



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A.N. M. A.T

DISPOSICIÓN N° **7248**

BUENOS AIRES, **30 JUN 2017**

VISTO el expediente N° 1-47-3110-2176/16-4 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma BIOARS S.A. solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos del Producto para diagnóstico de uso "in vitro" denominado **ZytoDot Probe** / sondas de DNA para CISH, para tumores sólidos, que se detalla en el Anexo.

Que a fojas 247 consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

Que la Dirección Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia.

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establece la Ley N° 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 el por el Decreto N° 101 de fecha 16 de diciembre de 2015.

Por ello;



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A.N. M. A.T

DISPOSICIÓN Nº

7 2 4 8

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

D I S P O N E:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la venta a laboratorios de análisis clínicos del producto de diagnóstico para uso in Vitro denominado **ZytoDot Probe** / sondas de DNA para CISH, para tumores sólidos que se detalla en el Anexo junto con los envases y vida útil; el que será elaborado por ZytoVision GmbH, Fischkai 1, 27572 Bremerhaven (USA) e importado terminado por la firma BIOARS S.A. y que la composición se detalla a fojas 47 a 60 .

ARTICULO 2º.- Acéptense los proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones a fojas 96 a 245, desglosándose las fjs 100 a 111, 132 a 136, 147 a 162 y 195 a 200) debiendo constar en los mismos que la fecha de vencimiento es la declarada por el elaborador impreso en los rótulos de cada partida.

ARTÍCULO 3º.- Extiéndase el Certificado correspondiente.

ARTICULO 4º.- LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MEDICA se reserva el derecho de reexaminar los métodos de control, estabilidad y elaboración cuando las circunstancias así lo determinen.

ARTÍCULO 5º.- Regístrese, gírese a la Dirección de Gestión de información Técnica a sus efectos, por Mesa de Entradas de la Dirección Nacional de Productos Médicos notifíquese al interesado y hágasele entrega de la copia autenticada de la presente Disposición junto con la copia de los proyectos de



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A.N. M. A.T

DISPOSICIÓN N° **7 2 4 8**

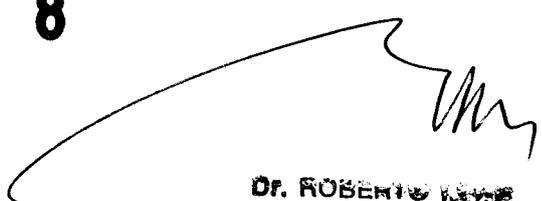
rótulos, manual de instrucciones y el certificado correspondiente. Cumplido,
archívese.-

EXPEDIENTE N° 1-47-3110-2176/16-4

DISPOSICIÓN N°:

Fd

7 2 4 8



Dr. ROBERTO URRUTIA
Subadministrador Nacional
A.N.M.A.T.



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A.N. M. A.T

ANEXO

Expediente N° 1-47-3110-2176/16-4

PRODUCTO: **ZytoDot Probe** / sondas de DNA para CISH, para tumores sólidos

NOMBRE DEL PRODUCTO	Volumen / determinaciones		Vida útil (meses)*
ZytoDot 2C SPEC 1p36/1q25 Probe	0,1 ml	0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC 19q13/19p13 Probe	0,1 ml	0,4 ml	36
ZytoDot SPEC MYCN Probe		0,4 ml	36
ZytoDot SPEC EGFR Probe		0,4 ml	36
ZytoDot SPEC EGFR/CEN 7 Probe	0,1 ml	0,4 ml	36
ZytoDot SPEC ERBB2 Probe	0,1 ml	0,4 ml	36
ZytoDot SPEC ERBB2 Probe Kit	10 det.	40 det.	18
ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe	0,1 ml	0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe Kit	10 det.	40 det.	12
ZytoDot 2C SPEC ERBB2/D17S122 Probe	0,1 ml		36
ZytoDot SPEC ESR1 Probe		0,4 ml	36
ZytoDot SPEC FGFR1 Probe		0,4 ml	36
ZytoDot SPEC 2C FGFR1/CEN 8 Probe		0,4 ml	36
ZytoDot SPEC 2C FGFR2/CEN 10 Probe		0,4 ml	36
ZytoDot SPEC TOP2A Probe		0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC TOP2A/CEN 17 Probe		0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC ALK Break Apart Probe	0,1 ml	0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC EML4 Break Apart Probe		0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC MET/CEN 7 Probe		0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC RET Break Apart Probe	0,1 ml	0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC ROS1 Break Apart Probe	0,1 ml	0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC TOP1/CEN 20 Probe		0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC ERG Break Apart Probe		0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC PTEN/CEN 10 Probe		0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC CDK4/CEN 12 Probe		0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC DDIT3 Break Apart Probe	0,1 ml		36



Ministerio de Salud
Secretaría de Políticas, Regulación
e Institutos
A.N. M. A.T

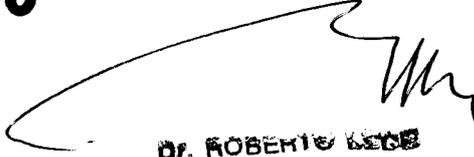
ZytoDot 2C SPEC EWSR1 Break Apart Probe	0,1 ml		36
ZytoDot 2C SPEC FOXO1 Break Apart Probe	0,1 ml		36
ZytoDot 2C SPEC FUS Break Apart Probe	0,1 ml		36
ZytoDot SPEC MDM2 Probe		0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC MDM2/CEN 12 Probe	0,1 ml	0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC SS18 Break Apart Probe	0,1 ml		36

*** desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 8°C.**

DISPOSICIÓN N°:

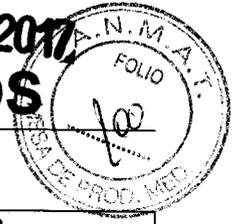
fd

7 2 4 8


Dr. ROBERTO LEISE
Subadministrador Nacional
A.N.M.A.T.

7248 TRIPLICADO

30 JUN 2017



PROYECTO DE ROTULOS EXTERNOS

Nombre del producto:

ZytoDot Probes (Sondas ZytoDot) – Familia: TUMORES SÓLIDOS

La forma de presentación de las sondas son frascos rotulados que vienen dentro de una bolsa plástica transparente que permite ver el rótulo interno. En dicha bolsa viene el manual de instrucciones. Por lo tanto, las sondas no tienen rótulos externos, solamente presenta el que viene colocado en los viales.

ZytoDot SPEC ERBB2 Probe Kit

10 determinaciones

ZytoDot SPEC ERBB2 Probe Kit



LOT

PT2	Heat Pretreatment Solution EDTA	150 ml	S14-OC1
ES1	Pepsin Solution	1 ml	S02-NL1
PD1	ZytoDot SPEC ERBB2 Probe	0.1 ml	P055-NJ1
WB1	Wash Buffer SSC	150 ml	S15-OC1
WB4	PBS/Tween	1x	F003-OA1
BS1	Blocking Solution	1 ml	S16-NI1
AB1	Mouse-anti-DIG	1 ml	S17-NL1
AB2	Anti-Mouse-HRP-Polymer	1 ml	S18-NI1
SB1a	DAB Solution A	0.1 ml	S19-NI1
SB1b	DAB Solution B	2 ml	S20-NI1
CS1	Mayer's Hematoxylin Solution	4 ml	S21-NJ1
MT4	Mounting Solution (alcoholic)	1 ml	S22-OC1
SC2	ERBB2 Control Slide	1x	F002-OD1



IVD

REF C-3003-10

LOT N29-92207091 1

2016-07



40 determinaciones

ZytoDot SPEC ERBB2 Probe Kit



LOT

PT2	Heat Pretreatment Solution EDTA	500 ml	S14-OH2
ES1	Pepsin Solution	4 ml	S02-OI3
PD1	ZytoDot SPEC ERBB2 Probe	0.4 ml	P055-NJ1
WB1	Wash Buffer SSC	500 ml	S15-OJ1
WB4	PBS/Tween	2x	F003-OF1
BS1	Blocking Solution	4 ml	S16-OF1
AB1	Mouse-anti-DIG	4 ml	S17-OC1
AB2	Anti-Mouse-HRP-Polymer	4 ml	S18-OH1
SB1a	DAB Solution A	0.3 ml	S19-OI1
SB1b	DAB Solution B	10 ml	S20-OI1
CS1	Mayer's Hematoxylin Solution	20 ml	S21-OD1
MT4	Mounting Solution (alcoholic)	4 ml	S22-OI1
SC2	ERBB2 Control Slide	2x	F002-OJ1



IVD

REF C-3003-40

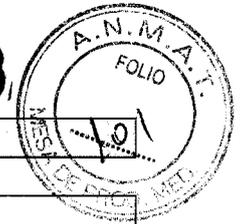
LOT N29-92207815 1

2017-01



Claudia F. Echavez
 BIOARK S.A.
 BIOD. CLAUDIA ETCHEVEZ
 DIRECTOR TECNICO

7248



ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe Kit

10 determinaciones

ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe Kit

10

LOT

PT2	Heat Pretreatment Solution EDTA	150 ml	S14-OH1
ES1	Pepsin Solution	1 ml	S02-OF2
PD12	ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe	0.1 ml	P078-OG1
WB1	Wash Buffer SSC	150 ml	S15-OG1
WB5	20x Wash Buffer TBS	50 ml	S01-OI1
AB14	Anti-DIG/DNP-Mix	1 ml	S59-OF1
AB13	HRP/AP-Polymer-Mix	1 ml	S54-OA1
SB6a	AP-Red Solution A	0.1 ml	S55-OF1
SB6b	AP-Red Solution B	4 ml	S56-OF1
SB7a	HRP-Green Solution A	0.2 ml	S57-OF1
SB7b	HRP-Green Solution B	4 ml	S58-OF1
CS2	Nuclear Blue Solution	4 ml	S41-OD1
MT4	Mounting Solution (alcoholic)	1 ml	S22-OG1
SC2	ERBB2 Control Slide	1x	F002-OJ1

CE

IVD

REF C-3022-10

LOT N46-92207830 2

2017-01

8°C

40 determinaciones

ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe Kit

40

LOT

PT2	Heat Pretreatment Solution EDTA	500 ml	S14-OH2
ES1	Pepsin Solution	4 ml	S02-OI3
PD12	ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe	0.4 ml	P078-OC1
WB1	Wash Buffer SSC	500 ml	S15-OJ1
WB5	20x Wash Buffer TBS	2x 50 ml	S01-OI1
AB14	Anti-DIG/DNP-Mix	4 ml	S59-OH1
AB13	HRP/AP-Polymer-Mix	4 ml	S54-OG1
SB6a	AP-Red Solution A	0.4 ml	S55-OJ1
SB6b	AP-Red Solution B	15 ml	S56-OJ1
SB7a	HRP-Green Solution A	0.8 ml	S57-OH2
SB7b	HRP-Green Solution B	15 ml	S58-OH2
CS2	Nuclear Blue Solution	20 ml	S41-OI1
MT4	Mounting Solution (alcoholic)	4 ml	S22-OI1
SC2	ERBB2 Control Slide	2x	F002-OJ1

CE

IVD

REF C-3022-40

LOT N46-92207843 2

2017-03

8°C

Establecimiento elaborador: ZytoVision GmbH, Fischkai 1, 27572 Bremerhaven (Alemania).
 Establecimiento Importador: BIOARS S.A. – Estomba 961/965 – Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
 Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica- Matrícula Nacional N° 7028
 Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. N° Certificado:

PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS

Nombre del producto:

ZytoDot Probes (Sondas ZytoDot)- Familia: TUMORES SÓLIDOS

XXX	ZYTOVISION		Refer: Danger Danger Pericol Perigo Danger	
 IVD		ZytoDot XXXXX		
		(XXXX) X ml		
	REF XXX LOT XXX	2°C - 8°C		XXX

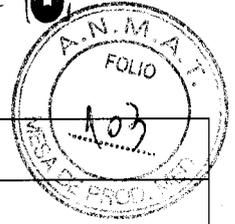
El nombre del producto (XXXXX), Volumen (X ml), cambia para cada producto, se anexa el listado con los nombres y volúmenes de los mismos.

ZytoDot SPEC ERBB2 Probe Kit

10 determinaciones	
Heat Pretreatment Solution EDTA (Solución EDTA de pretratamiento calor)	Wash Buffer SSC (Tampón de lavado SSC)
PT2 IVD ZYTOVISION Heat Pretreatment Solution EDTA 	WB1 IVD ZYTOVISION Wash Buffer SSC
 150 ml	 150 ml
 REF PT-0002-150 LOT S14-OK1 2°C - 8°C 2017-11	 REF WB-0001-150 LOT S15-OK1 2°C - 8°C 2017-11

[Handwritten Signature]
 GUARD S.A.
 3100 CLAUDIA FETCHEVES
 DIRECTOR TÉCNICO

7248



Caja Interna

ZytoDot SPEC ERBB2 Probe Kit



ES1	Pepsin Solution	1 ml
PD1	ZytoDot SPEC ERBB2 Probe	0.1 ml
WB4	PBS/Tween	1x
BS1	Blocking Solution	1 ml
AB1	Mouse-anti-DIG	1 ml
AB2	Anti-Mouse-HRP-Polymer	1 ml
SB1a	DAB Solution A	0.1 ml
SB1b	DAB Solution B	2 ml
CS1	Mayer's Hematoxylin Solution	4 ml
MT4	Mounting Solution (alcoholic)	1 ml
SC2	ERBB2 Control Slide	1x



REF C-3003-10

LOT N29- 92206878 1

2016-03



Pepsin Solution (Pepsina)

ZytoDot SPEC ERBB2 Probe (sonda)

ES1

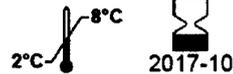


Pepsin Solution



1 ml

REF ES-0001-1
LOT S02-OK1



PD1



ZytoDot SPEC ERBB2 Probe



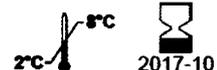
Gefahr
Danger
Pericolo
Perigo
Peligro



(digoxigenin)
0.1 ml



REF C-3001-100
LOT P055-NJ1



PBS/Tween

Blocking Solution (Solución Bloqueante)

WB4

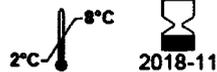


PBS/Tween



good for 1 l

REF WB-0004-1000
LOT F003-OK1



Achtung
Warning
Attention
Attenzione
Atenção



BS1



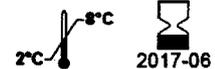
Blocking Solution



1 ml



REF BS-0001-1
LOT S16-OF1



Achtung
Warning
Attention
Attenzione
Atenção



Mouse-Anti-DIG (anti-DIG ratón)

Anti-Mouse-HRP-Polymer (Polímero anti ratón-HRP)

AB1

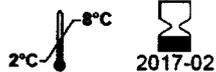


Mouse-anti-DIG



1 ml

REF AB-0001-1
LOT S17-OC1



Achtung
Warning
Attention
Attenzione
Atenção



AB2



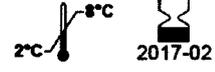
Anti-Mouse-HRP-Polymer



1 ml



REF AB-0002-1
LOT S18-OC1



Achtung
Warning
Attention
Attenzione
Atenção



724
 A.N.M.A.T.
 SOLID
 8
 104

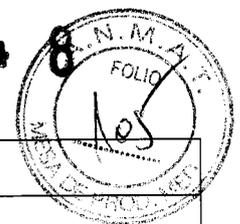
<p>DAB Solution A (Solución A DAB)</p> <p>SB1a ZYTOVISION DAB Solution A 0.1 ml REF SB-0001a-0.1 LOT S19-O11</p> <p>2°C 8°C 2017-08</p> <p>Gefahr Danger Pericolo Peligro</p>	<p>DAB Solution B (Solución B DAB)</p> <p>SB1b ZYTOVISION DAB Solution B 2 ml REF SB-0001b-2 LOT S20-O11</p> <p>2°C 8°C 2017-08</p> <p>Achtung Warning Attention Atención</p>
<p>Mayer's Hematoxylin Solution (Solución Hematoxilina de Mayer)</p> <p>CS1 ZYTOVISION Mayer's Hematoxylin Solution 4 ml REF CS-0001-4 LOT S21-OH1</p> <p>2°C 8°C 2017-07</p>	<p>Mounting Solution (alcoholic) (Solución de montaje)</p> <p>MT4 ZYTOVISION Mounting Solution (alcoholic) 1 ml REF MT-0004-1 LOT S22-OJ1</p> <p>2°C 8°C 2017-10</p> <p>Achtung Warning Attention Atención</p>
<p>ERBB2 Control Slide (Portaobjeto de control)</p> <p>SC2 ZYTOVISION ERBB2 Control Slide 1x REF SC-002-1 LOT F002-OJ2</p> <p>2°C 8°C 2017-10</p>	

<p>40 determinaciones</p>	
<p>Heat Pretreatment Solution EDTA (Solución EDTA de pretratamiento calor)</p> <p>PT2 ZYTOVISION Heat Pretreatment Solution EDTA 500 ml REF PT-0002-500 LOT S14-OK1</p> <p>2°C 8°C 2017-11</p> <p>Achtung Warning Attention Atención</p>	<p>Wash Buffer SSC (Buffer de lavado SSC)</p> <p>WB1 ZYTOVISION Wash Buffer SSC 500 ml REF WB-0001-500 LOT S15-OJ1</p> <p>2°C 8°C 2017-09</p> <p>Achtung Warning Attention Atención</p>

ZytoDot; Producto ZytoVision. Familia Tumores Sólidos.

[Handwritten Signature]
 BIURKO S.A.
 B100. CLAUDIA ETCHEVEZ
 DIRECTOR TÉCNICO

7248



Caja Interna

ZytoDot SPEC ERBB2 Probe Kit

Σ₄₀

ES1	Pepsin Solution	4 ml	
PD1	ZytoDot SPEC ERBB2 Probe	0.4 ml	
WB4	PBS/Tween	2x	
BS1	Blocking Solution	4 ml	
AB1	Mouse-anti-DIG	4 ml	
AB2	Anti-Mouse-HRP-Polymer	4 ml	
SB1a	DAB Solution A	0.3 ml	
SB1b	DAB Solution B	10 ml	
CS1	Mayer's Hematoxylin Solution	20 ml	
MT4	Mounting Solution (alcoholic)	4 ml	
SC2	ERBB2 Control Slide	2x	



REF C-3003-40

LOT N29- 92207751 1

2017-01



Pepsin Solution (Pepsina)

ZytoDot SPEC ERBB2 Probe (Sonda)

ES1



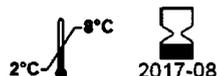
Pepsin Solution



4 ml



REF ES-0001-4
LOT S02-OJ1



PD1



ZytoDot SPEC ERBB2 Probe

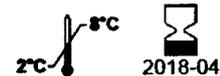


(digoxigenin)

0.4 ml



REF C-3001-400
LOT P055-OD1



Gefahr
Danger
Pericolo
Perigo
Peligro



PBS/Tween (2 rótulos)

Blocking Solution (Solución Bloqueante)

WB4



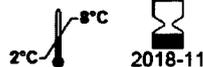
PBS/Tween



good for 1 l



REF WB-0004-1000
LOT F003-OK1



Achtung
Warning
Attention
Attenzione
Atención



BS1



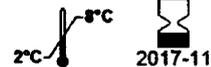
Blocking Solution



4 ml



REF BS-0001-4
LOT S16-OK1



Achtung
Warning
Attention
Attenzione
Atención



Mouse-Anti-DIG (anti-DIG ratón)

Anti-Mouse-HRP-Polymer (Polímero anti ratón-HRP)

AB1



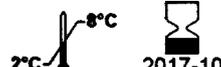
Mouse-anti-DIG



4 ml



REF AB-0001-4
LOT S17-OK1



Achtung
Warning
Attention
Attenzione
Atención



AB2



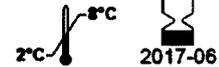
Anti-Mouse-HRP-Polymer



4 ml



REF AB-0002-4
LOT S18-OH1

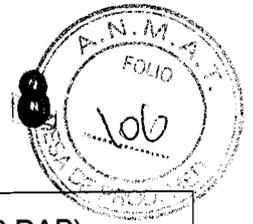


Achtung
Warning
Attention
Attenzione
Atención



[Signature]
BIOARIS S.A.
BIOCLAUPIA ETCHEVEZ
DIRECTOR TÉCNICO

724



DAB Solution A (Solución A DAB)		DAB Solution B (Solución B DAB)	
<p>SB1a</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>CE IVD DAB Solution A 0.3 ml</p> <p>REF SB-0001a-0.3 LOT S19-O11</p> <p> 2017-08</p> <p></p>	<p>SB1b</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>CE IVD DAB Solution B</p> <p>Achtung Warning Attention Attenzione Atencão </p> <p>10 ml</p> <p>REF SB-0001b-10 LOT S20-O11</p> <p> 2017-08</p>		
Mayer's Hematoxylin Solution (Solución Hematoxilina de Mayer)		Mounting Solution (alcoholic) (Solución de montaje)	
<p>CS1</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>CE IVD Mayer's Hematoxylin Solution</p> <p>20 ml</p> <p>REF CS-0001-20 LOT S21-OJ1</p> <p> 2017-07</p>	<p>MT4</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>CE IVD Mounting Solution (alcoholic)</p> <p>Achtung Warning Attention Attenzione Atencão </p> <p>4 ml</p> <p>REF MT-0004-4 LOT S22-OK1</p> <p> 2017-11</p>		
ERBB2 Control Slide (Portajeto de control)			
<p>SC2</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>CE IVD ERBB2 Control Slide 2x</p> <p>REF SC-002-1 LOT F002-PB1</p> <p> 2018-02</p>			

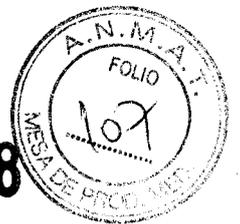
ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe Kit

10 determinaciones			
Heat Pretreatment Solution EDTA (Solución EDTA de pretratamiento calor)		Wash Buffer SSC (Buffer de lavado SCC)	
<p>PT2</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>CE IVD Heat Pretreatment Solution EDTA</p> <p>Achtung Warning Attention Attenzione Atencão </p> <p>150 ml</p> <p>REF PT-0002-150 LOT S14-OK1</p> <p> 2017-11</p>	<p>WB1</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>CE IVD Wash Buffer SSC</p> <p>Achtung Warning Attention Attenzione Atencão </p> <p>150 ml</p> <p>REF WB-0001-150 LOT S15-OK1</p> <p> 2017-11</p>		

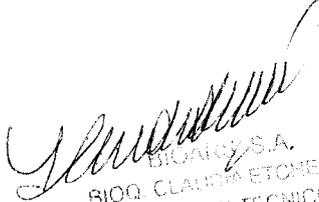
ZytoDot; Producto ZytoVision. Familia Tumores Sólidos.

[Signature]
BIOG. CLAUDIA FLOREVE
DIRECTOR TÉCNICO

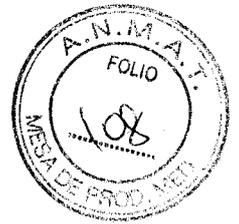
7.24.8



Caja Interna																																					
ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe Kit																																					
Σ 10																																					
<table border="0"> <tr><td>ES1</td><td>Pepsin Solution</td><td>1 ml</td></tr> <tr><td>PD12</td><td>ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Pro</td><td>0.1 ml</td></tr> <tr><td>WB5</td><td>20x Wash Buffer TBS</td><td>50 ml</td></tr> <tr><td>AB14</td><td>Anti-DIG/DNP-Mix</td><td>1 ml</td></tr> <tr><td>AB13</td><td>HRP/AP-Polymer-Mix</td><td>1 ml</td></tr> <tr><td>SB6a</td><td>AP-Red Solution A</td><td>0.1 ml</td></tr> <tr><td>SB6b</td><td>AP-Red Solution B</td><td>4 ml</td></tr> <tr><td>SB7a</td><td>HRP-Green Solution A</td><td>0.2 ml</td></tr> <tr><td>SB7b</td><td>HRP-Green Solution B</td><td>4 ml</td></tr> <tr><td>CS2</td><td>Nuclear Blue Solution</td><td>4 ml</td></tr> <tr><td>MT4</td><td>Mounting Solution (alcoholic)</td><td>1 ml</td></tr> <tr><td>SC2</td><td>ERBB2 Control Slide</td><td>1x</td></tr> </table>	ES1	Pepsin Solution	1 ml	PD12	ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Pro	0.1 ml	WB5	20x Wash Buffer TBS	50 ml	AB14	Anti-DIG/DNP-Mix	1 ml	AB13	HRP/AP-Polymer-Mix	1 ml	SB6a	AP-Red Solution A	0.1 ml	SB6b	AP-Red Solution B	4 ml	SB7a	HRP-Green Solution A	0.2 ml	SB7b	HRP-Green Solution B	4 ml	CS2	Nuclear Blue Solution	4 ml	MT4	Mounting Solution (alcoholic)	1 ml	SC2	ERBB2 Control Slide	1x	 
ES1	Pepsin Solution	1 ml																																			
PD12	ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Pro	0.1 ml																																			
WB5	20x Wash Buffer TBS	50 ml																																			
AB14	Anti-DIG/DNP-Mix	1 ml																																			
AB13	HRP/AP-Polymer-Mix	1 ml																																			
SB6a	AP-Red Solution A	0.1 ml																																			
SB6b	AP-Red Solution B	4 ml																																			
SB7a	HRP-Green Solution A	0.2 ml																																			
SB7b	HRP-Green Solution B	4 ml																																			
CS2	Nuclear Blue Solution	4 ml																																			
MT4	Mounting Solution (alcoholic)	1 ml																																			
SC2	ERBB2 Control Slide	1x																																			
	 2017-01																																				
REF C-3022-10	LOT N46-92207721 2																																				
2°C 8°C																																					
Pepsin Solution (Pepsina)	ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe (Sonda)																																				
ES1  Pepsin Solution   1 ml  REF ES-0001-1 LOT S02-OK1  2017-10	PD12  ZytoDot 2C SPEC ERBB2/ CEN 17 Probe   (DIG/DNP) 0.1 ml  REF C-3032-100 LOT P078-OG1  2018-07																																				
20x Wash Buffer TBS (Buffer de lavado TBS)	Anti-DIG/DNP-Mix																																				
WB5  20x Wash Buffer TBS   50 ml  REF WB-0005-50 LOT S01-011  2018-09	AB14  Anti-DIG/DNP-Mix   1 ml  REF AB-0014-1 LOT S59-PB1  2018-01																																				
HRP/AP-Polymer-Mix (Mezcla de polímero HRP/AP)	AP-Red Solution A (Solución A AP-Red)																																				


 BIOARCO S.A.
 RÍOQ. CLAUDIA ETCHEVEZ
 DIRECTOR TÉCNICO

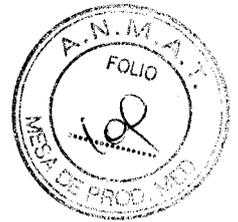
7248



<p>AB13</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>HRP/AP-Polymer-Mix</p> <p>Achtung Warning Attention Attenzione Atenção</p> <p>1 ml</p> <p>REF AB-0013-1 LOT S54-PA1</p> <p>2°C 2018-01</p>	<p>SB6a</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>AP-Red Solution A</p> <p>0.1 ml</p> <p>REF SB-0006a-0.1 LOT S55-PB1</p> <p>2°C 2017-12</p>
<p>AP-Red Solution B (Solución B AP-Red)</p>	
<p>SB6b</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>AP-Red Solution B</p> <p>4 ml</p> <p>REF SB-0006b-4 LOT S56-PB1</p> <p>2°C 2017-12</p>	<p>SB7a</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>HRP-Green Solution A</p> <p>0.2 ml</p> <p>REF SB-0007a-0.2 LOT S57-PB1</p> <p>2°C 2018-01</p> <p>Gefahr Danger Danger Pericolo Peligro</p>
<p>HRP- Green Solution B (Solución B HRP-verde)</p>	
<p>SB7b</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>HRP-Green Solution B</p> <p>Achtung Warning Attention Attenzione Atenção</p> <p>4 ml</p> <p>REF SB-0007b-4 LOT S58-PB1</p> <p>2°C 2018-01</p>	<p>CS2</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>Nuclear Blue Solution</p> <p>4 ml</p> <p>REF CS-0002-4 LOT S41-PB1</p> <p>2°C 2018-01</p>
<p>Mounting Solution (alcoholic) (Solución de montaje)</p>	
<p>MT4</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>Mounting Solution (alcoholic)</p> <p>Achtung Warning Attention Attenzione Atenção</p> <p>1 ml</p> <p>REF MT-0004-1 LOT S22-OJ1</p> <p>2°C 2017-10</p>	<p>SC2</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>ERBB2 Control Slide</p> <p>1x</p> <p>REF SC-002-1 LOT F002-OJ2</p> <p>2°C 2017-10</p>

[Handwritten Signature]
 BIOARS S.A.
 BIOG. CLAUDIA ETCHEVEZ
 DIRECTOR TECNICO

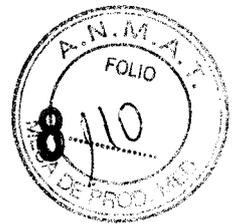
7248



40 determinaciones																																																	
Heat Pretreatment Solution EDTA (Solución EDTA de pretratamiento calor)	Wash Buffer SSC (Buffer de lavado SSC)																																																
<p>PT2</p> <p>CE IVD</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>Heat Pretreatment Solution EDTA</p> <p>Achtung Warning Attention Atención Atención</p> <p></p> <p></p> <p>500 ml</p> <p></p> <p></p> <p>REF PT-0002-500 LOT S14-OK1</p>	<p>WB1</p> <p>CE IVD</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>Wash Buffer SSC</p> <p>Achtung Warning Attention Atención Atención</p> <p></p> <p></p> <p>500 ml</p> <p></p> <p></p> <p>REF WB-0001-500 LOT S15-OJ1</p>																																																
Caja Interna																																																	
<p>ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe Kit</p> <p style="text-align: right;"></p> <table border="0"> <tr> <td>ES1</td> <td>Pepsin Solution</td> <td>4 ml</td> <td></td> </tr> <tr> <td>PD12</td> <td>ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe</td> <td>0.4 ml</td> <td></td> </tr> <tr> <td>WB5</td> <td>20x Wash Buffer TBS</td> <td>2x 50 ml</td> <td></td> </tr> <tr> <td>AB14</td> <td>Anti-DIG/DNP-Mix</td> <td>4 ml</td> <td></td> </tr> <tr> <td>AB13</td> <td>HRP/AP-Polymer-Mix</td> <td>4 ml</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SB6a</td> <td>AP-Red Solution A</td> <td>0.4 ml</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SB6b</td> <td>AP-Red Solution B</td> <td>15 ml</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SB7a</td> <td>HRP-Green Solution A</td> <td>0.8 ml</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SB7b</td> <td>HRP-Green Solution B</td> <td>15 ml</td> <td></td> </tr> <tr> <td>CS2</td> <td>Nuclear Blue Solution</td> <td>20 ml</td> <td></td> </tr> <tr> <td>MT4</td> <td>Mounting Solution (alcoholic)</td> <td>4 ml</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SC2</td> <td>ERBB2 Control Slide</td> <td>2x</td> <td></td> </tr> </table> <p>CE IVD</p> <p>REF C-3022-40 LOT N46- 92207818 1 </p> <p style="text-align: right;"></p>		ES1	Pepsin Solution	4 ml		PD12	ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe	0.4 ml		WB5	20x Wash Buffer TBS	2x 50 ml		AB14	Anti-DIG/DNP-Mix	4 ml		AB13	HRP/AP-Polymer-Mix	4 ml		SB6a	AP-Red Solution A	0.4 ml		SB6b	AP-Red Solution B	15 ml		SB7a	HRP-Green Solution A	0.8 ml		SB7b	HRP-Green Solution B	15 ml		CS2	Nuclear Blue Solution	20 ml		MT4	Mounting Solution (alcoholic)	4 ml		SC2	ERBB2 Control Slide	2x	
ES1	Pepsin Solution	4 ml																																															
PD12	ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe	0.4 ml																																															
WB5	20x Wash Buffer TBS	2x 50 ml																																															
AB14	Anti-DIG/DNP-Mix	4 ml																																															
AB13	HRP/AP-Polymer-Mix	4 ml																																															
SB6a	AP-Red Solution A	0.4 ml																																															
SB6b	AP-Red Solution B	15 ml																																															
SB7a	HRP-Green Solution A	0.8 ml																																															
SB7b	HRP-Green Solution B	15 ml																																															
CS2	Nuclear Blue Solution	20 ml																																															
MT4	Mounting Solution (alcoholic)	4 ml																																															
SC2	ERBB2 Control Slide	2x																																															
Pepsin Solution (Pepsina)	ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe (Sonda)																																																
<p>ES1</p> <p>CE IVD</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>Pepsin Solution</p> <p></p> <p>4 ml</p> <p></p> <p></p> <p>REF ES-0001-4 LOT S02-OJ1</p>	<p>PD12</p> <p>CE IVD</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>ZytoDot 2C SPEC ERBB2/ CEN 17 Probe</p> <p></p> <p>(DIG/DNP)</p> <p>0.4 ml</p> <p></p> <p></p> <p>REF C-3032-400 LOT P078-OF1</p> <p style="text-align: right;">Gefahr Danger Danger Peligro Peligro</p> <p></p>																																																
20x Wash Buffer TBS (2 rótulos) (Buffer de lavado TBS)	Anti-DIG/DNP-Mix																																																

[Handwritten Signature]
 BIOMARKERS S.A.
 BIOMARKERS S.A.
 DIRECTOR TÉCNICO

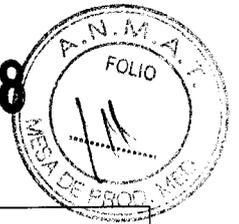
7248



<p>WB5</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>20x Wash Buffer TBS</p> <p>Achtung Warning Attenzione Atenção Atención</p> <p>CE IVD</p> <p>50 ml</p> <p>REF WB-0005-50 LOT S01-O11</p> <p>2°C 2018-09</p>	<p>AB14</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>Anti-DIG/DNP-Mix</p> <p>Achtung Warning Attenzione Atenção Atención</p> <p>CE IVD</p> <p>4 ml</p> <p>REF AB-0014-4 LOT S59-OH1</p> <p>2°C 2017-08</p>
<p>HRP/AP-Polymer-Mix (Mezcla de polímero HRP/AP)</p>	
<p>AB13</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>HRP/AP-Polymer-Mix</p> <p>Achtung Warning Attenzione Atenção Atención</p> <p>CE IVD</p> <p>4 ml</p> <p>REF AB-0013-4 LOT S54-O11</p> <p>2°C 2017-09</p>	<p>SB6a</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>AP-Red Solution A</p> <p>0.4 ml</p> <p>REF SB-0006a-0.4 LOT S55-OK1</p> <p>2°C 2017-11</p>
<p>AP-Red Solution B (Solución B AP-rojo)</p>	
<p>SB6b</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>AP-Red Solution B</p> <p>CE IVD</p> <p>15 ml</p> <p>REF SB-0006b-15 LOT S56-OK1</p> <p>2°C 2017-11</p>	<p>SB7a</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>HRP-Green Solution A</p> <p>0.8 ml</p> <p>REF SB-0007a-0.8 LOT S57-OJ3</p> <p>2°C 2017-08</p> <p>Gefahr Danger Pericolo Peligro</p>
<p>HRP- Green Solution B (Solución B HRP-verde)</p>	
<p>SB7b</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>HRP-Green Solution B</p> <p>Achtung Warning Attenzione Atenção Atención</p> <p>CE IVD</p> <p>15 ml</p> <p>REF SB-0007b-15 LOT S58-OJ3</p> <p>2°C 2017-08</p>	<p>CS2</p> <p>ZYTOVISION</p> <p>Nuclear Blue Solution</p> <p>CE IVD</p> <p>20 ml</p> <p>REF CS-0002-20 LOT S41-OL1</p> <p>2°C 2017-10</p>
<p>Mounting Solution (alcoholic) (Solución de montaje)</p> <p>ERBB2 Control Slide (Portaobjeto de control)</p>	

Claudia Etcheberry
 BIOD. CLAUDIA ETCHEBERRY
 DIRECTOR TÉCNICO

7248



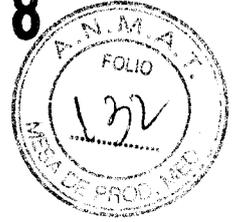
<p>MT4</p> <p>ZYTOVISION Mounting Solution (alcoholic)</p> <p>Achtung Warning Attention Attenzione Atenção</p> <p>CE IVD</p> <p>4 ml</p> <p>REF MT-0004-4 LOT S22-OK1</p> <p>2°C - 8°C</p> <p>2017-11</p>	<p>SC2</p> <p>ZYTOVISION ERBB2 Control Slide 2x</p> <p>CE IVD</p> <p>REF SC-002-1 LOT F002-PB1</p> <p>2°C - 8°C</p> <p>2018-02</p>
---	--

Establecimiento elaborador: ZytoVision GmbH, Fischkai 1, 27572 Bremerhaven (Alemania).
Establecimiento Importador: BIOARS S.A. – Estomba 961/965 – Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica- Matrícula Nacional N° 7028
Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. N° Certificado:

Claudia E. Etchevés
BIOARS S.A.
BIO CLAUDIA ETCHÉVÉS
DIRECTOR TÉCNICO

ORIGINAL

ZYTOVISION
7 2 4 8



ZytoDot
SPEC ERBB2 Probe
(Sonda SPEC ERBB2)

REF C-3001-400  40 (0.4 ml)

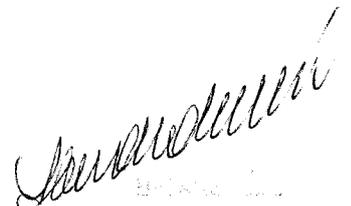
REF C-3001-100  10 (0.1 ml)

Para la detección del gen humano ERBB2
mediante hibridación *in situ* cromogénica (CISH)

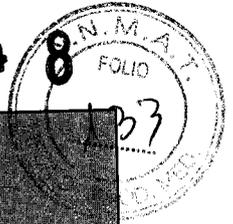
CE

IVD

Para uso diagnóstico *in-Vitro*
según reglamento UE 98/79/CE


BIOO. CLAUDIA FERRER
DIRECTOR TÉCNICO

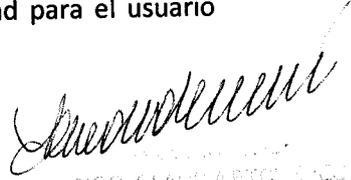
724



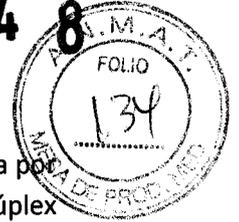
Sonda polinucleótida marcada con digoxigenina para la detección del gen humano ERBB2 mediante CISH, listo para usar

Descripción del producto

- Contenido:** ZytoDot SPEC ERBB2 Probe (PD1) en solución tampón de hibridación. Esta sonda consta de polinucleótidos marcados con digoxigenina, quienes permiten la detección de secuencias del gen ERBB2.
- Producto:** C-3001-400: 0.4 ml (40 reacciones de 10 µl cada uno)
C-3001-100: 0.1 ml (10 reacciones de 10 µl cada uno)
- Especificidad:** La sonda ZytoDot SPEC ERBB2 Probe (PD1) está diseñada para detectar el gen humano ERBB2 en muestras de células o tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina mediante hibridación *in situ* cromogénica (CISH).
- Almacenamiento /Estabilidad:** La sonda ZytoDot SPEC ERBB2 Probe (PD1) debe ser almacenada a 2...8°C y es estable hasta la fecha de caducidad que aparece en la etiqueta.
- Uso:** Este producto está diseñado para el uso diagnóstico *in vitro* (según reglamento UE 98/79/CE). Un patólogo calificado debe interpretar los resultados en el contexto del historial clínico considerándose los datos clínicos y patológicos del paciente
- Precauciones de seguridad:** Lea las instrucciones antes de usar este kit
- No use los reactivos después de su fecha de caducidad
- Este producto contiene sustancias dañinas para la salud en concentración y volumen reducidos. Evite cualquier contacto directo con los reactivos. Tome las precauciones necesarias (utilice guantes desechables, gafas protectoras y batas de laboratorio)
- En caso de contacto con el reactivo, hay que enjuagar con abundante agua el sitio en cuestión
- Puede solicitarse la hoja de datos de seguridad para el usuario profesional


BIOQ. CLAYTON S. C. C.
DIRECTOR TÉCNICO

G



Principios del método

La presencia de ciertas secuencias de ácidos nucleicos en células o tejidos puede ser detectada por hibridación *in situ* usando sondas de ADN marcadas. La hibridación da lugar a la formación dúplex entre ciertas secuencias existentes en el objeto de estudio y la sonda ADN correspondiente.

La formación dúplex por la sonda marcada con digoxigenina (con secuencias de ERBB2 en el objeto de estudio) puede detectarse usando un anticuerpo primario anti-digoxigenina (no marcado), el cual se detecta usando un anticuerpo secundario, conjugado con una enzima y polimerizado. La reacción enzimática de un sustrato cromogénico conduce a la formación de un precipitado coloreado que puede ser visualizada con un microscopio óptico a 40x (objetivo seco).

Instrucciones

El pretratamiento (desparafinado, proteólisis, post-fijación) debe ser llevado a cabo según las necesidades del usuario.

Desnaturalización e hibridación de la sonda:

1. Agitar la sonda ZytoDot SPEC ERBB2 Probe (PD1) con vórtex y pipetear 10 µl de la sonda al material de análisis.

Distribuir la sonda gota a gota en el área deseada y evitar una concentración elevada de la sonda en cualquier parte del material. De forma alternativa, puede colocarse la sonda en el centro del cubreobjetos y el transferir boca abajo sobre la sección deseada. El proceso de pipeteado de la sonda puede facilitarse al calentar ésta y utilizar una punta recortada de pipeta.

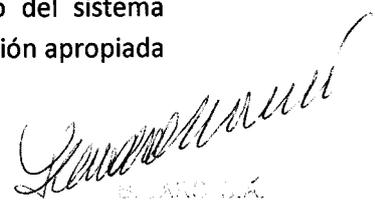
2. Cubra, libre de burbujas, la muestra con un cubreobjeto (22 mm x 22 mm) y selle la sección (por ejemplo, sellando los bordes del vidrio cubreobjeto con una capa de pegamento caliente, sirviéndose de una pistola de pegar, o séllelo con "Rubber Cement").

3. Desnaturalizar el portaobjeto a 94-95°C durante 5 min, por ejemplo en una placa calefactora.

4. Llevar el portaobjeto a una cámara húmeda e hibridarlos durante la noche incubándolos a 37°C (p. ej en un horno de hibridación)

Es fundamental que las secciones de los tejidos/las células no se sequen durante la etapa de la hibridación.

Además, procesos como los lavados, detección y la contratinción pueden ser completados según las necesidades del usuario. Para un mejor rendimiento, recomendamos el uso del sistema ZytoDot CISH de ZytoVision. Estos sistemas fueron usados también para la confirmación apropiada de las sondas ZytoDot SPEC ERBB2 Probe (PD1).


CLAUDIA ETCHEVES
RUCO CLAUDIA ETCHEVES
DIRECTOR TÉCNICO

7 2 4 8

Resultados

En la interfase de las células normales o células sin aberraciones del cromosoma 17 aparecerán dos señales puntuales específicas de ERBB2 que pueden ser claramente distinguidas del fondo. En células con una amplificación del gen se observará un incremento en el número de señales específicas del gen o señales en forma de clúster.



Debido a una posible mitosis, puede que se observen señales adicionales en un reducido porcentaje de las células no neoplásicas. Ocasionalmente, pueden observarse núcleos con un número reducido de señales en secciones de tejido parafinadas.

Con el fin de evaluar la especificidad de las señales recibidas, toda hibridación debe acompañarse de un control. Recomendamos usar al menos una muestra control en la que se conoce el número de copias del cromosoma 17 y del gen ERBB2.

Nuestros expertos se encuentran disponibles para contestar sus preguntas.

E

[Handwritten Signature]
BIOCLASIFICACIÓN S.A.
DIRECTOR GENERAL

U

Bibliografía

- Bhargava R, et al. (2005) Am J Clin Pathol 123: 237-43.
- Coussens L, et al. (1985) Science 230: 1132-9.
- Hauser-Kronberger C, Dandachi N (2004) J Mol Histol 35: 647-53.
- Hopman AHN, et al. (1997) Histochem Cell Biol 108: 291-8.
- Hynes NE, Stern DF (1994) Biochim Biophys Acta 1198: 165-84.
- Isola J, Tanner M (2004) Methods Mol Med 97: 133-44.
- Kounelis S, et al. (2005) Anticancer Res 25: 939-46.
- Speel EJ, et al. (1994) J Histochem Cytochem 42: 1299-307.
- Tsukamoto T, et al. (1991) Int J Dev Biol 35: 25-32.
- Wilkinson DG: In Situ Hybridization, A Practical Approach, Oxford University Press (1992) ISBN 0 19 963327 4.

7248



Versión: 1 de Enero, 2015 (5.1)

Marcas registradas:

ZytoVision® y ZytoDot® son marcas registradas de ZytoVision GmbH.

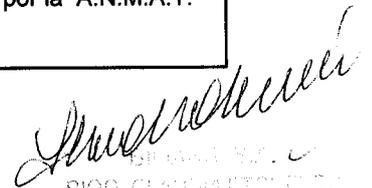


 ZytoVision GmbH · Fischkai 1
D - 27572 Bremerhaven · Germany
Phone: +49 (0)471/4832 - 300 Fax: +49 (0)471/4832 - 509
www.zytovision.com
info@zytovision.com

INDICACIÓN AL CONSUMIDOR

1. Por cualquier información puede consultar al siguiente teléfono: (011) 4555-4601 en el horario de 9.00 a 18.00 de Lunes a Viernes. Personal de BIOARS S.A. estará a vuestra disposición.
2. La mercadería viaja por cuenta y riesgo del destinatario. Todo reclamo será atendido según lo prevee el "Manual de procedimiento para reclamos técnicos y devolución de mercadería" que BIOARS S. A. pone a disposición del Cliente.

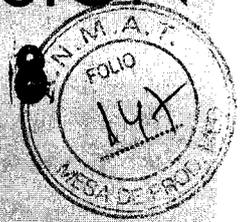
Establecimiento elaborador: ZytoVision GmbH, Fischkai 1, 27572 Bremerhaven (Alemania).
Establecimiento Importador: BIOARS S.A. – Estomba 961/965 – Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica- Matrícula Nacional N° 7028
Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. N° Certificado:


BIOARS S.A.
BIOQ. CLAUDIA E. ETCHEVÉS
DIRECTOR TÉCNICO

ORIGINAL

ZYTOVISION

7248



ZytoDot SPEC ERBB2 Probe Kit

REF C-3003-40

Σ 40

REF C-3003-10

Σ 10

Para la detección del gen humano ERBB2 mediante
hibridación *in situ* cromogénica (CISH)

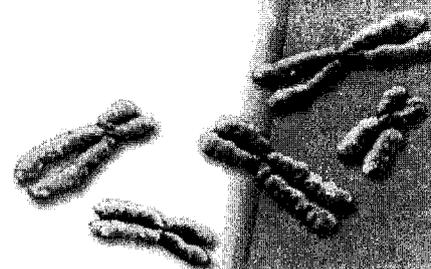
CE

IVD

Para uso diagnóstico in-Vitro

según reglamento UE 98/79/CE

E



M

[Handwritten Signature]
DIRECTOR REGIONAL
LABORATORIO REGIONAL

7248



Rev: 1 de enero de 2015 (5.1)

Marca de fábrica:

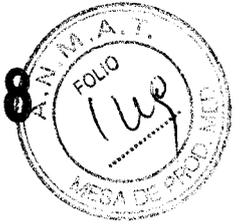
ZytoVision® y ZytoDot® son marcas registradas de ZytoVision GmbH.

E

U

Claudia Sánchez
BIOL. CLAUDIA SÁNCHEZ
DIRECTORA TÉCNICA

7248



Contenido

1.	Finalidad de la aplicación.....	1
2.	Principios del método	1
3.	Precauciones de seguridad y eliminación de desechos	2
4.	El <u>ZytoDot SPEC ERBB2 Probe Kit</u>	3
4.1	Componentes	3
4.2	Almacenamiento y durabilidad.....	3
4.3	Objeto de estudio.....	4
4.4	Material adicional necesario.....	4
4.5	Información importante	5
5.	Protocolo del <u>ZytoDot SPEC ERBB2 Probe Kit</u>	5
5.1	Pasos previos	5
5.2	Pretratamiento (Desparafinación/Proteólisis) [Día 1].....	6
5.3	Desnaturalización e hibridación [Día 1].....	7
5.4	Post-hibridación y detección [Día 2]	7
6.	Interpretación de resultados	9
6.1	Resultados de la CISH.....	9
6.2	Control positivo.....	10
7.	Bibliografía.....	11
8.	Problemas y posibles causas	12

E

[Handwritten signature]

COORDINADORA TÉCNICA

[Handwritten mark]



1. Finalidad de la aplicación

El ZytoDot SPEC ERBB2 Probe Kit está diseñado para detectar el gen humano ERBB2 en muestras de células o tejido embebido en parafina y fijado en formalina mediante hibridación *in situ* cromogénica (CISH).

Un patólogo calificado debe interpretar los resultados en el contexto del historial clínico considerándose los datos clínicos y patológicos del paciente.

2. Principios del método

La presencia de ciertas secuencias de ácidos nucleicos en células o tejidos puede ser detectada por hibridación *in situ* usando sondas de ADN marcadas. La hibridación da lugar a la formación duplex entre ciertas secuencias existentes en el objeto de estudio y la sonda ADN correspondiente.

El ZytoDot SPEC ERBB2 Probe Kit usa la sonda ZytoDot SPEC ERBB2 Probe (PD1). Esta sonda consta de polinucleótidos marcados con digoxigenina, quienes permiten la detección de secuencias del gen ERBB2.

La formación dúplex por la sonda marcada con digoxigenina puede detectarse usando un anticuerpo primario anti-digoxigenina (no marcado), el cual se detecta usando un anticuerpo secundario, conjugado con una enzima y polimerizado. La reacción enzimática de DAB (diaminobenzidina) conduce a la formación de una fuerte señal marrón permanente que puede ser visualizada con un microscopio óptico a 40x (objetivo seco).

E

Signature
DIRECTOR TÉCNICO

A

724



3. Precauciones de seguridad y eliminación de desechos

- ✓ Lea las instrucciones antes de usar este kit.
- ✓ No use los reactivos después de su fecha de caducidad.
- ✓ Evite cualquier contaminación cruzada y micro-bactericida de los reactivos.
- ✓ Algunos de los componentes del sistema contienen sustancias dañinas para la salud en concentración y volumen reducidos. Evite cualquier contacto directo con los reactivos. Tome las precauciones necesarias (utilice guantes desechables, gafas protectoras y batas de laboratorio).
- ✓ En caso de contacto con el reactivo, hay que enjuagar con abundante agua el sitio en cuestión.
- ✓ Nunca pipetee soluciones con la boca.
- ✓ La eliminación de los desechos de los reactivos debe llevarse a cabo de acuerdo con los reglamentos locales.
- ✓ Puede solicitarse hoja de datos de seguridad para el usuario profesional.

Σ

Immunology

BIOLOGICAL
CLINICAL
DIRECTOR

4

724



4. El ZytoDot SPEC ERBB2 Probe Kit

4.1 Componentes

El kit contiene los siguientes componentes:

Código	Componente	Cantidad		Recipiente
		40 ∇	10	
PT2	<u>Heat Pretreatment Solution EDTA</u>	500 ml	150 ml	Botella con tapón de rosca (grande)
ES1	<u>Pepsin Solution</u>	4 ml	1 ml	Frasco cuentagotas, tapón blanco
PD1	<u>ZytoDot SPEC ERBB2 Probe</u>	0,4 ml	0,1 ml	Vial de tapón marrón
WB1	<u>Wash Buffer SSC</u>	500 ml	150 ml	Botella con tapón de rosca (grande)
WB4	<u>PBS/Tween</u>	2	1	Paquete de aluminio
BS1	<u>Blocking Solution</u>	4 ml	1 ml	Frasco cuentagotas, tapón naranja
AB1	<u>Mouse-Anti-DIG</u>	4 ml	1 ml	Frasco cuentagotas, tapón rosa
AB2	<u>Anti-Mouse-HRP-Polymer</u>	4 ml	1 ml	Frasco cuentagotas, tapón violeta
SB1a	<u>DAB Solution A</u>	0,3 ml	0,1 ml	Frasco cuentagotas, tapón verde
SB1b	<u>DAB Solution B</u>	10 ml	2 ml	Frasco cuentagotas, tapón gris
CS1	<u>Mayer's Hematoxylin Solution</u>	20 ml	4 ml	Botella con tapón de rosca, negro
MT4	<u>Mounting Solution (alcoholic)</u>	4 ml	1 ml	Bote de cristal, marrón
SC2	<u>ERBB2 Control Slide</u>	2	1	Cajita de plástico
	Instrucciones para el uso	1	1	

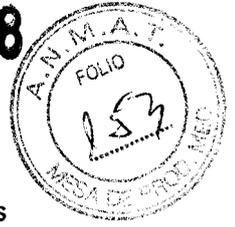
C-3003-40 (40 aplicaciones): Los componentes **(PD1)**, **(ES1)**, **(BS1)**, **(AB1)**, **(AB2)**, **(SB1a-b)**, **(CS1)** y **(MT4)** son suficientes para 40 aplicaciones. Los componentes **(PT2)** y **(WB1)** son suficientes para 7 cubetas de 70 ml cada una. El componente **(WB4)** es suficiente para 27 cubetas de 70 ml cada una.

C-3003-10 (10 aplicaciones): Los componentes **(PD1)**, **(ES1)**, **(BS1)**, **(AB1)**, **(AB2)**, **(SB1a-b)**, **(CS1)** y **(MT4)** son suficientes para 10 aplicaciones. Los componentes **(PT2)** y **(WB1)** son suficientes para 2 cubetas de 70 ml cada una. El componente **(WB4)** es suficiente para 14 cubetas de 70 ml cada una.

4.2 Almacenamiento y durabilidad

Los componentes del kit deben almacenarse a 2...8°C. Los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta mientras se mantienen estas condiciones de almacenamiento.

Handwritten signature
 BICARIS
 BIOD. CLAUDIA FLORES
 DIRECTORA DE BIOD.



4.3 Objeto de estudio

El ZytoDot SPEC ERBB2 Probe Kit ha sido optimizado para su uso en muestras de células y tejido embebido en parafina y fijado en formalina. Sin embargo, el kit puede usarse también para otras muestras de tejidos o células (por ejemplo en células o frotis de células fijados en metanol – con ácido acético glacial). En este caso, el material fijado o embutido de modo diferente, puede hacer necesaria la adaptación del protocolo por el usuario. Nuestros especialistas están a su disposición para ayudarle cuando sea necesario realizar algún ajuste.

Recomendamos preparar los tejidos de modo siguiente:

- ✓ Fijación en formalina 10% tamponada a pH neutro durante 24 h a temperatura ambiente
Con el fin de conseguir una fijación e inclusión en parafina óptima, uniforme, el tamaño de las muestras no debe exceder los 0,5 cm³.
- ✓ Procesamiento e inclusión estándar en parafina
Utilice una parafina de buena calidad. La infiltración y inclusión debe llevarse a cabo a temperaturas inferiores a 65°C.
- ✓ Prepare secciones de 3-5 µm mediante microtomo
Coloque las secciones en portaobjetos silanizados o portaobjetos de adhesión (por ejemplo HistoBond®). Fije las secciones de 2-16 h a 50-60°C.

Uso del portaobjeto ERBB2 Control Slide (SC2) como control:

Los portaobjetos control se han pre-fijado durante 15 min a 58°C. Si lo desea puede colocar su muestra de tejido al lado de las células control. En cualquier caso, los portaobjetos control deben ser fijados durante 2-16 h a 60°C antes de usarlos.

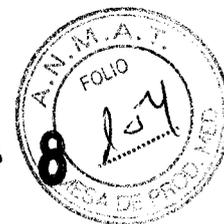
4.4 Material adicional necesario

Los siguientes reactivos, materiales y equipamiento no se incluyen en el sistema:

Reactivos y materiales

- Pistola de pegar con pegamento caliente o "rubber cement" (Fixogum)
- Etanol 100%, desnaturalizado
- Agua desionizada o destilada
- Xileno
- Peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 30%
- Metanol al 100%

[Handwritten signature]
BIOQ. CLAYTON E. B...
DIRECTOR TÉCNICO



7248

Equipamiento

- *Baño de agua (80°C, hirviendo) o baño maría*
- *Placa calefactora*
- *Horno de hibridación o estufa*
- *Cubetas de lavar, 50-80 ml*
- *Cámara húmeda*
- *Pipeta (10 µl)*
- *Cubre objetos (22 mm x 22 mm, 24 mm x 32 mm)*
- *Microscopio óptico*

4.5 Información importante

Deben tenerse en cuenta las siguientes indicaciones:

- ✓ Evite que las secciones de tejido y células se sequen durante las etapas de hibridación y lavado!
- ✓ Las temperaturas descritas en las instrucciones para la desnaturalización y el lavado, generalmente deben tomarse como guía. La antigüedad del material y las condiciones de fijación del objeto de estudio, sin embargo, pueden condicionar dichas temperaturas; en algunos casos un aumento o descenso en la temperatura de desnaturalización o lavado pueden conducir a mejorar los resultados de la hibridación!

5. Protocolo del ZytoDot SPEC ERBB2 Probe Kit

5.1 Pasos previos

Día 1:

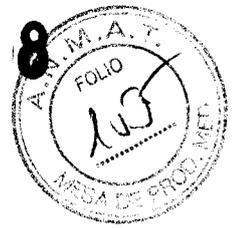
- *Preparación de la serie de etanoles (etanol 70%, 85%, 95% y 100%):* Diluir 7, 8,5, 9,5 y 10 partes de etanol 100% en 3, 1,5, 0,5 y 0 partes de agua desionizada o destilada. Estas soluciones pueden almacenarse en botellas o recipientes adecuados y reutilizarse varias veces.
- *Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2):* Calentar, en una cubeta tapada, hasta al menos 95°C poniéndola en un baño de agua hirviendo.
- *Pepsin Solution (ES1):* Mantener a temperatura ambiente antes de su uso.

Día 2:

- *Pre calentamiento del tampón de lavado Wash Buffer SSC (WB1):* Preparar dos cubetas con Wash Buffer SSC, una a temperatura ambiente y la otra calentada a 75°C (dependiendo del número de portaobjetos, la temperatura

[Handwritten Signature]
 BIOL. CLAUDIA C. ...
 DIRECTOR TÉCNICO

[Handwritten marks]



debería incrementarse 1°C por portaobjeto si hay más de dos portaobjetos, pero nunca exceder los 80°C).

- *Preparación de PBS/Tween:* Añadir 1 pastilla de PBS/Tween (WB4) a 1000 ml de agua desionizada o destilada y disolverla. Llenar 9 cubetas con PBS/Tween.
- *Blocking Solution (BS1), Mouse-Anti-DIG (AB1), Anti-Mouse-HRP-Polymer (AB2), Mayer's Hematoxylin Solution (CS1), Mounting Solution (alcoholic) (MT4):* Mantener a temperatura ambiente antes de su uso.
- *Preparación de 3% H₂O₂:* Diluir 1 parte H₂O₂ al 30% en 9 partes de metanol al 100%.
- *Preparación de la solución DAB Solution:* Antes de usar, añadir la DAB Solution B (SB1b) gota a gota en un recipiente graduado (1 ml como máximo) y añadir una gota de la DAB Solution A (SB1a). A temperatura ambiente, la solución se mantiene estable durante 2 h.

5.2 Pretratamiento (Desparafinación/Proteólisis) [Día 1]

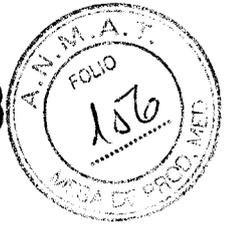
1. Incubar los portaobjetos a 70°C durante 10 min (por ejemplo, en una placa calefactora)
2. Incubar 2x 5 min en xileno
3. Incubar 3x 3 min en ethanol al 100%
4. Lavar 3x 2 min en agua desionizada o destilada
5. Calentar la Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2), en una cubeta tapada, hasta al menos 95°C poniéndola en un baño de agua hirviendo
6. Colocar los portaobjetos en la Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2) e incubarlos durante 15 min
7. Trasladar los portaobjetos inmediatamente a agua desionizado o destilado, lavar 3x 2 min y posteriormente secar o eliminar el agua
8. Añadir (gota por gota) Pepsin Solution (ES1) a los portaobjetos hasta que el tejido/las células estén cubiertos por la solución, e incubar en una cámara húmeda durante 5 min a temperatura ambiente

El tiempo de incubación dependerá de varios factores, p. e. el tipo y el tiempo de fijación, el tamaño de las secciones y el tipo de tejido/célula. Para la incubación se recomienda un tiempo de incubación de 3-10 min en muestras de tejido y en células. Como regla general, recomendamos que el tiempo óptimo de proteólisis se establezca en pruebas previas.

9. Lavar 3x 2 min en agua desionizada o destilada

[Handwritten signature]

7248



10. Deshidratar en etanol 70%, 85%, 95% y 2x 100% durante 2 min en cada concentración

Después dejar que las secciones se sequen al aire.

5.3 Desnaturalización e hibridación [Día 1]

1. Agitar la sonda ZytoDot SPEC ERBB2 Probe (PD1) con vórtex y pipetear 10 µl de la sonda al material de análisis

Distribuir la sonda gota a gota en el área deseada y evitar una concentración elevada de la sonda en cualquier parte del material. De forma alternativa, puede colocarse la sonda en el centro del cubreobjetos y el cubreobjetos boca abajo sobre la sección deseada. El proceso de pipeteado de la sonda puede facilitarse al calentar ésta y utilizar una punta recortada de pipeta.

2. Cubra, libre de burbujas, la muestra con un cubreobjeto (22 mm x 22 mm) y selle la sección (por ejemplo, sellando los bordes del vidrio cubreobjeto con una capa de pegamento caliente, sirviéndose de una pistola de pegar, o séllelo con cemento de jebe "Rubber Cement")

3. Desnaturalizar el portaobjeto a 94-95°C durante 5 min, por ejemplo en una placa calefactora

4. Llevar el portaobjeto a una cámara húmeda hibridarlos durante la noche incubándolos a 37°C (p. ej en un horno de hibridación)

Es fundamental que las secciones de los tejidos/las células no se sequen durante la etapa de la hibridación.

5.4 Post-hibridación y detección [Día 2]

1. Retirar con cuidado el pegamento caliente o "Rubber Cement"

2. Poner los portaobjetos en tampón de lavado Wash Buffer SSC (WB1) durante 5 min a temperatura ambiente

3. Lavar durante 5 min a 75-80°C en Wash Buffer SSC (WB1)

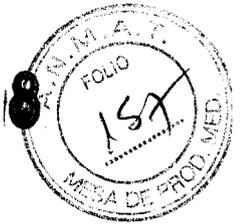
El Wash Buffer SSC debe precalentarse. Aumente la temperatura 1°C por portaobjetos si hay más de 2, pero nunca exceda los 80°C. Si fuera necesario compruebe la temperatura con un termómetro.

4. Lavar 3x 2 min en agua desionizada o destilada

5. Incubar portaobjetos 10 min en H₂O₂ 3 %

6. Lavar 3x 2 min en PBS/Tween (prepara de **WB4**)

724



7. Aplicar gotas de la solución bloqueante Blocking Solution (BS1) a los portaobjetos (3-4 gotas/porta) e incubar durante 10 min a temperatura ambiente
8. Quitar el exceso de la Blocking Solution (BS1), pero no lavar!
9. Aplicar gotas del anticuerpo anti-digoxigenina Mouse-Anti-DIG (AB1) a los portaobjetos (3-4 gotas/porta) e incubar durante 30 min a temperatura ambiente
10. Lavar 3x 2 min en PBS/Tween (prepara de **WB4**)
11. Aplicar gotas del anticuerpo secundario Anti-Mouse-HRP-Polymer (AB2) a los portaobjetos (3-4 gotas/porta) e incubar durante 30 min a temperatura ambiente
12. Lavar 3x 2 min en PBS/Tween (prepara de **WB4**)
13. Durante los pasos de lavado, preparar la DAB Solution poniendo 1 ml de la DAB Solution B (SB1b) en un recipiente graduado y añadiendo una gota de la DAB Solution A (SB1a)
14. Aplicar gotas de la DAB Solution preparada a los portaobjetos (3-4 gotas/porta) e incubar durante 30 min a temperatura ambiente
15. Transladar portaobjetos a una cubeta y lavarlos durante 2 min en agua corriendo del grifo
16. Contrateñir las muestras de tejido/las células durante 8-10 s con la Mayer's Hematoxylin Solution (CS1)

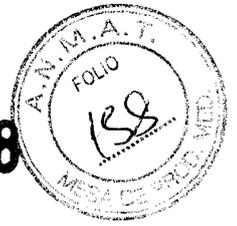
El tiempo de contratención depende de la naturaleza del tejido/de las células y por lo tanto debería ser optimizado. Evite contratenciones muy fuertes, porque pueden enmascarar las señales positivas.

17. Transladar portaobjetos a una cubeta y lavarlos durante 2 min en agua corriendo del grifo
18. Deshidratar en etanol 70%, 85%, 95% y 2x 100% durante 2 min en cada concentración
19. Incubar 2x 2 min en xileno (utilizar xilol puro)

Después dejar que las secciones se sequen al aire durante aproximadamente 15 min

20. Cubra las secciones muestra con cubreobjetos (22 mm x 22 mm; 24 mm x 32 mm) evitando la formación de burbujas y utilizando el medio de montaje Mounting Solution (alcoholic) (MT4); dejar secar al aire durante aproximadamente 30 min
21. Evaluar las muestras en un microscopio óptico

[Handwritten Signature]
BIOO. CLARIBEL ROSA
DIRECTOR TÉCNICO



6. Interpretación de resultados

6.1 Resultados de la CISH

La señal de hibridación CISH de una copia génica aparece como un punto de DAB de color marrón, que puede distinguirse claramente del fondo celular contraído con la hematoxilina. La visualización de las señales debería ser realizada utilizando un objetivo 40x, observándose señales claramente visibles. A 20x, los puntos son de tamaño reducido pero pueden reconocerse con facilidad.

Antes del recuento de las señales CISH, la muestra de tejido/las células debería ser escaneada por si hubiera alguna heterogeneidad intra-tumoral usando un objetivo 10x o 20x. En caso de heterogeneidad, se debe elegir un área representativa para determinar el estatus de amplificación. Para el recuento de las señales deben evitarse las áreas de necrosis, las áreas con superposición de núcleos y los núcleos con señales débiles.

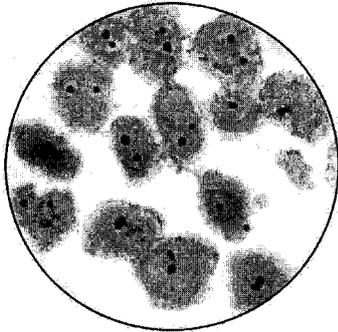
En los núcleos diploides normales sin amplificación génica pueden observarse 2 señales, sus bordes planos y redondos claramente visibles (véase figura 1). Debido a una posible mitosis, puede que se observen señales adicionales en un reducido porcentaje de las células no neoplásicas. Ocasionalmente, pueden observarse núcleos con un número reducido de señales en secciones de tejido parafinadas.

En caso de bajo nivel de amplificación podrán observarse numerosas señales o pequeños *clusters* (o cúmulos de señales) en cada núcleo. Los pequeños *clusters* son señales de forma irregular, que abarcan un área de hasta 5 puntos (véase figura 2). Como referencia para la comparación de tamaño debe usarse una señal individualizada de una célula normal del mismo portaobjetos. Para excluir la posibilidad de que unos niveles bajos o medianos de amplificación se deban a una aneuploidía y no a una amplificación del gen ERBB2, debería usarse una sonda centromérica del cromosoma 17 para comprobar o descartar una aneuploidía.

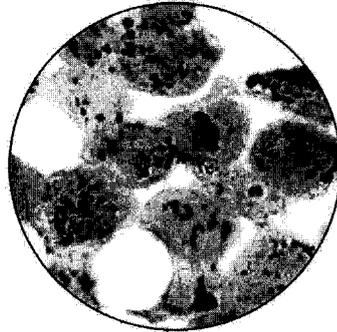
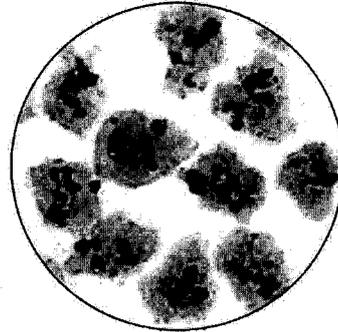
En casos de alta amplificación génica, será visible en los núcleos un gran número de señales o *clusters* de gran tamaño, formados por un área de más de 5 señales (véase figura 3). Como referencia para la comparación de tamaño debe usarse una señal individualizada de una célula normal del mismo portaobjetos.

Guadalupe
MIOU GUADALUPE
DIRECTOR TÉCNICO

Con el fin de evaluar la especificidad de las señales de hibridación y de confirmar que el proceso se ha llevado a cabo correctamente, toda hibridación debe acompañarse de un control. Recomendamos utilizar una muestra control en la cual se conozca el número de copias del cromosoma 17 y del gen ERBB2. Un resultado negativo o inespecífico puede deberse a múltiples razones (ver capítulo 8).



1) 2 Señales/puntos

2) Numerosas señales y pequeños *clusters*3) Grandes *clusters*

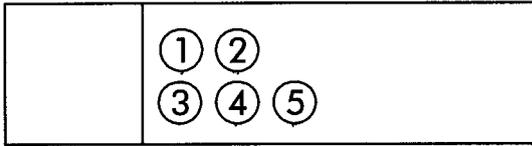
6.2 Control positivo

Los portaobjetos control ERBB2 Control Slides (SC2) incluidos en el equipo deberían ser usados para asegurar el correcto desarrollo del experimento CISH. Si desea usar el control como un solo portaobjetos, coloque el tejido de muestra al lado de las líneas celulares del porta control antes de fijar éste; de forma alternativa, los portas control pueden utilizarse como control separado.

Los portaobjetos control ERBB2 Control Slide (SC2) contienen cuatro líneas celulares diferentes (véase abajo) afectadas por diferentes niveles de amplificación del gen ERBB2, más un tejido (miocardio de perro). Las células se han embebido en parafina coloreada de rojo, fijadas en formol (10%, tamponado a pH neutro) durante 24 h a un pH de 7,0, y montadas en portaobjetos eléctricamente cargados (+). Tienen un grosor de 4 μm y han sido pre-fijado durante 15 min a 58°C.



Los portaobjetos control ERBB2 Control Slide (SC2) son de la siguiente estructura:



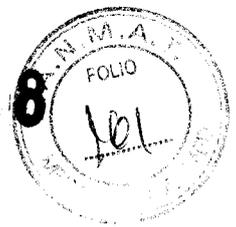
- 1: no amplificación de ERBB2, 1-2 copias génicas por núcleo
- 2: no señales de ERBB2
- 3: no amplificación de ERBB2, 1-2 copias génicas por núcleo
- 4: bajo nivel de amplificación de ERBB2, 3-6 copias génicas por núcleo
- 5: alta amplificación de ERBB2, grandes *clusters* por núcleo

Antes de usar los portaobjetos control ERBB2 Control Slide (SC2), retire la etiqueta, márquela con un lápiz y, si lo desea, monte la muestra de estudio en el portaobjetos. Después, fije los portaobjetos a 60°C durante un mínimo de 2 h hasta 16 h, y lleve a cabo el protocolo desde el capítulo 5.2 Pretratamiento (Desparafinación/Proteólisis); en este caso, el tiempo de incubación con la pepsina es de 10 min.

7. Bibliografía

- Bhargava R, et al. (2005) *Am J Clin Pathol* 123: 237-43.
- Coussens L, et al. (1985) *Science* 230: 1132-9.
- Hauser-Kronberger C, Dandachi N (2004) *J Mol Histol* 35: 647-53.
- Hopman AHN, et al. (1997) *Histochem Cell Biol* 108: 291-8.
- Hynes NE, Stern DF (1994) *Biochim Biophys Acta* 1198: 165-84.
- Isola J, Tanner M (2004) *Methods Mol Med* 97: 133-44.
- Kounelis S, et al. (2005) *Anticancer Res* 25: 939-46.
- Speel EJ, et al. (1994) *J Histochem Cytochem* 42: 1299-307.
- Tsukamoto T, et al. (1991) *Int J Dev Biol* 35: 25-32.
- Wilkinson DG: *In Situ Hybridization, A Practical Approach*, Oxford University Press (1992) ISBN 0 19 963327 4.

[Handwritten Signature]
 BIODIAGNÓSTICO
 BIODIAGNÓSTICO
 DIRECTOR TÉCNICO

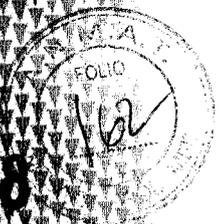


8. Problemas y posibles causas

Cualquier cambio en el protocolo indicado en este manual de uso puede conducir a una pérdida de intensidad de la fluorescencia o a una pérdida completa de ésta.

Problema	Posible causa	Corrección
Se observan rayas en el porta después de parar el tratamiento con la pepsina	Precipitación	Lavar la sección inmediatamente en agua destilada o desionizada
Señal débil o ausencia de señal	No secuencias diana presentes	Usar porta control
	Células o tejido insuficientemente fijados	Optimizar el tiempo de fijación
	Pretratamiento proteolítico inadecuado	Optimizar el tiempo de incubación
	Temperatura inadecuada de desnaturalización	Revisar la temperatura
	Temperatura inadecuada de hibridación	Revisar la temperatura
	Tiempo demasiado corto de hibridación	Aumentar el tiempo de hibridación
	Incubación con el sustrato cromogénico demasiado corto	Aumentar el tiempo de incubación
	Contratinción demasiado oscura	Optimizar el tiempo de incubación
Tinción desigual, y débil en algunas partes	Desparafinación incompleta	Utilizar soluciones frescas; revisar los tiempos de desparafinación
Señales de hibridación cruzada; tinción fuerte de fondo	Volumen por área de la sonda demasiado elevado	Reducir el volumen de la sonda por sección/área, distribuir la sonda gota a gota para evitar una concentración local
	Tratamiento proteolítico demasiado fuerte	Optimizar el tiempo de incubación
	Deshidratación de las secciones entre las distintas incubaciones	Evitar deshidratación de las muestras
	Temperatura del lavado post-hibridación demasiado baja	Revisar la temperatura
Sección flota en el porta	Tratamiento proteolítico demasiado fuerte	Reducir el tiempo de incubación
	Recubrimiento inadecuado de los portas	Utilizar portas apropiados

Clayton E. O'Brien
 BIOTIS 102
 BIOL. CLAYTON E. O'BRIEN
 DIRECTOR TÉCNICO



INDICACIÓN AL CONSUMIDOR

1. Por cualquier información puede consultar al siguiente teléfono: (011) 4555-4601 en el horario de 9.00 a 18.00 de Lunes a Viernes. Personal de BIOARS S.A. estará a vuestra disposición.
2. La mercadería viaja por cuenta y riesgo del destinatario. Todo reclamo será atendido según lo prevee el "Manual de procedimiento para reclamos técnicos y devolución de mercadería" que BIOARS S. A. pone a disposición del Cliente.



ZytoVision GmbH · Fischkai
 D - 27572 Bremerhaven · Germany
 Phone: +49 (0) 471/4832 - 300
 Fax: +49 (0) 471/4832 - 509
 www.zytovision.com
 info@zytovision.com

Establecimiento elaborador: ZytoVision GmbH, Fischkai 1, 27572 Bremerhaven (Alemania).
 Establecimiento Importador: BIOARS S.A. – Estomba 961/965 – Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
 Director Técnico: Dra. Claudia E. Etchevés - Bioquímica-
 Matrícula Nacional N° 7028
 Uso Profesional Exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T.
 N° Certificado:

Your local distributor

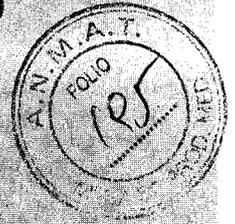
Claudia E. Etchevés

BIOQ. CLAUDIA E. ETCHÉVÉS
DIRECTOR TÉCNICO

ORIGINAL

ZYTOVISION

7248



ZytoDot 2C
SPEC ERBB2/CEN 17 Probe Kit

REF C-3022-40  40

REF C-3022-10  10

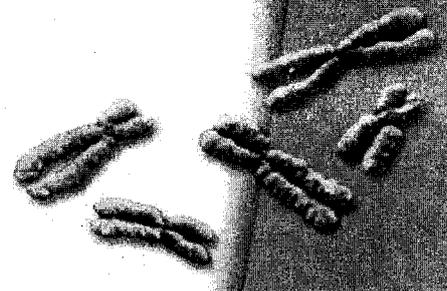
Para la detección del gen humano ERBB2 y el satélite alfa del cromosoma 17 mediante hibridación *in situ* cromogénica (CISH)

CE

IVD

Para uso diagnóstico in-Vitro

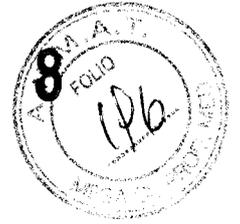
según reglamento UE 98/79/CE



[Handwritten signature]

BIO. CALIDAD
DIRECTOR TÉCNICO

24



Rev: 1 de enero de 2015 (5.1)

Marca de fábrica:

ZytoVision® y ZytoDot® son marcas registradas de ZytoVision GmbH.

[Handwritten signature]
DIRECCIÓN TÉCNICA
DIRECTOR TÉCNICO



Contenido

1.	Finalidad de la aplicación.....	1
2.	Principios del método	1
3.	Precauciones de seguridad y eliminación de desechos	1
4.	El <u>ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe Kit</u>	2
4.1	Componentes	2
4.2	Almacenamiento y durabilidad.....	3
4.3	Objeto de estudio.....	3
4.4	Material adicional necesario.....	3
4.5	Información importante	4
5.	Protocolo del <u>ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe Kit</u>	4
5.1	Pasos previos	4
5.2	Pretratamiento (desparafinación/proteólisis) [día 1].....	5
5.3	Desnaturalización e hibridación [día 1]	6
5.4	Post-hibridación y detección [día 2].....	6
6.	Interpretación de resultados	8
6.1	Resultados de la CISH.....	8
6.2	Control positivo.....	9
7.	Bibliografía.....	10
8.	Problemas y posibles causas	11

E

4

Clara...
 BIOD. CLAUDIA...
 DIRECTOR TÉCNICO



1. Finalidad de la aplicación

El ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe Kit está diseñado para detectar el gen humano ERBB2 y los satélites alfa del cromosoma 17 en muestras de células o tejido embebido en parafina y fijado en formalina mediante hibridación *in situ* cromogénica (CISH).

Un patólogo calificado debe interpretar los resultados en el contexto del historial clínico considerándose los datos clínicos y patológicos del paciente.

2. Principios del método

La presencia de ciertas secuencias de ácidos nucleicos en células o tejidos puede ser detectada por hibridación *in situ* usando sondas de ADN marcadas. La hibridación da lugar a la formación de un dúplex entre ciertas secuencias existentes en el objeto de estudio y la sonda de ADN correspondiente.

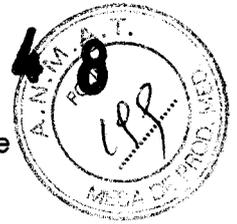
El ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe Kit usa la sonda ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe (PD12). Esta sonda consta de polinucleótidos marcados con digoxigenina, que permiten la detección de secuencias del gen ERBB2, y polinucleótidos marcados con DNP, que permiten la detección de secuencias satélite alfa del centrómero del cromosoma 17.

La formación de un dúplex por la sonda marcada puede detectarse usando anticuerpos (no marcados), que son detectados por un polímero de anticuerpos secundarios conjugados con un enzima. Las reacciones enzimáticas del sustrato llevan a la formación de unas señales fuertes permanentes rojas y verdes que pueden ser visualizadas con un microscopio óptico a 40x (objetivo seco).

3. Precauciones de seguridad y eliminación de desechos

- ✓ Lea las instrucciones antes de usar este kit.
- ✓ No use los reactivos después de su fecha de caducidad.
- ✓ Evite cualquier contaminación cruzada y micro-bactericida de los reactivos.
- ✓ Algunos de los componentes del sistema contienen sustancias dañinas para la salud en concentraciones y volúmenes reducidos. Evite cualquier contacto directo con los reactivos. Tome las precauciones necesarias (utilice guantes desechables, gafas protectoras y batas de laboratorio).
- ✓ En caso de contacto con el reactivo, hay que enjuagar con abundante agua el sitio en cuestión.
- ✓ Nunca pipetee soluciones con la boca.

[Handwritten Signature]
DIRECTOR GENERAL
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO



- ✓ La eliminación de los desechos de los reactivos debe llevarse a cabo de acuerdo con los reglamentos locales.
- ✓ Puede solicitarse hoja de datos de seguridad para el usuario profesional.

4. El ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe Kit

4.1 Componentes

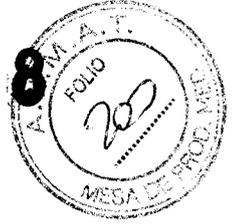
El kit contiene los siguientes componentes:

Código	Componente	Cantidad		Recipiente
		40	10	
PT2	Heat Pretreatment Solution EDTA	500 ml	150 ml	Botella con tapón de rosca (grande)
ES1	Pepsin Solution	4 ml	1 ml	Frasco cuentagotas, tapón blanco
PD12	ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe	0,4 ml	0,1 ml	Vial de tapón marrón
WB1	Wash Buffer SSC	500 ml	150 ml	Botella con tapón de rosca (grande)
WB5	20x Wash Buffer TBS	2x 50 ml	50 ml	Botella con tapón de rosca
AB14	Anti-DIG/DNP-Mix	4 ml	1 ml	Frasco cuentagotas, tapón amarillo
AB13	HRP/AP-Polymer-Mix	4 ml	1 ml	Frasco cuentagotas, tapón azul
SB6a	AP-Red Solution A	0,4 ml	0,1 ml	Frasco cuentag., tapón rojo (pequeño)
SB6b	AP-Red Solution B	15 ml	4 ml	Frasco cuentag., tapón rojo (pequeño)
SB7a	HRP-Green Solution A	0,8 ml	0,2 ml	Frasco cuentag., tapón verde (pequeño)
SB7b	HRP-Green Solution B	15 ml	4 ml	Frasco cuentag., tapón verde
CS2	Nuclear Blue Solution	20 ml	4 ml	Botella con tapón de rosca, negro
MT4	Mounting Solution (alcoholic)	4 ml	1 ml	Bote de cristal, marrón
SC2	ERBB2 Control Slide	2	1	Cajita de plástico
	AP-Red reaction vessel	2	1	Vial graduado, tapón rojo
	HRP-Green reaction vessel	2	1	Vial graduado, tapón verde
	Instruction manual	1	1	

C-3022-40 (40 aplicaciones): Los componentes **(PD12)**, **(ES1)**, **(AB14)**, **(AB13)**, **(SB6a-b)**, **(SB7a-b)**, **(CS2)** y **(MT4)** son suficientes para 40 aplicaciones. Los componentes **(PT2)** y **(WB1)** son suficientes para 7 cubetas de 70 ml cada una. El componente **(WB5)** es suficiente para 27 cubetas de 70 ml cada una.

C-3022-10 (10 aplicaciones): Los componentes **(PD12)**, **(ES1)**, **(AB14)**, **(AB13)**, **(SB6a-b)**, **(SB7a-b)**, **(CS2)** y **(MT4)** son suficientes para 10 aplicaciones. Los componentes **(PT2)** y **(WB1)** son suficientes para 2 cubetas de 70 ml cada una. El componente **(WB5)** es suficiente para 14 cubetas de 70 ml cada una.

[Handwritten Signature]
 BIO. CLAYTON
 DIRECTOR TÉCNICO



4.2 Almacenamiento y durabilidad

Los componentes del kit deben almacenarse a 2...8°C. Los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta mientras se mantienen estas condiciones de almacenamiento.

4.3 Objeto de estudio

El ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe Kit ha sido optimizado para su uso en muestras de células y tejido embebido en parafina y fijado en formalina. Sin embargo, el kit puede usarse también para otras muestras de tejidos o células (por ejemplo en células o frotis de células fijados en metanol – con ácido acético glacial). En este caso, el material fijado o embutido de modo diferente, puede hacer necesaria la adaptación del protocolo por el usuario. Nuestros especialistas están a su disposición para ayudarle cuando sea necesario realizar algún ajuste.

Recomendamos preparar los tejidos de modo siguiente:

- ✓ Fijación en formalina 10% tamponada a pH neutro durante 24 h a temperatura ambiente
Con el fin de conseguir una fijación e inclusión en parafina óptima, uniforme, el tamaño de las muestras no debe exceder los 0,5 cm³.
- ✓ Procesamiento e inclusión estándar en parafina
Utilice una parafina de buena calidad. La infiltración e inclusión debe llevarse a cabo a temperaturas inferiores a 65°C.
- ✓ Prepare secciones de 3-5 µm mediante microtomo
Coloque las secciones en portaobjetos silanizados o portaobjetos de adhesión (por ejemplo HistoBond®). Fije las secciones de 2-16 h a 50-60°C.

Uso del portaobjeto ERBB2 Control Slide (SC2) como control:

Los portaobjetos control se han pre-fijado durante 15 min a 58°C. Si lo desea puede colocar su muestra de tejido al lado de las células control. En cualquier caso, los portaobjetos control deben ser fijados durante 2-16 h a 60°C antes de usarlos.

4.4 Material adicional necesario

Los siguientes reactivos, materiales y equipamiento no se incluyen en el sistema:

Reactivos y materiales

- Pistola de pegar con pegamento caliente o "rubber cement" (Fixogum)
- Etanol al 100%, desnaturalizado
- Agua desionizada o destilada
- Xileno

[Firma manuscrita]
BIOO. CLAUDIA...
DIRECTOR TÉCNICO



Ministerio de Salud
 Secretaría de Políticas, Regulación
 e Institutos
 A.N. M. A.T

**CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN DE VENTA DE
 PRODUCTOS PARA DIAGNOSTICO DE USO IN VITRO**

Expediente nº 1-47-3110-2176/16-4

Se autoriza a la firma BIOARS S.A. a importar y comercializar el Producto para diagnóstico de uso in vitro denominado **ZytoDot Probe** / sondas de DNA para CISH, para tumores sólidos.-----

NOMBRE DEL PRODUCTO	Volumen / determinaciones		Vida útil (meses)*
ZytoDot 2C SPEC 1p36/1q25 Probe	0,1 ml	0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC 19q13/19p13 Probe	0,1 ml	0,4 ml	36
ZytoDot SPEC MYCN Probe		0,4 ml	36
ZytoDot SPEC EGFR Probe		0,4 ml	36
ZytoDot SPEC EGFR/CEN 7 Probe	0,1 ml	0,4 ml	36
ZytoDot SPEC ERBB2 Probe	0,1 ml	0,4 ml	36
ZytoDot SPEC ERBB2 Probe Kit	10 det.	40 det.	18
ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe	0,1 ml	0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC ERBB2/CEN 17 Probe Kit	10 det.	40 det.	12
ZytoDot 2C SPEC ERBB2/D17S122 Probe	0,1 ml		36
ZytoDot SPEC ESR1 Probe		0,4 ml	36
ZytoDot SPEC FGFR1 Probe		0,4 ml	36
ZytoDot SPEC 2C FGFR1/CEN 8 Probe		0,4 ml	36
ZytoDot SPEC 2C FGFR2/CEN 10 Probe		0,4 ml	36
ZytoDot SPEC TOP2A Probe		0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC TOP2A/CEN 17 Probe		0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC ALK Break Apart Probe	0,1 ml	0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC EML4 Break Apart Probe		0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC MET/CEN 7 Probe		0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC RET Break Apart Probe	0,1 ml	0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC ROS1 Break Apart Probe	0,1 ml	0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC TOP1/CEN 20 Probe		0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC ERG Break Apart Probe		0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC PTEN/CEN 10 Probe		0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC CDK4/CEN 12 Probe		0,4 ml	36

E
 A 7

ZytoDot 2C SPEC DDIT3 Break Apart Probe	0,1 ml		36
ZytoDot 2C SPEC EWSR1 Break Apart Probe	0,1 ml		36
ZytoDot 2C SPEC FOXO1 Break Apart Probe	0,1 ml		36
ZytoDot 2C SPEC FUS Break Apart Probe	0,1 ml		36
ZytoDot SPEC MDM2 Probe		0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC MDM2/CEN 12 Probe	0,1 ml	0,4 ml	36
ZytoDot 2C SPEC SS18 Break Apart Probe	0,1 ml		36

*** desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 8°C.**

Se le asigna la categoría: venta a Laboratorios de análisis clínicos por hallarse en las condiciones establecidas en la Ley N° 16.463 y Resolución Ministerial N° 145/98. Lugar de elaboración: ZytoVision GmbH, Fischkai 1, 27572 Bremerhaven

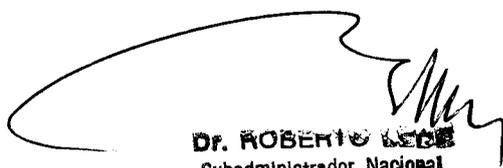
(USA). En las etiquetas de los envases, anuncios y prospectos deberá constar

PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO AUTORIZADO POR LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA

MEDICA. Certificado n° **008558**

ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA

Buenos Aires, **30 JUN 2017,**


Dr. ROBERTO LEBE
 Subadministrador Nacional
 F.M.A.T.
 Firma y sello