



ZytoLight SPEC IGH Dual Color Break Apart Probe

| | | |
|------------|------------|-------------|
| REF | Z-2110-50 | 5 (0,05 ml) |
| REF | Z-2110-200 | 20 (0,2 ml) |

Για την ποιοτική ανίχνευση μετατοπίσεων που αφορούν τον ανθρώπινο τόπο IGH στο 14q32.33 με υβριδισμό φθορισμού *in situ* (FISH)

4250380P157R7



In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν

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

1. Επιδιωκόμενος σκοπός

Ο ανιχνευτής ZytoLight SPEC IGH Dual Color Break Apart Probe (PL67) προορίζεται να χρησιμοποιηθεί για την ποιοτική ανίχνευση των μετατοπίσεων που αφορούν τον ανθρώπινο τόπο IGH στο 14q32.33 σε κυτταρολογικά δείγματα ή δείγματα που έχουν σταθεροποιηθεί με φορμαλίνη, ενσωματωμένα σε παραφίνη με υβριδισμό φθορισμού *in situ* (FISH). Ο ανιχνευτής προορίζεται να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με τα ZytoLight FISH Implementation Kits (Αρ. Προϊόντος Z-2028-5/-20, ή Z-2099-20).

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

Ο ανιχνευτής προορίζεται να χρησιμοποιηθεί ως βοήθημα για τη διαφορική διάγνωση διαφόρων όγκων, και δεν θα πρέπει να ξεκινούν θεραπευτικά μέτρα με βάση μόνον το αποτέλεσμα της δοκιμής.

2. Αρχή της δοκιμής

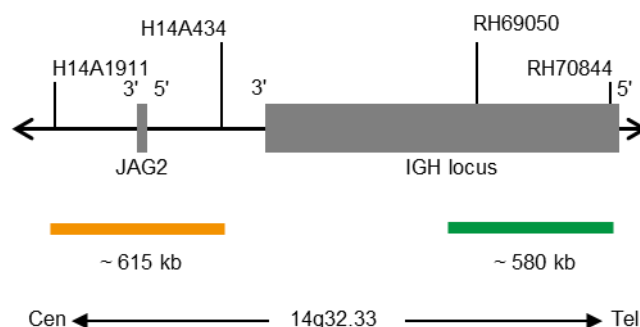
Η τεχνική *in situ* υβριδισμού φθορισμού (FISH) επιτρέπει την ανίχνευση και την οπτικοποίηση συγκεκριμένων αλληλουχιών νουκλεϊκών οξέων σε κυτταρικά παρασκευάσματα. Τα επισημασμένα με φθορισμό θραύσματα DNA, οι λεγόμενοι ανιχνευτές FISH (*in situ* υβριδισμού φθορισμού), και οι συμπληρωματικοί τους κλώνοι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

3. Παρεχόμενα αντιδραστήρια

Το ZytoLight SPEC IGH Dual Color Break Apart Probe αποτελείται από:

- Πολυνουκλεοτίδια σημασμένα με ZyGreen (διέγερση 503 nm/εκπομπή 528 nm) (~10 ng/μl), τα οποία στοχεύουν αλληλουχίες που χαρτογραφούνται στο 14q32.33* (chr14:106,690,778-107,268,412), απομακρυσμένα από την περιοχή του σημείου ρήξης IGH (βλ. Εικ. 1).
- Πολυνουκλεοτίδια σημασμένα με ZyOrange (διέγερση 547 nm/εκπομπή 572 nm) (~4,5 ng/μl), τα οποία στοχεύουν αλληλουχίες που χαρτογραφούνται στο 14q32.33* (chr14:105,296,741-105,909,611) κοντά στην περιοχή του σημείου ρήξης IGH (βλ. Εικ. 1).
- Ρυθμιστικό υβριδισμού με βάση το φορμαμίδιο

*σύμφωνα με την Εθνική Συνέλευση Ανθρώπινου Γονιδιώματος GRCh37/hg19



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

Ο ZytoLight SPEC IGH Dual Color Break Apart Probe διατίθεται σε δύο μεγέθη:

- Z-2110-50: 0,05 ml (5 αντιδράσεις των 10 μl η καθεμία)
- Z-2110-200: 0,2 ml (20 αντιδράσεις των 10 μl η καθεμία)

4. Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Δείγματα θετικών και αρνητικών μαρτύρων
- Υβριδιστής ή θερμαινόμενη πλάκα
- Υβριδιστής ή θάλαμος υγρασίας σε φούρνο υβριδισμού
- Χρονόμετρο
- Δοχεία ή λουτρά χρώσης
- Βαθμονομημένο θερμόμετρο
- Ρυθμιζόμενες πιπέτες (10 μl, 25 μl)
- Αιθανόλη ή αλκοόλη αντιδραστήριου
- Απιονισμένο ή απεσταγμένο νερό
- Καλυπτρίδες (22 mm x 22 mm, 24 mm x 60 mm)
- Ελαστικό τσιμεντοειδές, π.χ., Fixogum Rubber Cement (Αρ. Προϊόντος E-4005-50/-125) ή παρόμοιο
- Επαρκώς συντηρημένο μικροσκόπιο φθορισμού (400-1000x)
- Έλαιο εμβάπτισης εγκεκριμένο για μικροσκοπία φθορισμού
- Κατάλληλα σερ φίλτρων

Κυτταρολογικά Δείγματα

- ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit (Αρ. Προϊόντος Z-2099-20)
- Πλακίδια μικροσκοπίου, χωρίς επίστρωση
- Υδατόλουτρο (70 °C)
- 37% φορμαλδεΰδη, χωρίς οξέα, ή 10% φορμαλίνη, ουδέτερα ρυθμισμένη
- 2x αλατούχο διάλυμα κιτρικού νατρίου (SSC), π.χ., από 20x SSC Solution (Αρ. Προϊόντος WB-0003-50)

Δείγματα FFPE (σταθεροποιημένα σε φορμαλίνη και ενσωματωμένα σε παραφίνη)

- ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit (Αρ. Προϊόντος Z-2028-5/-20)
- Πλακίδια μικροσκοπίου, θετικά φορτισμένα
- Υδατόλουτρο (37 °C, 98 °C)
- Ξυλάνιο

5. Αποθήκευση και χειρισμός

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

6. Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

- Διαβάστε τις οδηγίες χρήσης πριν από τη χρήση!
- Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης!
- Αυτό το προϊόν περιέχει ουσίες (σε χαμηλές συγκεντρώσεις και όγκους) που είναι επιβλαβείς για την υγεία και δυνητικά μολυσματικές. Αποφύγετε οποιαδήποτε άμεση επαφή με τα αντιδραστήρια. Λάβετε κατάλληλα προστατευτικά μέτρα (χρησιμοποιήστε γάντια μίας χρήσης, προστατευτικά γυαλιά και ρούχα εργαστηρίου)!
- Αναφέρετε κάθε σοβαρό περιστατικό που έχει συμβεί σχετικά με το προϊόν στον κατασκευαστή και την αρμόδια αρχή σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς!
- Εάν τα αντιδραστήρια έρθουν σε επαφή με το δέρμα, ξεπλύνετε αμέσως το δέρμα με άφθονη ποσότητα νερού!
- Κατόπιν αιτήματος διατίθεται για τον επαγγελματία χρήστη ένα δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού.
- Μην επαναχρησιμοποιείτε αντιδραστήρια, εκτός εάν η επαναχρησιμοποίηση επιτρέπεται ρητά!
- Αποφύγετε τη διασταυρούμενη μόλυνση των δειγμάτων, καθώς αυτό μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα.
- Ο ανιχνευτής δεν πρέπει να εκτίθεται στο φως, ιδιαίτερα σε δυνατό φως, για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, δηλαδή όλα τα βήματα θα πρέπει να εκτελούνται, όπου είναι δυνατόν, στο σκοτάδι ή/και χρησιμοποιώντας φωτοστεγή δοχεία.

Δηλώσεις επικινδυνότητας και προφύλαξης:

Το συστατικό που καθορίζει τον κίνδυνο είναι το φορμαμίδιο.



Κίνδυνος

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

7. Περιορισμοί

- Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
- Μόνο για επαγγελματική χρήση.
- Μόνο για μη αυτοματοποιημένη χρήση.
- Η αναλυτική κανονική αποκοπή για το μη κανονικό μοτίβο σήματος ενδιαφέροντος θα πρέπει να καθορίζεται από έναν ειδικευμένο παθολογοανατόμο/γενετιστή.
- Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε θετικής χρώσης ή απουσίας της πρέπει να γίνεται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού, της μορφολογίας, άλλων ιστοπαθολογικών κριτηρίων καθώς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων. Είναι ευθύνη ενός ειδικευμένου παθολογοανατόμου/γενετιστή να είναι εξοικειωμένος με τους

ανιχνευτές FISH (*in situ* υβριδισμού φθορισμού), τα αντιδραστήρια, τα διαγνωστικά πάνελ και τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του χρωματισμένου παρασκευάσματος. Η χρώση πρέπει να πραγματοποιείται σε πιστοποιημένο, αδειοδοτημένο εργαστήριο υπό την επίβλεψη παθολογοανατόμου/γενετιστή που είναι υπεύθυνος για την επισκόπηση των χρωματισμένων πλακιδίων και τη διασφάλιση της επάρκειας των θετικών και αρνητικών μαρτύρων.

- Η χρώση του δείγματος, ειδικότερα η ένταση του σήματος και η χρώση του υποβάθρου, εξαρτώνται από τον χειρισμό και την επεξεργασία του δείγματος πριν από τη χρώση. Η ακατάλληλη στερέωση, ψύξη, απόψυξη, το πλύσιμο, στέγνωμα, η θέρμανση, τμήση ή μόλυνση με άλλα δείγματα ή υγρά μπορεί να προκαλέσουν τεχνουργήματα ή ψευδή αποτελέσματα. Ασυνεπή αποτελέσματα μπορεί να προκύψουν από διακυμάνσεις στις μεθόδους στερέωσης και ενσωμάτωσης, καθώς και από εγγενείς ανωμαλίες εντός του δείγματος.
- Ο ανιχνευτής θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνον για την ανίχνευση τόπων που περιγράφονται στο κεφάλαιο 3. «Παρεχόμενα αντιδραστήρια».
- Η απόδοση επικυρώθηκε, χρησιμοποιώντας τις διαδικασίες που περιγράφονται σε αυτές τις οδηγίες χρήσης. Τροποποιήσεις σε αυτές τις διαδικασίες ενδέχεται να αλλάζουν την απόδοση και πρέπει να επικυρωθούν από τον χρήστη. Αυτό το IVD (*in vitro* διαγνωστικό) προϊόν είναι πιστοποιημένο ως CE, μόνον όταν χρησιμοποιείται όπως περιγράφεται σε αυτές τις οδηγίες χρήσης εντός του πεδίου της προβλεπόμενης χρήσης.

8. Παρεμβάλλουσες ουσίες

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

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

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

9. Προετοιμασία δειγμάτων

Προετοιμάστε τα δείγματα, όπως περιγράφεται στις οδηγίες χρήσης του αντίστοιχου ZytoVision implementation kit.

10. Προπαρασκευαστική επεξεργασία της συσκευής

Το προϊόν είναι έτοιμο για χρήση. Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμειξη ή αραίωση. Φέρτε τον ανιχνευτή σε θερμοκρασία δωματίου (18-25 °C) πριν από τη χρήση, προστατέψτε τον από το φως. Πριν ανοίξετε το φιαλίδιο, αναμειξτε το με στροβιλισμό και περιστρέψτε το για λίγο προς τα κάτω.

11. Διαδικασία ανάλυσης

Κυτταρολογικά Δείγματα

Προεπεξεργασία δείγματος

Εκτελέστε την προεπεξεργασία του δείγματος σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης του ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit.

Μετουσίωση και υβριδισμός

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

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

3. Τοποθετήστε τα πλακίδια σε θερμή πλάκα ή υβριδιστή και μετουσιώστε τα δείγματα για 5 λεπτά στους 72 °C.

4. Μεταφέρετε το πλακίδιο σε θάλαμο υγρασίας και υβριδοποιήστε όλη τη νύχτα στους 37 °C (π.χ. σε φούρνο υβριδισμού).

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

Μετα-υβριδισμός

Εκτελέστε διαδικασία μετα-υβριδισμού (πλύση, αντιχρώση, μικροσκοπία φθορισμού), σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης του [ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit](#).

Δείγματα FFPE (σταθεροποιημένα σε φορμαλίνη και ενσωματωμένα σε Παραφίνη)

Προεπεξεργασία δείγματος

Εκτελέστε την προεπεξεργασία του δείγματος (αποκλήρωση, πρωτεόλυση) σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης του [ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit](#).

Μετουσίωση και υβριδισμός

- Μεταφέρετε με πιπέττα 10 µl περιεχομένου του ανιχνευτή σε κάθε προεπεξεργασμένο δείγμα.
 - Καλύψτε τα δείγματα με καλυπτρίδα 22 mm x 22 mm (αποφύγετε τις παγιδευμένες φυσαλίδες) και σφραγίστε την καλυπτρίδα.
- Συνιστούμε τη χρήση ελαστικού τσιμεντοειδούς (π.χ. *Fixogum*) για τη σφράγιση.
- Τοποθετήστε τα πλακίδια σε θερμή πλάκα ή υβριδιστή και μετουσιώστε τα δείγματα για 10 λεπτά στους 75 °C.
 - Μεταφέρετε τα πλακίδια σε θάλαμο υγρασίας και υβριδοποιήστε όλη τη νύχτα στους 37 °C (π.χ. σε φούρνο υβριδισμού).

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

Μετα-υβριδισμός

Εκτελέστε διαδικασία μετα-υβριδισμού (πλύση, αντιχρώση, μικροσκοπία φθορισμού), σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης του [ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit](#).

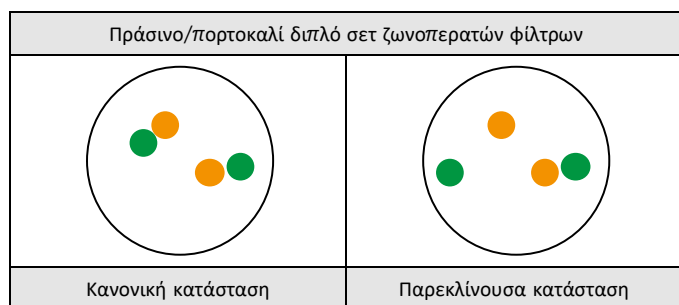
12. Ερμηνεία αποτελεσμάτων

Με τη χρήση κατάλληλων σετ φίλτρων, τα σήματα υβριδισμού του ανιχνευτή εμφανίζονται πράσινα (απομακρυσμένα από την περιοχή του σημείου ρήξης IGH) και πορτοκαλί (εγγύς της περιοχής του σημείου ρήξης IGH).

Κανονική κατάσταση: Στις ενδιάμεσες φάσεις φυσιολογικών κυττάρων ή κυττάρων χωρίς μετατόπιση που περιλαμβάνει τον τόπο IGH, εμφανίζονται δύο πράσινα/πορτοκαλί σήματα σύντηξης (βλ. Εικ. 2).

Μη κανονική κατάσταση: Ένας τόπος IGH που επηρεάζεται από μια μετατόπιση υποδεικνύεται από ένα ξεχωριστό πράσινο και ένα ξεχωριστό πορτοκαλί σήμα (βλ. Εικ. 2).

Τα επκαλυπτόμενα σήματα μπορεί να εμφανίζονται ως κίτρινα σήματα.



Εικ. 2: Αναμενόμενα αποτελέσματα σε κανονικούς και αποκλίνοντες πυρήνες

Γονιδιωματικές ανωμαλίες που οφείλονται σε μικρές διαγραφές, διπλασιασμούς ή αναστροφές μπορεί να οδηγήσουν σε δυσδιάκριτα μοτίβα σήματος.

Λόγω των ομόλογων αλληλουχιών IGH στις 16p11.2 και 15q11.2, ενδέχεται να παρατηρηθούν αμυδρές διασταυρούμενες υβριδοποιήσεις.

Άλλα παρεκκλίνοντα μοτίβα σήματος μπορεί να οφείλονται σε πλήρη ή μερική απώλεια των γονιδίων IGHC ή IGHV, καθώς και σε κρυπτικές παρεμβολές σε άλλους τόπους. Επιπλέον, τα ατούσα ή μειωμένα πράσινα σήματα σε ένα ή και στα δύο αλληλόμορφα μπορεί να αντιπροσωπεύουν διαγραφές

γονιδίων IGHV που προκύπτουν από φυσιολογικό σωματικό ανασυνδυασμό V-D-J.

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

Παρακαλώ σημειώστε:

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

13. Συνιστώμενες διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου

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

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

Εξωτερικοί μάρτυρες: Επικυρωμένα δείγματα θετικών και αρνητικών μαρτύρων.

14. Χαρακτηριστικά απόδοσης

14.1 Κυτταρολογικά Δείγματα

Η απόδοση αξιολογήθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης του kit εφαρμογής [ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit](#).

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

14.2 Δείγματα FFPE

Η απόδοση αξιολογήθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης του kit εφαρμογής [ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit](#).

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

15. Απόρριψη

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

16. Αντιμετώπιση προβλημάτων

Οποιαδήποτε απόκλιση από τις οδηγίες λειτουργίας μπορεί να οδηγήσει σε κατώτερα αποτελέσματα χρώσης ή σε καθόλου χρώση. Ορισμένες από τις συμβουλές σε αυτήν την ενότητα ισχύουν μόνο όταν χρησιμοποιείτε το [ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit](#). Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στη διεύθυνση www.zytovision.com.



Αδύναμα σήματα ή καθόλου σήματα

| Πιθανή αιτία | Ενέργεια |
|--|---|
| Το δείγμα κυττάρου ή ιστού δεν έχει στερεωθεί σωστά | Βελτιστοποιήστε τον χρόνο στερέωσης και το σταθεροποιητικό ή εφαρμόστε ένα βήμα μετά τη στερέωση, όπως περιγράφεται στη «διαδικασία ανάλυσης» του εγχειριδίου του <u>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit</u> |
| Η πρωτεολυτική προεπεξεργασία δεν πραγματοποιήθηκε σωστά | Βελτιστοποιήστε τον χρόνο επώασης της πειψίνης, αυξήστε ή μειώστε εάν είναι απαραίτητο |
| Εξάτμιση ανιχνευτή | Όταν χρησιμοποιείτε υβριδιστή, είναι υποχρεωτική η χρήση των υγρών λωρίδων/γεμάτων με νερό δεξαμενών. Όταν χρησιμοποιείτε φούρνο υβριδισμού, απαιτείται η χρήση ενός θαλάμου υγρασίας. Επιπλέον, η καλυπτρίδα θα πρέπει να σφραγίζεται πλήρως, π.χ. με Fixogum, για να αποφευχθεί η ξήρανση του δείγματος κατά τον υβριδισμό. |
| Χρησιμοποιούνται ακατάλληλα σετ φίλτρων | Χρησιμοποιήστε σετ φίλτρων κατάλληλα για τα φθοροχρωματικά του ανιχνευτή. <i>Τα σετ φίλτρων τριπλής ζώνης παρέχουν λιγότερο φως σε σύγκριση με τα σετ φίλτρων μονής ή διπλής ζώνης. Κατά συνέπεια, τα σήματα μπορεί να φαίνονται πιο αμυδρά, εάν χρησιμοποιείτε αυτά τα σετ φίλτρων τριπλής ζώνης.</i> |

Διασταυρούμενα σήματα υβριδισμού· θορυβώδες υπόβαθρο

| Πιθανή αιτία | Ενέργεια |
|---|--|
| Ατελής αποκλήρωση | Χρησιμοποιήστε φρέσκα διαλύματα· ελέγξτε τη διάρκεια της αποκλήρωσης |
| Η πρωτεολυτική προεπεξεργασία είναι πολύ ισχυρή | Μειώστε τον χρόνο επώασης της πειψίνης |
| Τα πλακίδια ψύχονται σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τον υβριδισμό | Μεταφέρετε τα πλακίδια γρήγορα στους 37 °C |

Υποβαθμισμένη μορφολογία

| Πιθανή αιτία | Ενέργεια |
|--|---|
| Το δείγμα κυττάρου ή ιστού δεν έχει στερεωθεί σωστά | Βελτιστοποιήστε τον χρόνο στερέωσης και το σταθεροποιητικό ή εφαρμόστε ένα βήμα μετά τη στερέωση, όπως περιγράφεται στη «διαδικασία ανάλυσης» του εγχειριδίου του <u>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit</u> |
| Η πρωτεολυτική προεπεξεργασία δεν πραγματοποιήθηκε σωστά | Βελτιστοποιήστε τον χρόνο επώασης της πειψίνης, μειώστε εάν είναι απαραίτητο |
| Ανεπαρκές στέγνωμα πριν από την εφαρμογή του ανιχνευτή | Επεκτείνετε το στέγνωμα στον αέρα |

Αλληλεπικαλυπτόμενοι πυρήνες

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

Το δείγμα επιπλέει στο πλακίδιο

| Πιθανή αιτία | Ενέργεια |
|---|--|
| Η πρωτεολυτική προεπεξεργασία είναι πολύ ισχυρή | Μειώστε τον χρόνο επώασης της πειψίνης |

Αδύναμη αντίχρωση

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

17. Βιβλιογραφία

- Kievits T, et al. (1990) *Cytogenet Cell Genet* 53: 134-6.
- Wilkinson DG: *In Situ Hybridization, A Practical Approach*, Oxford University Press (1992) ISBN 0 19 963327 4.
- Wlodarska I, et al. (2007) *J Mol Diagn* 9: 47-54.
- Quintero-Rivera F, et al. (2009) *Cancer Genet and Cytogenet* 190: 33-9.

18. Αναθεώρηση



www.zytovision.com

Ανατρέξτε στη διεύθυνση www.zytovision.com για τις πιο πρόσφατες οδηγίες χρήσης καθώς και για οδηγίες χρήσης σε διάφορες γλώσσες.

Οι ειδικοί μας είναι πρόθυμοι να απαντήσουν στις ερωτήσεις σας. Επικοινωνήστε στη διεύθυνση helptech@zytovision.com Για τη σύνοψη της ασφάλειας και της απόδοσης, ανατρέξτε στη διεύθυνση www.zytovision.com.



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

Εμπορικά σήματα:

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