια φυλάσσονται υπό συνθήκες διαφορετικές από εκείνες που καθορίζει το ένθετο της συσκευασίας.
10. Δεν υπάρχουν εμφανή σημάδια που να δείχνουν υποβάθμιση του προϊόντος αυτού. Επομένως, θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες πρέπει να διεξάγονται ταυτόχρονα με τα δείγματα ασθενούς. Αν παρατηρηθεί μη αναμενόμενη χρώση, η οποία δεν μπορεί να εξηγηθεί από διαφορές στις εργαστηριακές διαδικασίες ή υπάρχει υποψία για πρόβλημα με το **SurePath** με **ProEx C Test kit** επικοινωνήστε με την τεχνική υποστήριξη της BD.
11. Να φοράτε τα κατάλληλα Μέσα Ατομικής Προστασίας για να αποφύγετε την επαφή του αντιδραστηρίου με τα μάτια και το δέρμα. Για περισσότερες πληροφορίες ανατρέξτε στο Φύλλο Δεδομένων Ασφάλειας Υλικού (MSDS).
12. Το **SurePath** με **ProEx C Test** προορίζεται για χρήση σε δείγματα τραχηλικής κυτταρολογίας που συλλέγονται σε **SurePath Preservative Fluid**. Δεν έχει αξιολογηθεί η συμβατότητα με συμβατικά και μονοστιβαδικά παρασκευάσματα εκτός του **SurePath**.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Προετοιμασία του δείγματος

Συμβουλευθείτε το Εγχειρίδιο χειριστή του **BD PrepStain Slide Processor** (Επεξεργαστής αντικειμενοφόρων) για οδηγίες σχετικά με την προετοιμασία των αντικειμενοφόρων πλακών από δείγματα τραχηλικής κυτταρολογίας **SurePath**.

Προσθέστε 8 mL **SurePath Preservative Fluid** στο υπολειμματικό δείγμα στο φιαλίδιο **SurePath** (2 mLs περίπου). Το αραιωμένο δείγμα πρέπει να υποβληθεί σε κατεργασία στο Όργανο **BD PrepMate** χρησιμοποιώντας την πρότυπη τεχνική και στο Όργανο **BD PrepStain**.

Οι παρασκευασμένες αντικειμενοφόρες πλάκες **SurePath** πρέπει να τοποθετούνται στο ρυθμιστικό διάλυμα προετοιμασίας αντικειμενοφόρων **BD SureDetect 10X** αμέσως μόλις παρασκευαστούν (ανατρέξτε στο Ένθετο συσκευασίας του ρυθμιστικού διαλύματος προετοιμασίας αντικειμενοφόρων πλακών **BD SureDetect** για οδηγίες σχετικά με την προετοιμασία διαλύματος εργασίας αντικειμενοφόρων πλακών). Οι αντικειμενοφόρες πλάκες πρέπει να παραμείνουν στο ρυθμιστικό διάλυμα επί τουλάχιστον 1 ώρα, αλλά όχι περισσότερο από 72 ώρες πριν από την ανοσοκυταροχημεία.

Μια διαδικασία ανάκτησης επιτόπων πρέπει να χρησιμοποιείται για βέλτιστη απόδοση του kit. Η διαδικασία αυτή περιλαμβάνει τη διάβρεξη των προετοιμασμένων αντικειμενοφόρων πλακών σε ένα διάλυμα εργασίας ρυθμιστικού διαλύματος προετοιμασίας αντικειμενοφόρων πλακών **BD SureDetect** επί τουλάχιστον 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου και κατόπιν θέρμανση των αντικειμενοφόρων πλακών σε ρυθμιστικό διάλυμα προκατεργασίας σε θερμοκρασία 95 °C. Οι αντικειμενοφόρες πλάκες διατηρούνται σε θερμοκρασία 95 °C επί 15 λεπτά και κατόπιν αφήνονται να ψυχθούν σε θερμοκρασία δωματίου επί 20 λεπτά. Συνιστάται η χρήση βαθμονομημένου υδατόλουτρου ή ατμόλουτρου ικανού να διατηρεί την απαιτούμενη θερμοκρασία. Εργαστήρια που βρίσκονται σε μεγαλύτερα υψόμετρα πρέπει να προσδιορίζουν την καλύτερη μέθοδο διατήρησης της απαιτούμενης θερμοκρασίας. Η διαδικασία χρώσης πρέπει να αρχίζει αμέσως μετά την ανάκτηση επιτόπου και την ψύξη. Παρεκκλίσεις από την περιγραφόμενη διαδικασία πιθανόν να επηρεάσουν δυσμενώς τα αποτελέσματα.

Προετοιμασία του αντιδραστηρίου

Προετοιμάστε τα παρακάτω αντιδραστήρια πριν από τη χρώση.

- Τρεις ρυθμιστικός φυσιολογικός ορός με Tween 20 0,05% (TBST)
 - Προετοιμάστε το TBS σύμφωνα με τις προδιαγραφές του κατασκευαστή.
 - Αν δεν υπάρχει ήδη στο TBS, προσθέστε Tween 20 έως τελικής συγκεντρώσεως 0,05%.
- Διάλυμα υποστρώματος-χρωμογόνου (DAB) (επαρκής όγκος για 5 αντικειμενοφόρες πλάκες)
 - Μεταφέρετε 1 mL ρυθμιστικού διαλύματος υποστρώματος DAB (φιαλίδιο 4a) σε δοκιμαστικό σωλήνα.

- Προσθέστε μια σταγόνα (20–30 µL) χρωμογόνου DAB (φιαλίδιο 4b). Αναμίξτε επιμελώς και απλώστε στις αντικειμενοφόρους πλάκες με πιπέτα.
- Προετοιμάστε νωπό διάλυμα υποστρώματος-χρωμογόνου καθημερινά.
- Η ποιότητα της χρώσης δεν επηρεάζεται από το ίζημα που πιθανόν να αναπτυχθεί στο διάλυμα.

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΧΡΩΣΗΣ

(ΔΙΕΞΑΓΩΓΗ ΣΕ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΔΩΜΑΤΙΟΥ, 20–25 °C)

Διαδικαστικές σημειώσεις χρώσης

- Διαβάστε όλες αυτές τις οδηγίες προσεκτικά και εξοικειωθείτε με όλα τα συστατικά πριν από τη χρήση (βλ. Προφυλάξεις).
- Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να αφήνονται να ισορροπούν σε θερμοκρασία δωματίου (20–25 °C) πριν την ανοσοχρώση.
- Όλες οι επωάσεις πρέπει να πραγματοποιούνται σε θερμοκρασία δωματίου, εκτός εάν σημειώνεται διαφορετικά.
- Μην αφήνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες να στεγνώσουν κατά τη διάρκεια της διαδικασίας χρώσης. Τα κυτταρικά παρασκευάσματα που έχουν στεγνώσει ενδέχεται να εμφανίζουν αυξημένη μη ειδική χρώση. Προστατέψτε τις αντικειμενοφόρους πλάκες που πιθανόν να εκτίθενται σε ρεύματα αέρα. Στις παρατεταμένες επωάσεις, οι αντικειμενοφόρες πλάκες πρέπει να τοποθετούνται σε θάλαμο υγρανσης.

Ανάκτηση επιτόπου

- Τοποθετήστε τις προετοιμασμένες αντικειμενοφόρους σε δοχείο corlin που περιέχει διάλυμα εργασίας ρυθμιστικού διαλύματος προετοιμασίας αντικειμενοφόρων πλακών **BD SureDetect** επί τουλάχιστον 1 ώρα έως και 72 ώρες κατά μέγιστο.
- Επωάστε σε υδατόλουτρο ή ατμόλουτρο επί 15 λεπτά σε θερμοκρασία 95 °C.
- Αφαιρέστε ολόκληρο το δοχείο corlin με τις αντικειμενοφόρους πλάκες από το υδατόλουτρο ή ατμόλουτρο και επιτρέψτε στις αντικειμενοφόρους να ψυχθούν στο ρυθμιστικό διάλυμα επί 20 λεπτά.
- Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες με απιονισμένο H₂O και μεταφέρετε σε ένα καθαρό δοχείο τύπου corlin που περιέχει TBST.

Αντιδραστήριο αποκλεισμού

- Κτυπήστε ελαφρά για να απομακρύνετε την περίσσεια του ρυθμιστικού διαλύματος.
- Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε έναν θάλαμο υγρανσης που έχετε ετοιμάσει (γεμάτο από χαρτοπετσέτες ή γάζες εμποτισμένες με νερό).
- Απλώστε 200 µL αντιδραστηρίου αποκλεισμού υπερξειδάσης (φιαλίδιο 1a) για να καλύψετε τη περιοχή εναπόθεσης των κυττάρων.
- Επωάστε επί 5 λεπτά (±1 λεπτό).
- Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες με TBST, 3 αλλαγές, 2 λεπτά έκαστη.

Αποκλεισμός πρωτεϊνών

- Κτυπήστε ελαφρά για να απομακρύνετε την περίσσεια του ρυθμιστικού διαλύματος.
- Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες στον θάλαμο υγρανσης που έχετε ετοιμάσει (γεμάτο από χαρτοπετσέτες ή γάζες εμποτισμένες με νερό).
- Απλώστε 200 µL αντιδραστηρίου αποκλεισμού πρωτεϊνών (φιαλίδιο 1b) για να καλύψετε τη περιοχή εναπόθεσης των κυττάρων.
- Επωάστε επί 5 λεπτά (±1 λεπτό).
- ΜΗΝ ΞΕΠΛΥΝΕΤΕ.

Κοκτέιλ πρωτογόνων αντισωμάτων

- Κτυπήστε ελαφρά για να απομακρύνετε την περίσσεια αποκλεισμού πρωτεϊνών.

- Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες στον θάλαμο υγρανσης που έχετε ετοιμάσει (γεμάτο από χαρτοπετσέτες ή γάζες εμποτισμένες με νερό).
- Απλώστε 200 µL κοκτέιλ αντισωμάτων **ProEx C Ab** (φιαλίδιο 2) για να καλύψετε εντελώς την περιοχή εναπόθεσης των κυττάρων.
- Επωάστε επί 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.
- Ξεπλύνετε ανεξάρτητα κάθε αντικειμενοφόρο πλάκα με TBST με έναν υδροβολέα (μην επικεντρώνετε τη ροή απευθείας επάνω στην τομή του ιστού). Φορτώστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε ένα στατήρα αντικειμενοφόρων.
- Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες με TBST, 3 αλλαγές, 2 λεπτά έκαστη.

Χημεία ανίχνευσης

- Κτυπήστε ελαφρά για να απομακρύνετε την περίσσεια του ρυθμιστικού διαλύματος.
- Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε θάλαμο υγρανσης που έχετε ετοιμάσει (γεμάτο από χαρτοπετσέτες ή γάζες εμποτισμένες με νερό).
- Απλώστε 200 µL αντιδραστηρίου ιχνηλάτη ποντικού (φιαλίδιο 3a) για να καλύψετε εντελώς την περιοχή εναπόθεσης των κυττάρων.
- Επωάστε 20 λεπτά (±1 λεπτό).
- Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες με TBST, 3 αλλαγές, 2 λεπτά έκαστη.
- Κτυπήστε ελαφρά για να απομακρύνετε την περίσσεια του ρυθμιστικού διαλύματος.
- Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε θάλαμο υγρανσης που έχετε ετοιμάσει (γεμάτο από χαρτοπετσέτες ή γάζες εμποτισμένες με νερό).
- Απλώστε 200 µL αντιδραστηρίου πολυμερούς (φιαλίδιο 3b) για να καλύψετε την περιοχή εναπόθεσης των κυττάρων.
- Επωάστε επί 20 λεπτά (±1 λεπτό).
- Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε λουτρό TBST, 3 αλλαγές, 2 λεπτά έκαστη.
- Κτυπήστε ελαφρά για να απομακρύνετε την περίσσεια του ρυθμιστικού διαλύματος.
- Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες στον θάλαμο υγρανσης που έχετε ετοιμάσει (γεμάτο από χαρτοπετσέτες ή γάζες εμποτισμένες με νερό).
- Απλώστε 200 µL διαλύματος υποστρώματος-χρωμογόνου (DAB) για να καλύψετε εντελώς την περιοχή εναπόθεσης των κυττάρων.
- Επωάστε για 5 λεπτά (±1 λεπτό).
- Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες επί 5 λεπτά σε απιονισμένο H₂O.

Αντίχρωση

- Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες με TBST, 1 αλλαγή, 2 λεπτά.
- Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε θάλαμο υγρανσης που έχετε ετοιμάσει (γεμάτο από χαρτοπετσέτες ή γάζες εμποτισμένες με νερό).
- Απλώστε 200 µL αντιδραστηρίου αντίχρωσης αιματοξυλίνης (φιαλίδιο 5) για να καλύψετε εντελώς την περιοχή εναπόθεσης των κυττάρων.
- Επωάστε επί 1 λεπτό (±10 δευτερόλεπτα).
- Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες επί 3 λεπτά σε τρεχούμενο H₂O.
- Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε θάλαμο υγρανσης που έχετε ετοιμάσει (γεμάτο από χαρτοπετσέτες ή γάζες εμποτισμένες με νερό).
- Δώστε μπλε χρώμα στις αντικειμενοφόρους πλάκες απλώνοντας 200 µL ουσία μπλε χρώσης (φιαλίδιο 6) για 1 λεπτό (±10 δευτερόλεπτα).
- Επαναλάβετε το ξέπλυμα σε τρεχούμενο νερό επί 1 λεπτό.

Κάλυψη

- Εμβαπτίστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε αιθανόλη 95%, 1 λεπτό ή 25 εμβαπτίσεις.
- Εμβαπτίστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε απόλυτη αλκοόλη, 4 αλλαγές, 1 λεπτό έκαστη ή 25 εμβαπτίσεις.
- Διαυγάστε με ξυλένιο, 3 αλλαγές, 1 λεπτό έκαστη ή 25 εμβαπτίσεις.
- Καλύψτε τις αντικειμενοφόρους πλάκες με μη υδατικό και μόνιμο υλικό κάλυψης χρησιμοποιώντας γυάλινες καλυπτρίδες.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Το χρονικό όριο αποθήκευσης για το **SurePath με ProEx C** Immunocytochemical Test Kit (Αντιδραστήρια Αντισωμάτων και Ανίχνευσης) είναι μέχρι και 12 μήνες από την ημερομηνία παραγωγής, σε θερμοκρασία 2–8 °C.

Το χρονικό όριο αποθήκευσης για το **SurePath με ProEx C** Immunocytochemical Test Counterstains (Αντιδραστήριο αιματοξυλίνης και μπλε χρώσης) είναι μέχρι και 12 μήνες από την ημερομηνία παραγωγής, σε θερμοκρασία 15–30 °C.

Μόλις ανοιχθούν τα αντιδραστήρια παραμένουν σταθερά επί τριάντα (30) ημέρες όταν φυλάσσονται στις προτεινόμενες θερμοκρασίες. Μην χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα.

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Η μεταβλητότητα στα αποτελέσματα συχνά προέρχεται από διαφορές στον χειρισμό των δειγμάτων, η οποία αποκλίνει από τις προτεινόμενες διαδικασίες της εξέτασης. Συμβουλευθείτε τις προτεινόμενες οδηγίες ποιοτικού ελέγχου του Clinical and Laboratory Standards Institute, *Quality Assurance for Immunocytochemistry* για πρόσθετες πληροφορίες.

Ο κυτταρικός μάρτυρας **BD SureDetect** SiHa διατίθεται ως θετικός μάρτυρας από την BD Diagnostics. Κάθε φιαλίδιο περιέχει μια κυτταρική σειρά καρκίνου του τραχήλου, η οποία υποβάλλεται στην ίδια επεξεργασία όπως και τα κλινικά δείγματα. Αρνητικός μάρτυρας IgG ποντικού γενικής χρήσεως μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αρνητικός μάρτυρας. Μια αντικειμενοφόρος πλάκα θετικού και αρνητικού μάρτυρα πρέπει να περιλαμβάνονται σε κάθε διαδικασία χρώσης. Τα αποτελέσματα της χρώσης πρέπει να χρησιμοποιούνται ως ένδειξη για την εγκυρότητα της διεξαγωγής της χρώσης.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΗΣ ΧΡΩΣΗΣ

Δείγματα ασθενούς και μάρτυρες: Οι χρωματισμένες αντικειμενοφόροι πλάκες πρέπει να αξιολογηθούν από ειδικό κυτταρολόγο ή παθολογοανατόμο χρησιμοποιώντας οπτικό μικροσκόπιο. Τα κύτταρα μπορούν να εξετασθούν χειροκίνητα ή να αποθηκευτούν σε μια βιβλιοθήκη ηλεκτρονικών εικόνων που προέρχονται από οπτικό μικροσκόπιο.

Αντικειμενοφόροι πλάκες μάρτυρες: Οι αντικειμενοφόροι πλάκες με τους θετικούς και αρνητικούς μάρτυρες πρέπει να εξετάζονται πριν από την εξέταση των δειγμάτων ασθενών για να εξασφαλισθεί ότι όλα τα αντιδραστήρια λειτουργούν ορθώς. Η παρουσία ενός προϊόντος αντίδρασης καφέ χρώματος (τετραυδροχλωρίδιο της 3,3'-διαμινοβενζιδίνης, DAB) στους πυρήνες των κυττάρων SiHa στην αντικειμενοφόρο μάρτυρα, με την εξέταση **SurePath με ProEx C** δείχνει θετική δραστηριότητα. Η αντικειμενοφόρος πλάκα με αρνητικό μάρτυρα IgG ποντικού γενικής χρήσεως που χρωματίστηκε με την εξέταση **SurePath με ProEx C** δεν πρέπει να παρουσιάζει καφέ πυρήνες και πρέπει να παρουσιάζει χρώση μόνον από την αντίχρωση αιματοξυλίνης.

Η βαθμολόγηση των αντικειμενοφόρων πλακών είναι μια διαδικασία 4 βημάτων.

Βήμα 1: Είναι το δείγμα ακριβές;

Το Bethesda System (TBS) for Reporting Cervical Cytology (2nd Ed.) αναφέρει, “Ένα επαρκές παρασκευάσμα υγρής βάσεως πρέπει να έχει ένα εκτιμώμενο αριθμό 5000 τουλάχιστον καλώς ορατών/διατηρημένων πλακωδών κυττάρων.” Τα ίδια κριτήρια πρέπει να ισχύουν και για τις αντικειμενοφόρους πλάκες **SurePath με ProEx C**. Ωστόσο, όπως και για τη συνήθη προετοιμασία Παπανικολάου, οποιοδήποτε δείγμα με μη φυσιολογικά κύτταρα, τα οποία παρουσιάζουν μια θετική μοριακή αντίδραση, είναι, εξ ορισμού, ικανοποιητικό προς αξιολόγηση. Αν η απάντηση στο βήμα αυτό είναι “ναι”, προχωρήστε στο επόμενο βήμα. Αν η απάντηση είναι “όχι”, το αποτέλεσμα είναι **Μη ικανοποιητικό για αξιολόγηση**.

Βήμα 2: Υπάρχει μέτρια έως ισχυρή πυρηνική καφέ χρώση στα επιθηλιακά κύτταρα;

Για να απαντήσετε “ναι” στο βήμα αυτό, ερευνήστε για καφέ χρώση που είναι εύκολα ορατή. Μία αχνή ή “ξεθωριασμένη” καφέ χρώση δεν είναι επαρκής για να εγγραφεί θετικό αποτέλεσμα. Αν δεν παρατηρείται καφέ πυρηνική χρώση, το αποτέλεσμα αναφέρεται ως **Αρνητικό**. Αν παρατηρείται επαρκής καφέ χρώση, προχωρήστε στο επόμενο βήμα.

Βήμα 3: Το κύτταρο με πυρηνική καφέ χρώση είναι πλακώδες ή αδενικό;

Αν η απάντηση είναι ναι, προχωρήστε στο επόμενο βήμα. Αν η απάντηση είναι όχι, πρόκειται για **Αρνητικό** αποτέλεσμα της εξέτασης.

Βήμα 4: Είναι το κύτταρο $\geq$ ASC (άτυπο πλακώδες κύτταρο) ή AGC (άτυπο αδενικό κύτταρο);

Χρησιμοποιήστε τα ίδια μορφολογικά κριτήρια που διαλαμβάνονται στο The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology (2nd Ed.) για να καθορίσετε αν το πλακώδες κύτταρο που περιέχει τον καφέ πυρήνα είναι $\geq$ ASC (άτυπα πλακώδη κύτταρα). Αν το κύτταρο θεωρηθεί $\geq$ ASC (ή $\geq$ AGC) τότε πρόκειται για **Θετικό** αποτέλεσμα της εξέτασης. Τούτο περιλαμβάνει ASC-US, ASC-H, LSIL, HSIL, και καρκίνο. Αν το κύτταρο είναι αδενικής μορφής, ισχύουν τα κριτήρια TBS προκειμένου να προσδιορισθεί αν ένα κύτταρο είναι $\geq$ AGC (άτυπο αδενικό κύτταρο). Τούτο περιλαμβάνει ενδοτραχηλικό AGC, ενδομητριο AGC, AIS, και αδενοκαρκίνωμα. Αν το υπό εξέταση κύτταρο είναι συνεπές με NILM (negative for intraepithelial lesion or malignancy - αρνητικό για ενδοεπιθηλιακή βλάβη ή κακοήθεια) πρόκειται για **Αρνητικό** αποτέλεσμα της εξέτασης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Wright TC, Schiffman M, Solomon D, Cox JT, Garcia F, Goldie S, Hatch K, Noller KL, Roach N, Runowicz C and Saslow D. Interim Guidance for the Use of Human Papillomavirus DNA Testing as an Adjunct to Cervical Cytology for Screening. Obstet. Gynecol. 2004. 102:304-309.
2. Ishimi Y, Okayasu I, Kato C, Kwon H, Kimura H, Yamada K and Song S. Enhanced expression of MCM proteins in cancer cells derived from uterine cervix. Eur. J. Biochem 2003. 270:1089-1101.
3. Lei M and Tye BK. Initiating DNA synthesis: from recruiting to activating the MCM Complex. J Cell Science 2001. Vol. 114 (8): 1447-1454.
4. Solomon D, Nayar R. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. Definitions, Criteria, and Explanatory Notes. 2nd Edition. 2004.

Τεχνική Εξυπηρέτηση και Υποστήριξη της BD Diagnostics: εκτός Ηνωμένων Πολιτειών, επικοινωνείτε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD ή τη διεύθυνση www.bd.com/ds.

	Catalog number / Каталоген номер / Katalogové číslo / Katalognummer / Αριθμός καταλόγου / Número de catálogo / Katalooginumber / Numéro catalogue / Kataloški broj / Katalógusszám / Numero di catalogo / Каталог номери / Katalogo numeris / Kataloga numurs / Catalogus nummer / Numer katalogowy / Număr de catalog / Номер по каталогу / Katalógové číslo / Kataloški broj / Katalog numarası / Номер за каталогом		Use by / Използвайте до / Spottebujte do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / Upotrijebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Дейін пайдалануға / Naudokite iki / Izljetot līdz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Исползовать до / Použite do / Upotrebiti do / Använd före / Son kullanma tarihi / Використати до ліне YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца) RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutning af måned) JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fin del mes) AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp) AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca) EEEE-HH-NN / EEEE-HH (HH = hónap utolsó napja) AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) ЖОЖОЖ-АА-КК / ЖОЖОЖ-АА (АА = айдың соңы) MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mēnesio pabaiga) GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = mēneša beigas) JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = sluten av måneden) RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul lunii) ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца) RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiac) GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca) AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutet av månaden) YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = аяғын соңу) PPPP-MM-ДД / PPPP-MM (ММ = кінець місяця)
	<i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device / Медицински уред за диагностика ин витро / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku <i>in vitro</i> / <i>In vitro</i> diagnostisk medicinsk anordning / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / <i>In vitro</i> διαγνωστική ιατρική συσκευή / Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i> / <i>In vitro</i> diagnostika meditsiniaparatuur / Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> / Medicinska pomagala za <i>In vitro</i> Diagnostiku / <i>In vitro</i> diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica <i>in vitro</i> / Жасанды жағдайда жүргізілетін медициналық диагностика аспабы / <i>In vitro</i> diagnostikos prietaisas / Medicinas ierīces, ko lieto <i>in vitro</i> diagnostikā / Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek / <i>In vitro</i> diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki <i>in vitro</i> / Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i> / Dispozitiv medical pentru diagnostic <i>in vitro</i> / Медицинский прибор для диагностики <i>in vitro</i> / Medicinska pomůcka na diagnostiku <i>in vitro</i> / Medicinski uređaj za <i>in vitro</i> dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik / In Vitro Diyagnostik Tibbi Cihaz / Медицинский пристрій для діагностики <i>in vitro</i>		
	Consult Instructions for Use / Направете справка в инструкции за употреба / Prostudujte pokyny k použití / Se brugsanvisningen / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Consultar las instrucciones de uso / Lugeda kasutusjuhendit / Consulter la notice d'emploi / Koristi upute za upotrebu / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Skatīt lietošanas pamācību / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consultar as instruções de utilização / Consultați instrucțiunile de utilizare / См. руководство по эксплуатации / Pozri Pokyny na používanie / Pogledajte uputstvo za upotrebu / Se bruksanvisningen / Kullanım Talimatları na başvurun / Див. інструкції з використання		
	Contains sufficient for <n> tests / Съдържа много е достатъчно за <n> теста / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις / Contenido suficiente para <n> pruebas / Küllaldane <n> testide jaoks / Contenu suffisant pour <n> tests / Sadržaj za <n> testova / <n> teszthez elegendő / Contenido sufficiente per <n> test / <n> testrepi үшін жеткінікті / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Satur pietiekami <n> pārbaudēm / Inhoud voldoende voor "n" testen / Innholder tilstrekkelig til <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Conteúdo suficiente para <n> testes / Conținut suficient pentru <n> teste / Достаточно для <n> тестов(a) / Obsah vystačí na <n> testov / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Innehåller tillräckligt för <n> analyser / <n> test için yeterli malzeme içerir / Вистачить для аналізів: <n>		
	Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperatuuri piirang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hőmérsékleti határ / Limiti di temperatura / Температураны шектеу / Laikymo temperatūra / Temperatūras ierobežojumi / Temperatuurilimiet / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limites de temperatura / Limite de temperatură / Ограничение температуры / Ohraničenje teploty / Ograničenje temperature / Temperaturgräns / Sicaklık sınırlaması / Обмеження температури		
	Batch Code (Lot) / Код на партидата / Kód (číslo) šarže / Batch-kode (lot) / Batch-Code (Charge) / Κωδικός παρτίδας (παρτίδα) / Código de lote (lote) / Partii kood / Numéro de lot / Lot (kod) / Tétel száma (Lot) / Codice batch (lotto) / Топтама коды / Partijos numeris (LOT) / Partijas kods (laidiens) / Lot nummer / Batch-kode (parti) / Kod partii (serie) / Código do lote / Cod de serie (Lot) / Код партии (лот) / Kód série (šarža) / Kod serije / Partinummer (Lot) / Part Kodu (Lot) / Код партії		
			Manufacturer / Производител / Vyrábce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Proizvođač / Gyártó / Fabbicante / Аткарушы / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirker / Producent / Producător / Производитель / Vyrabca / Proizvođač / Tillverkare / Üretici / Виробник



TriPath Imaging, Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

Australian Sponsor:

Becton Dickinson Pty Ltd.
4 Research Park Drive
Macquarie University Research Park
North Ryde, NSW 2113 Australia

Developed with technology from Millennium Pharmaceuticals, Inc.



MILLENNIUM and **MILLENNIUM** are trademarks of
Millennium Pharmaceuticals, Inc.

Millennium Pharmaceuticals, Inc.
40 Landsdowne Street
Cambridge, MA 02139 USA
www.millennium.com

Detection Reagents supplied by



BioCare Medical
4040 Pike Ln.
Concord, CA 94520

BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015