



ZytoLight

SPEC MYB/CEN 6 Dual Color Probe

REF Z-2281-50

5 (0.05 ml)

For the qualitative detection of deletions involving the human MYB gene and the detection of alpha-satellites of chromosome 6 by fluorescence *in situ* hybridization (FISH)



In vitro diagnostic medical device
according to EU directive 98/79/EC

1. Intended use

The ZytoLight SPEC MYB/CEN 6 Dual Color Probe (PL236) is intended to be used for the qualitative detection of deletions involving the human MYB gene and the detection of alpha-satellites of chromosome 6 in cytologic specimens such as leukaemic cells by fluorescence *in situ* hybridization (FISH). The probe is intended to be used in combination with the ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit (Prod. No. Z-2099-20).

Interpretation of the results must be made within the context of the patient's clinical history with respect to further clinical and pathologic data of the patient by a qualified pathologist.

2. Clinical relevance

The MYB (*v-myb* avian myeloblastosis viral oncogene homolog, a.k.a *c-myb*) gene encodes for a transcription factor which is primarily expressed in premature lymphoid and myeloid T-cells. Aberrations of 6q are the most commonly found chromosomal changes for different types of lymphoid neoplasms. Several major deletion regions have been detected on the long arm of chromosome 6, one of them is 6q23. 3-10% of chronic lymphocytic leukemia (CLL) cases have been shown to harbor structural aberrations in the chromosomal region 6q. Deletions of MYB often occur as secondary changes indicating disease progression. CLL patients presenting a 6q23 deletion seem to exhibit a more favorable prognosis than patients with 11q23.3 and 17p13 deletions. However, the prognostic relevance of 6q deletions in CLL is still controversially discussed.

Since conventional cytogenetic methods often miss alterations in CLL, investigation by molecular cytogenetic methods such as fluorescence *in situ* hybridization (FISH) may be of diagnostic and prognostic relevance.

3. Test principle

The fluorescence *in situ* hybridization (FISH) technique allows for the detection and visualization of specific nucleic acid sequences in cell preparations. Fluorescently-labeled DNA fragments, so called FISH probes, and their complementary target DNA strands in the preparations are co-denatured and subsequently allowed to anneal during hybridization. Afterwards, unspecific and unbound probe fragments are removed by stringency washing steps. After counterstaining the DNA with DAPI, hybridized probe fragments are visualized using a fluorescence microscope equipped with excitation and emission filters specific for the fluorochromes with which the FISH probe fragments have been directly labeled.

4. Reagents provided

The ZytoLight SPEC MYB/CEN 6 Dual Color Probe is composed of:

- ZyOrange (excitation 547 nm/emission at 572 nm) labeled polynucleotides (~4.5 ng/ μ l), which target sequences mapping in 6q23.2-q23.3* (chr6:135,141,227-135,715,246) covering the MYB gene (see Fig. 1).
- ZyGreen (excitation 503 nm/emission 528 nm) labeled polynucleotides (~4.5 ng/ μ l), which target sequences mapping in 6p11.1-q11.1** (D6Z1).
- Formamide based hybridization buffer

*according to Human Genome Assembly GRCh37/hg19

**according to Human Genome Assembly GRCh38/hg38

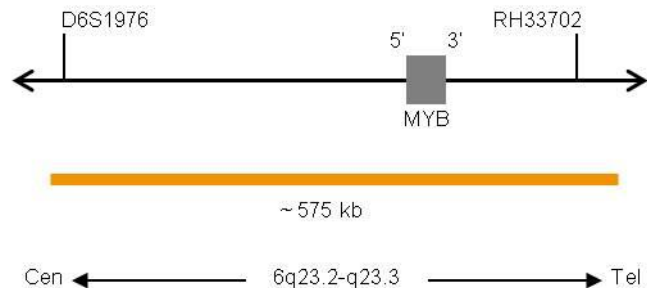


Fig. 1: SPEC MYB Probe map (not to scale)

The ZytoLight SPEC MYB/CEN 6 Dual Color Probe is available in one size:

- Z-2281-50: 0.05 ml (5 reactions of 10 μ l each)

5. Materials required but not provided

- ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit (Prod. No. Z-2099-20)
- Positive and negative control specimens
- Microscope slides, uncoated
- Water bath (70°C)
- Hybridizer or hot plate
- Hybridizer or humidity chamber in hybridization oven
- Adjustable pipettes (10 μ l, 25 μ l)
- Staining jars or baths
- Timer
- Calibrated thermometer
- Ethanol or reagent alcohol
- 37% formaldehyde, acid-free, or 10% formalin, neutrally buffered
- 2x Saline-Sodium Citrate (SSC), e.g., from 20x SSC Solution (Prod. No. WB-0003-50)
- Deionized or distilled water
- Coverslips (22 mm x 22 mm, 24 mm x 60 mm)
- Rubber cement, e.g., Fixogum Rubber Cement (Prod. No. E-4005-50/-125) or similar
- Adequately maintained fluorescence microscope (400-1000x)
- Immersion oil approved for fluorescence microscopy
- Appropriate filter sets

6. Storage and handling

Store at 2-8°C in an upright position protected from light. Use protected from light. Return to storage conditions immediately after use. Do not use reagents beyond expiry date indicated on the label. The product is stable until expiry date indicated on the label when handled accordingly.

7. Warnings and precautions

- Read the instruction for use prior to use!
- Do not use the reagents after the expiry date has been reached!
- This product contains substances (in low concentrations and volumes) that are harmful to health and potentially infectious. Avoid any direct contact with the reagents. Take appropriate protective measures (use disposable gloves, protective glasses, and lab garments)!
- If reagents come into contact with skin, rinse skin immediately with copious quantities of water!
- A material safety data sheet is available on request for the professional user.
- Do not reuse reagents.
- Avoid cross-contamination of samples as this may lead to erroneous results.
- The probe should not be exposed to light, especially strong light, for a longer period of time, i.e., all steps should be accomplished, where possible, in the dark and/or using lightproof containers!

Hazard and precautionary statements:

The hazard determining component is Formamide.



Danger

H351	Suspected of causing cancer.
H360FD	May damage fertility. May damage the unborn child.
H373	May cause damage to organs through prolonged or repeated exposure.
P201	Obtain special instructions before use.
P202	Do not handle until all safety precautions have been read and understood.
P260	Do not breathe dust/fume/gas/mist/vapours/spray.
P280	Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P308+P313	IF exposed or concerned: Get medical advice/attention.
P405	Store locked up.

8. Limitations

- For *in vitro* diagnostic use.
- For professional use only.
- The clinical interpretation of any positive staining, or its absence, must be done within the context of clinical history, morphology, other histopathological criteria as well as other diagnostic tests. It is the responsibility of a qualified pathologist to be familiar with the FISH probes, reagents, diagnostic panels, and methods used to produce the stained preparation. Staining must be performed in a certified, licensed laboratory under the supervision of a pathologist who is responsible for reviewing the stained slides and assuring the adequacy of positive and negative controls.
- Specimen staining, especially signal intensity and background staining, is dependent on the handling and processing of the specimen prior to staining. Improper fixation, freezing, thawing, washing, drying, heating, sectioning, or contamination with other specimens or fluids may produce artefacts or false results. Inconsistent results may result from variations in fixation and embedding methods, as well as from inherent irregularities within the specimen.
- The probe should be used only for detecting loci described in 4. "Reagents provided".
- The performance was validated using the procedures described in this instruction for use. Modifications to these procedures might alter the performance and have to be validated by the user.

9. Interfering substances

Red blood cells present in the specimen might exhibit autofluorescence which hinders signal recognition.

10. Preparation of specimens

Prepare specimens as described in the instructions for use of the [ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit](#).

11. Preparatory treatment of the device

The product is ready-to-use. No reconstitution, mixing, or dilution is required. Bring probe to room temperature (18-25°C) before use, protect from light. Prior to opening the vial, mix by vortexing and spin down briefly.

12. Assay procedure

Specimen pretreatment

Perform specimen pretreatment according to the instructions for use of the [ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit](#).

Denaturation and hybridization

1. Pipette 10 µl of the probe onto each pretreated specimen.
2. Cover specimens with a 22 mm x 22 mm coverslip (avoid trapped bubbles) and seal the coverslip.
We recommend using rubber cement (e.g., Fixogum) for sealing.
3. Place slides on a hot plate or hybridizer and denature specimens for 5 min at 72°C.
4. Transfer slides to a humidity chamber and hybridize overnight at 37°C (e.g., in a hybridization oven).

It is essential that specimens do not dry out during the hybridization step.

Post-hybridization

Perform post-hybridization processing (washing, counter-staining, fluorescence microscopy) according to the instructions for use of the [ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kits](#).

13. Interpretation of results

With the use of appropriate filter sets, the hybridization signals of the labeled MYB gene region appear orange and the signals of the labeled chromosomal region 6p11.1-q11.1 appear green.

Normal situation: In interphases of normal cells or cells without a deletion involving the 6q23.2-q23.3 band, two green and two orange signals appear (see Fig. 2).

Aberrant situation: In a cell with deletion of the MYB gene locus, one or no copy of the orange signal will be observed (see Fig. 2).

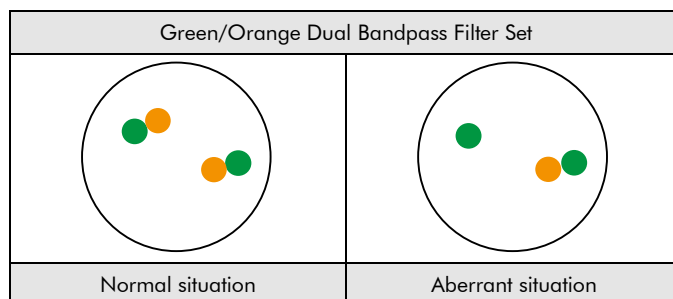


Fig. 2: Expected results in normal and aberrant nuclei

Other signal distribution may be observed in some abnormal samples which might result in a different signal pattern than described above, indicating variant rearrangements. Unexpected signal patterns should be further investigated.

Please note:

- Due to decondensed chromatin, single FISH signals can appear as small signal clusters. Thus, two or three signals of the same size, separated by a distance ≤ 1 signal diameter, should be counted as one signal.
- Do not evaluate overlapping nuclei.
- Do not count over-digested nuclei (recognized by dark areas visible inside of the nuclei).

- Do not count nuclei with strong auto-fluorescence, which hinders signal recognition.
- A negative or unspecific result can be caused by multiple factors (see chapter 17).
- In order to correctly interpret the results, the user must validate this product prior to use in diagnostic procedures according to national and/or international guidelines.

14. Recommended quality control procedures

In order to monitor correct performance of processed specimens and test reagents, each assay should be accompanied by internal and external controls. If internal and/or external controls fail to demonstrate appropriate staining, results with patient specimens must be considered invalid.

Internal control: Non-neoplastic cells within the specimen that exhibit normal signal pattern.

External control: Validated positive and negative control specimens.

15. Performance characteristics

Accuracy: The location of hybridization of the probe was evaluated on metaphase spreads of a karyotypically normal male. In all tested specimens the probe hybridized solely to the expected loci. No additional signals or cross-hybridizations were observed. Therefore, the accuracy was calculated to be 100%.

Analytical sensitivity: For the analytical sensitivity assessment, the probe was evaluated on metaphase spreads of karyotypically normal males. All nuclei showed the expected normal signal pattern in all tested specimens. Therefore, the analytical sensitivity was calculated to be 100%.

Analytical specificity: For the analytical specificity assessment, the probe was evaluated on metaphase spreads of karyotypically normal males. In all tested specimens, all signals hybridized solely to the expected target loci and no other loci. Therefore, the analytical specificity was calculated to be 100%.

16. Disposal

The disposal of reagents must be carried out in accordance with local regulations.

17. Troubleshooting

Any deviation from the operating instructions can lead to inferior staining results or to no staining at all.

Weak signals or no signals at all

Possible cause	Action
No target sequences available	Use appropriate controls
Proteolysis, denaturation, hybridization, or stringency wash temperature incorrect	Check temperature of all technical devices used, using a calibrated thermometer
Proteolytic pretreatment not carried out properly	Optimize pepsin incubation time, increase or decrease if necessary
Probe evaporation	When using a hybridizer, the use of the wet stripes/water filled tanks is mandatory. When using a hybridization oven, the use of a humidity chamber is required. In addition, the coverslip should be sealed completely, e.g., with Fixogum, to prevent drying-out of the sample during hybridization
Too low concentrated stringency wash buffer	Check concentration of stringency wash buffer
Old dehydration solutions	Prepare fresh dehydration solutions
Fluorescence microscope adjusted wrongly	Adjust correctly
Inappropriate filter sets used	Use filter sets appropriate for the fluochromes of the probe. <i>Triple-bandpass filter sets provide less light compared to single or dual-bandpass filter sets. Consequently, the signals may appear fainter using these triple-bandpass filter sets</i>
Photo-damage of the probes/fluorophores	Accomplish hybridization and washing steps in the dark

Cross hybridization signals; noisy background

Possible cause	Action
Proteolytic pretreatment too strong	Reduce pepsin incubation time
Probe volume per area too high	Reduce probe volume per specimen/area, distribute probe dropwise to avoid local concentration
Slides cooled to room temperature before hybridization	Transfer the slides quickly to 37°C
Too high concentrated stringency wash buffer	Check concentration of stringency wash buffer
Washing temperature following hybridization too low	Check temperature; increase if necessary
Dehydration of specimens between the individual incubation steps	Prevent dehydration by sealing the slides and performing incubation in a humid environment

Morphology degraded

Possible cause	Action
Proteolytic pretreatment not carried out properly	Optimize pepsin incubation time, increase or decrease if necessary
Insufficient drying before probe application	Extend air-drying

Weak counterstain

Possible cause	Action
Low concentrated DAPI solution	Use <u>DAPI/DuraTect-Solution (ultra)</u> (Prod. No. MT-0008-0.8) instead
DAPI incubation time too short	Adjust DAPI incubation time

18. Literature

- Döhner H, et al. (1999) *J Mol Med* 77: 266-81.
- Johansson B, et al. (1993) *Genes Chromosomes Cancer* 8: 205-18.
- Kievits T, et al. (1990) *Cytogenet Cell Genet* 53: 134-6.
- Stilgenbauer S, et al. (1999) *Leukemia* 13: 1331-4.
- Urbankova H, et al. (2014) *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 158: 56-64.
- Wang DM, et al. (2011) *Leuk Lymphoma* 52: 230-7.
- Wilkinson DG: *In Situ Hybridization, A Practical Approach*, Oxford University Press (1992) ISBN 0 19 963327

Our experts are available to answer your questions.
Please contact helptech@zytovision.com



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

Trademarks:

ZytoVision® and ZytoLight® are trademarks of ZytoVision GmbH.



ZytoLight SPEC MYB/CEN6 Dual Color Probe

REF Z-2281-50

5 (0.05 ml)

Per l'analisi qualitativa della delezione del gene umano MYB e delle regione alfa satellite del cromosoma 6 mediante ibridazione in situ fluorescente

(FISH)



Dispositivo medico diagnostic in vitro
secondo la direttiva EU 98/79/CE

1. Utilizzo previsto

La ZytoLight SPEC MYB/CEN6 Dual Color Probe (PL236) è da utilizzare per l'analisi qualitativa della delezione del gene MYB e per l'analisi della regione alfa satellite del cromosoma 6 in campioni citologici come cellule leucemiche mediante ibridazione in situ fluorescente (FISH). La sonda viene utilizzata in combinazione con il kit ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit (Prod. No. Z-2099-20).

L'interpretazione dei risultati deve essere effettuata da un patologo qualificato all'interno del contest della storia clinica del paziente con il rispetto di ulteriori dati clinici e patologici.

2. Rilevanza clinica

Il gene MYB ((v-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog, a.k.a c-myb) codifica per un fattore di trascrizione che è principalmente espresso in prematuro linfoidi e cellule T mieloidi. Le aberrazioni di 6q sono le alterazioni cromosomiche più comunemente riscontrate per diversi tipi di neoplasie linfoidi. Diverse regioni di delezione maggiori sono state rilevate sul braccio lungo del cromosoma 6, uno di questi è 6q23. È stato dimostrato che il 3-10% dei casi di leucemia linfatica cronica (CLL) presenta aberrazioni strutturali nella regione cromosomica 6q. Le delezioni di MYB si presentano spesso come cambiamenti secondari che indicano la progressione della malattia. I pazienti con CLL che presentano una delezione 6q23 sembrano presentare una prognosi più favorevole rispetto ai pazienti con delezioni 11q23.3 e 17p13. Tuttavia, la rilevanza prognostica delle delezioni 6q nella LLC è ancora discussa in modo controverso.

Poiché i metodi citogenetici convenzionali spesso mancano di alterazioni nella LLC, l'indagine mediante metodi citogenetici molecolari come l'ibridazione in situ fluorescente (FISH) può avere rilevanza diagnostica e prognostica.

3. Principio della metodica

La tecnica di ibridazione in situ fluorescente (FISH) permette di identificare e visualizzare sequenze specifiche di acidi nucleici in preparazioni cellulari. Frammenti di DNA marcati con fluorocromi, chiamati sonde FISH, e i loro filamenti di DNA complementare nel preparato sono co-denaturati e successivamente appaiati durante la fase di ibridazione. Successivamente, frammenti di sonda non specifici e non legati dopo il DNA con DAPI, i frammenti di sonda ibridizzati sono visualizzati utilizzando un microscopio a fluorescenza dotato di filtri specifici per

l'eccitazione e l'emissione per i fluorocromi con i quali i frammenti di sonda FISH sono stati marcati direttamente.

4. Reagenti forniti

La ZytoLight SPEC MYB/CEN6 Dual Color Probe è composta da:

- Polinucleotidi marcati con ZyGreen (eccitazione 503 nm/emissione 528 nm) (4.5 ng/μl), che identificano la sequenza che identificano la regione 6p11.1-q11.1** (D6Z1)
- Polinucleotidi marcati con ZyOrange (eccitazione 547 nm/emissione 572 nm) (4.5 ng/μl), che identificano la regione 6q23.2-q23.3* (chr6:135,141,227-135,715,246) che contiene il gene MYB (Fig. 1).
- Buffer di ibridazione a base di Formamide

*secondo il Human Genome Assembly GRCh37/hg19

** secondo il Human Genome Assembly GRCh38/hg38

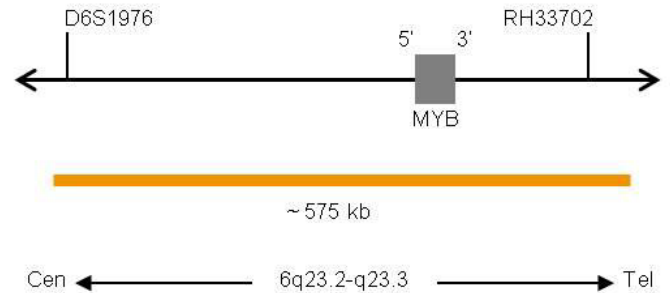


Fig. 1: mappa della sonda MYB (non in scala)

La ZytoLight SPEC MYB/CEN6 Dual Color Probe è disponibile nei formati:

- Z-2281-50: 0.05 ml (5 reazioni da 10 μl per test)

5. Materiali richiesti ma non forniti

- ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit (Prod. No. Z-2099-20)
- Campioni di controllo positive e negativo
- Vetrini per microscopia, non rivestiti
- Bagnetto termostato (70°C)
- Ibrizzatore o piastra calda
- Ibrizzatore in camera umida in stufa da ibridazione
- Pipette regolabili (10 μl, 25 μl)
- Staining jars
- Timer
- Termometro calibrato
- Etanolo o reagenti alcolici
- Formaldeide 37% o formalina neutral tamponata 10%
- SSC 2X (e.g. SSC 20X Solution)
- Acqua deionizzata o distillata
- Vetrini coprioggetto (22 mm x 22 mm, 24 mm x 60 mm)
- Colla per vetrini, e.g., Fixoquum Rubber Cement (Prod. No. E-4005-50/-125) o simili
- Microscopio a fluorescenza (400-1000x)
- Olio a immersione per fluorescenza
- Set di filtri appropriato

6. Conservazione

Conservare a 2-8°C in posizione verticale protetta dalla luce. Usare protetta dalla luce. Riportare in condizioni di conservazione immediatamente dopo l'utilizzo. Non usare i reagenti dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta. Se utilizzato correttamente, il prodotto è stabile fino alla data di scadenza indicate sull'etichetta.

7. Precauzioni

- Leggere le istruzioni prima dell'uso!
- Non usare i reagenti dopo il raggiungimento della data di scadenza!
- Questo prodotto contiene sostanze (a bassa concentrazione e volumi) che sono dannose per la salute e potenzialmente infette. Evitare qualsiasi contatto diretto con i reagenti. Prendere le appropriate misure (usare i guanti, occhiali protettivi e indumenti da laboratorio)!
- Se i reagenti entrano in contatto con la pelle, lavare la pelle immediatamente con grandi quantità di acqua!
- La scheda di sicurezza è disponibile su richiesta dell'utilizzatore.
- Non ri-utilizzare i reagenti.
- Evitare cross-contaminazioni di campioni in quanto potrebbero causare risultati alterati.
- La sonda non dovrebbe essere esposta alla luce, specialmente se si tratta di luce intensa, per lunghi periodi di tempo, i.e., tutti i passaggi dovrebbero essere condotti, dove è possibile, in un contenitore scuro!

Frazi di pericolo e prudenza:

Il componente che determina pericolo è la Formamide.



Pericolo

H351	Sospettato di provocare il cancro.
H360FD	Può danneggiare la fertilità. Può nocere al feto.
H373	Può provocare danni agli organi In caso di esposizione prolungata o ripetuta.
P201	Otteni istruzioni speciali prima dell'uso.
P202	Non maneggiare fino a quando le precauzioni di sicurezza sono state lette e capite.
P260	Non respirare polvere / fumi / gas / vapori / spray.
P280	Indossare guanti protettivi / indumenti protettivi / protezione degli occhi / protezione del viso.
P308+P313	IF esposto o interessato: Consultare un medico / attenzione..
P405	Conservare chiuso.

8. Limitazioni

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Per solo uso professionale..
- L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione positiva, o assenza di segnale, deve essere condotta da un patologo qualificato all'interno della storia clinica del paziente, morfologia, altri criteri istopatologici e test diagnostici. È responsabilità del patologo qualificato avere familiarità con le sonde FISH, reagenti, pannelli diagnostici e metodi usati per produrre il preparato. LA colorazione deve essere effettuata in un laboratorio certificato e con licenze sotto la supervisione di un patologo che è responsabile della valutazione dei vetrini edell'adeguatezza dei controlli positive e negative.
- Il campione colorato, in particolar modo l'intensità del segnale e il rumore e di fondo, dipendono dalla processazione del campione prima della colorazione. La fissazione impropria, il congelamento, lo scongelamento, il lavaggio, l'asciugatura, il riscaldamento, il sezionamento o la contaminazione con un altro campione o fluido può produrre artefatti risultati falsi. Risultati inconsistenti possono essere il risultato di variazioni di metodi di fissazione e inclusione.
- La sonda dovrebbe essere usata per identificare i loci descritti nella sezione 4. "Reagenti forniti".
- The performance è stata validate usando le procedure descritte nelle istruzioni d'uso. Modifiche di queste procedure possono alterare la performance e devono essere validate dell'utilizzatore.

9. Sostanze interferenti

I globuli rossi presenti nel campione possono esibire un'elevata autofluorescenza che disturba l'identificazione dei segnali.

10. Preparazione dei campioni

Preparare il campione come descritto nelle istruzioni per l'uso del kit [ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit](#).

11. Trattamento preparatorio del prodotto

Il prodotto è pronto all'uso. Non è richiesta nessuna risospensione, miscelazione o diluizione. Portare a temperatura ambiente la sonda (18-25°C) prima dell'uso, e proteggere dalla luce. Prima di aprire la vial, vortexare e centrifugare brevemente.

12. Procedura della metodica

Pre-trattamento del campione

Effettuare il pre-trattamento del campione secondo le istruzioni d'uso del kit [ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit](#).

Denaturazione e ibridazione

1. Pipettare 10 µl di sonda su ogni campione pre-trattato.
2. Coprire il campione con il vetrino coprioggetto di 22 mm x 22 mm (evitare di creare delle bolle) e fissare il vetrino.
Noi raccomandiamo di usare la colla per vetrini (e.g., Fixogum) per il fissaggio.
3. Posizionare il vetrino in una piastra calda o ibridizzatore e denaturare il campione per 5 min a 72°C.
4. Transferire il vetrino in una camera umida e ibridare a 37°C per tutta la notte (e.g., in una stufa da ibridazione).

È fondamentale che il campione non si asciughi durante la fase di ibridazione.

Post-ibridazione

Effettuare la fase di post-ibridazione (lavaggio, contro-colorazione, microscopia fluorescente) secondo le istruzioni d'uso del kit [ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit](#).

13. Interpretazione dei risultati

Con un uso di un appropriato set di filtri, i segnali di ibridazione per il gene MYB appaiono arancio e i segnali per la regione 6p11.1.-q11.1 appaiono Verdi.

Situazione normale: in interfasi di cellule o cellule normali senza delezioni della regione 6q23.2-q23.3, sono visibili due segnali Verdi e due segnali arancio (fig. 2)

Situazione aberrante: in una cellula con delezione del gene MYB, è visibile un solo segnale arancio o nessun segnale arancio (fig. 2).

La sovrapposizione dei segnali possono apparire come segnali gialli.

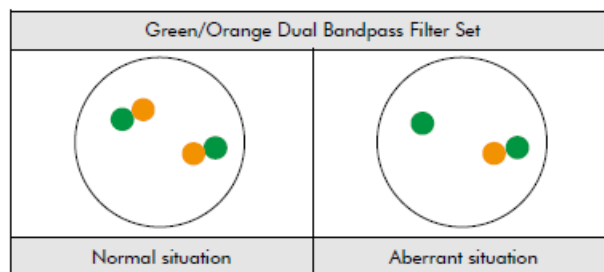


Fig. 2: Risultati attesi in situazione normale e aberrante.

Altri pattern di segnali possono essere osservati in campioni anormali che possono dare combinazioni di segnali differenti rispetto a quelli spradescritti. Pattern di segnali inattesi dovrebbero essere studiati/approfonditi ulteriormente.

Note:

- A causa della cromatina decondensata, il singolo segnale FISH può apparire come un piccolo cluster. Due o tre segnali della stessa misura, separate da una distanza ≤ 1 del diametro di un segnale, dovrebbero essere contati come un singolo segnale.

- Non valutare nuclei sovrapposti.
- Non contare nuclei over-digeriti (identificabili da una regione scura all'interno del nucleo).
- Non contare i nuclei con una forte autofluorescenza, che impedisce l'identificazione dei segnali.
- Un risultato negativo o inatteso può essere causato da fattori multipli (vedi capitolo 17).
- Al fine di una corretta interpretazione dei risultati, l'utilizzatore deve validare questo prodotto prima del suo utilizzo in procedure diagnostiche secondo le linee guida nazionali e internazionali.

14. Procedura di controllo qualità raccomandata

Al fine di monitorare la corretta performance del campione processato e testare i reagenti, ogni test dovrebbe essere associato a controlli interni e esterni. Se i controlli interni e/o esterni non forniscono colorazioni appropriate, i risultati con i campioni dei pazienti devono essere considerati non validi.

Controllo interno: Cellule non neoplastiche all'interno di un campione che mostra un pattern normale di segnali.

Controllo esterno: Campione di controllo positivo e negativo validato.

15. Caratteristiche di performance

Accuratezza: La localizzazione del segnale di ibridazione della sonda è stata valutata in metafasi di maschio con cariotipo normale. In tutti i campioni testati la sonda ibrida esclusivamente nei loci attesi. Non sono presenti segnali aggiuntivi e non sono osservate cross-reazioni. Di conseguenza, l'accuratezza è stata calcolata essere del 100%.

Sensibilità analitica: Per l'analisi della sensibilità analitica, la sonda è stata valutata su metafasi di cellule normali di maschio con cariotipo normale. Tutti i nuclei mostrano un pattern di segnale normale. Di conseguenza, la sensibilità analitica è stata calcolata essere del 100%.

Specificità analitica: Per l'analisi della specificità analitica, la sonda è stata valutata in metafasi di cellule di maschio con cariotipo normale. In tutti i campioni testati, tutti i segnali ibridizzano con i loci attesi. Di conseguenza, la specificità analitica è stata calcolata essere del 100%.

16. Smaltimento

Lo smaltimento dei reagenti deve avvenire in accordo alle regolamentazioni locali.

18. Letteratura

- Döhner H, et al. (1999) J Mol Med 77: 266-81.
- Johansson B, et al. (1993) Genes Chromosomes Cancer 8: 205-18.
- Kievits T, et al. (1990) Cytogenet Cell Genet 53: 134-6.
- Stilgenbauer S, et al. (1999) Leukemia 13: 1331-4.
- Urbankova H, et al. (2014) Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub 158: 56-64.
- Wang DM, et al. (2011) Leuk Lymphoma 52: 230-7.
- Wilkinson DG: In Situ Hybridization, A Practical Approach, Oxford University Press (1992) ISBN 0 19 963327

I nostril esperti sono a disposizione per rispondere alle vostre domande.

Contattare helptech@zytovision.com



ZytoVision GmbH
Fischkai 1
27572 Bremerhaven/ Germany
Telefono: +49 471 4832-300
Fax: +49 471 4832-509
www.zytovision.com
Email: info@zytovision.com

Trademarks:

ZytoVision® e ZytoLight® sono marchi di ZytoVision GmbH.