

Στοιχεία προϊόντος

Αρ. Κατ.	Περιγραφή
47863	ImPath ALK D/C Break Apart FISH

Προβλεπόμενη χρήση

Το προϊόν ImPath ALK D/C Break Apart FISH (αρ. κατ. 47863) προορίζεται για χρήση σε συνδυασμό με το ImPath ISH Detection Kit(αρ. κατ. 44996) για την ανίχνευση αναδιατάξεων του γονιδίου ALK στην περιοχή 2p23, σε δείγματα ιστού ή κυττάρων μονιμοποιημένων σε φορμαλδεΐδη και εγκλεισμένων σε παραφίνη με τεχνική φθορίζοντος in situ υβριδισμού (FISH) στη συσκευή χρώσης ImPath 36 (αρ. κατ. 43965).

Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων πρέπει να γίνεται μέσα στα πλαίσια του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και βάσει των περαιτέρω κλινικών και παθολογικών πληροφοριών από εξειδικευμένο παθολογοανατόμο.

Περίληψη και επεξήγηση

Το γονίδιο ALK (κινάση αναπλαστικού λεμφώματος επίσης γνωστό ως CD246) βρίσκεται στη χρωμοσωμιακή περιοχή 2p23 και κωδικοποιεί ένα διαμεμβρανικό υποδοχέα της κινάσης της τυροσίνης. Το γονίδιο αυτό συμμετέχει στη νεοπλασματογένεση μέσω σύντηξης με αρκετά συνεργαζόμενα γονίδια ή μεταλλαγμένο τόσο σε αιματολογικούς όσο και σε άλλους συμπαγείς όγκους.

Μεταθέσεις που επηρεάζουν τη θέση του γονιδίου ALK απαντώνται επίσης συχνά στο αναπλαστικό μεγαλοκυτταρικό λέμφωμα (ALCL), ένα επιθετικό τύπο μη-Hodgkin λεμφώματος που προέρχεται από τα T-λεμφοκύτταρα.

Η συχνότερα παρατηρούμενη μετάθεση t(2;5) έχει ως αποτέλεσμα τη σύντηξη του με το γονίδιο NPM1 (νουκλεοφωσμίνη, επίσης γνωστό ως πυρηνική φωσφοπρωτεΐνη B23 - νουματρίνη), που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 5q35. Επιπλέον, χρωμοσωμιακές αναστροφές που επηρεάζουν το γονίδιο ALK το οποίο εντοπίζεται στον μικρό βραχίονα του χρωμοσώματος 2 [inv(2)(p21p23)], παρατηρούνται συχνά σε μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (NSCLC) και οδηγούν στο σχηματισμό σύντηξης EML4-ALK.

Αρχές και διαδικασίες

Η παρουσία συγκεκριμένων αλληλουχιών νουκλεϊκού οξέος σε κυτταρολογικά υλικά ή ιστούς μπορεί να ανιχνευθεί με τεχνική φθορίζοντος in situ υβριδισμού (FISH), χρησιμοποιώντας ανιχνευτές DNA συνδεδεμένους με φθορίζουσες χρωστικές. Ο υβριδισμός έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας διπλής διάταξης αλληλουχιών του δείγματος και του συγκεκριμένου ανιχνευτή, η οποία μπορεί να παρατηρηθεί μέσω ενός μικροσκοπίου φθορισμού και με τη χρήση των κατάλληλων φίλτρων.

Το προϊόν ImPath ALK D/C Break Apart FISH περιέχει πολυνουκλεοτίδια με πράσινη σήμανση (διέγερση στα 503 nm και εκπομπή στα 528 nm, παρόμοιο με το FITC), τα οποία στοχεύουν τις αλληλουχίες που εντοπίζονται στο 2p23 κοντά στην περιοχή διάσπασης του ALK και πολυνουκλεοτίδια με πορτοκαλί σήμανση (διέγερση στα 547 nm και εκπομπή στα 572 nm, παρόμοια με τη ροδαμίνη), τα οποία στοχεύουν τις αλληλουχίες που εντοπίζονται στο 2p23 μακριά από την περιοχή διάσπασης του ALK.

Η δημιουργία διπλής διάταξης ανιχνευτών με φθορίζουσα σύμανση μπορεί να παρατηρηθεί μέσω ενός μικροσκοπίου φθορισμού και με τη χρήση των κατάλληλων φίλτρων.



42 life sciences GmbH & Co. KG
Fischkai 1
27572 Bremerhaven
Γερμανία

3 Νοέμβριος 2015
EL REV 1.2

Διανέμεται από την: A.Menarini
Diagnostics S.r.l. Via Sette Santi,
3
50131 Firenze
Ιταλία



In vitro διαγνωστική ιατρική
συσκευή
Σύμφωνα με τον κανονισμό της
Ε.Ε.
98/79/EK

Υλικά και Μέθοδοι

Αντιδραστήρια που παρέχονται

Το αναφερόμενο προϊόν είναι ένας έτοιμος προς χρήση ανιχνευτής FISH μέσα σε φιαλίδιο που χρησιμοποιείται με τη συσκευή ImPath 36. Το φιαλίδιο διαθέτει μια ετικέτα RFID η οποία διαβάζεται από τη συσκευή χρώσης ImPath 36 για να παρέχει συγκεκριμένες πληροφορίες για το προϊόν και την παρτίδα.

Ανασύσταση, Ανάμειξη, Αραίωση

Το προϊόν είναι έτοιμο προς χρήση. Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμειξη ή αραίωση.

Οι διαφορές στην επεξεργασία των ιστών και στις τεχνικές εργαστηριακές διαδικασίες μπορεί να προκαλέσουν σημαντικές διαφορές στα αποτελέσματα και συνεπώς απαιτούν τακτική χρήση ελέγχων. (Βλέπε ενότητα Διαδικασιών Ποιοτικού Ελέγχου)

Απαραίτητα υλικά και αντιδραστήρια που δεν παρέχονται

Τα ακόλουθα αντιδραστήρια και υλικά ενδέχεται να είναι απαραίτητα για χρώση αλλά δεν παρέχονται με τον ανιχνευτή FISH.

1. Θετικός και αρνητικός ιστολογικός μάρτυρας.
2. Αντικειμενοφόρες πλάκες μικροσκοπίου, θετικά φορτισμένες.
3. Κλίβανος ξήρανσης ικανός να διατηρήσει τη θερμοκρασία στους 50-60 °C.
4. Δοχεία ή σταθμοί χρώσης.
5. Χρονόμετρο.
6. Αιθανόλη ή διάλυμα οινόπνεύματος.
7. ImPath ISH Detection Kit(αρ. κατ. 44996).
8. DAPI/Antifade*
9. Καλυπτρίδες.
10. Μικροσκόπιο φθορισμού (400-1000x).
11. Κατάλληλα σετ φίλτρων.

*Συνιστώμενο για χρήση: ImPath DAPI (αρ. κατ. 47861)

Φύλαξη και χειρισμός

Το προϊόν φυλάσσεται στους 2-8 °C σε όρθια θέση. Να φυλάσσεται μακριά από το φως. Πριν ανοίξετε το φιαλίδιο, ανακινήστε το.

Για να διασφαλίσετε την ορθή παράδοση του αντιδραστήριου και τη σταθερότητα του ανιχνευτή FISH, το αντιδραστήριο πρέπει να επιστρέφει στις προαναφερθείσες συνθήκες φύλαξης αμέσως μετά τη χρήση.

Όταν φυλάσσεται κατάλληλα, το αντιδραστήριο παραμένει σταθερό μέχρι την ημερομηνία που αναγράφεται στην ετικέτα. Μην χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης για την περιγραφείσα μέθοδο φύλαξης.

Συλλογή δειγμάτων και προετοιμασία για ανάλυση

Αυτός ο ανιχνευτής FISH είναι κατάλληλος για χρήση σε επεξεργασμένους ιστούς μονιμοποιημένους σε ουδέτερο διάλυμα φορμαλδεΐδης και εγκλεισμένους σε παραφίνη. Το προτεινόμενο μονιμοποιητικό ιστού είναι ουδέτερο ρυθμιστικό διάλυμα φορμαλδεΐδης 10%.

Κάθε τομή του υλικού πρέπει να κόβεται στο κατάλληλο πάχος (περίπου 3-5 μm) και να τοποθετείται σε μια θετικά φορτισμένη γυάλινη αντικειμενοφόρο πλάκα. Οι αντικειμενοφόρες πλάκες που φέρουν το τμήμα του ιστού πρέπει να επωάζονται για τουλάχιστον 2 ώρες (αλλά όχι περισσότερο από 16 ώρες) σε κλίβανο στους 50-60 °C.

Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

1. Να παίρνετε κατάλληλες προφυλάξεις κατά τον χειρισμό των αντιδραστηρίων. Να χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και εργαστηριακές ρόμπες κατά τον χειρισμό πιθανών καρκινογόνων ή τοξικών υλικών.
2. Να αποφεύγετε την επαφή των αντιδραστηρίων με τα μάτια και τους βλεννογόνους. Εάν τα αντιδραστήρια έρθουν σε επαφή με ευαίσθητα σημεία του σώματος, ξεπλύνετε με άφθονη ποσότητα νερού.
3. Να διαχειρίζεστε τα δείγματα ιστού και κυττάρων και όλα τα υλικά που έρχονται σε επαφή με αυτά ως βιολογικά επικίνδυνα υλικά και να τα απορρίπτετε λαμβάνοντας τις κατάλληλες προφυλάξεις. Απαγορεύεται η αναρρόφηση με πιπέτα από το στόμα.
4. Να αποφεύγετε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, καθώς αυτή θα μπορούσε να προκαλέσει λανθασμένα αποτελέσματα.
5. Ο χρήστης πρέπει να βελτιστοποιεί τους χρόνους και τις θερμοκρασίες επώασης του διαλύματος Πεψίνης.
6. Τα προαραιωμένα, έτοιμα για χρήση, αντιδραστήρια είναι πολύ καλά διαλυμένα και περαιτέρω αραιώση μπορεί να προκαλέσει απώλεια της ποιότητας της χρώσης.
7. Το προϊόν αυτό έχει ταξινομηθεί ως επικίνδυνη ουσία. Για περισσότερες πληροφορίες δείτε το αντίστοιχο δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού.
8. Ο χρήστης πρέπει να αξιολογεί τις συνθήκες φύλαξης εάν είναι διαφορετικές από αυτές που αναγράφονται στο ένθετο της συσκευασίας.
9. Όπως συμβαίνει με όλα τα προϊόντα που προέρχονται από βιολογικές πηγές, πρέπει να τηρούνται οι απαιτούμενες διαδικασίες χρήσης.

Οδηγίες χρήσης

Το προϊόν ImPath ALK D/C Break Apart FISH (αρ. κατ. 47863) προορίζεται να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με το ImPath ISH Detection Kit(αρ. κατ. 44996) στη συσκευή ImPath 36 (αρ. κατ. 43965).

Πρωτόκολλο ImPath ISH:

ImPath ISH Detection Kit(αρ. κατ.: 44996)

Στάδια πρωτοκόλλου:

Διαδικασία βήμα προς βήμα

1. Ακολουθήστε τις οδηγίες του ImPath 36 για ρύθμιση των αντιδραστηρίων στη χρήση με τη συσκευή..
2. Φορτώστε τις αντικειμενοφόρες πλάκες, τον ανιχνευτή FISH και το ImPath ISH Detection Kit στο ImPath 36 σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης της συσκευής.
Ρυθμίστε τον χρόνο πέψης της Πεψίνης σύμφωνα με τις συνθήκες που έχουν αξιολογηθεί εκ των προτέρων από τον χρήστη
3. Ξεκινήστε τη διαδικασία εκτέλεσης.
4. Όταν ολοκληρωθεί η εκτέλεση της χρώσης, αφαιρέστε τις αντικειμενοφόρες πλάκες από την συσκευή, αφυδατώστε την καθεμία με ανιούσα αιθανόλης 70%, 90% και 100% για 1 λεπτό.
5. Στεγνώστε στον αέρα τα δείγματα σε σκοτεινό περιβάλλον.
6. Επώαση με διάλυμα DAPI/Antifade (συνιστάται η χρήση του ImPath DAPI (αρ. κατ. 47861)). Καλύψτε με μια καλυπτρίδα και σε σκοτεινό περιβάλλον για 15 λεπτά.
7. φυλάξτε τις αντικειμενοφόρες πλάκες σε σκοτεινό περιβάλλον στους 2-8 °C.

Διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου

Θετικός ιστολογικός μάρτυρας

Σε κάθε διαδικασία χρώσης για την αξιολόγησή της πρέπει να υπάρχει πάντα θετικός ιστολογικός μάρτυρας. Ο ιστός μπορεί να περιέχει αναδιατεταγμένες (θετικά) και μη-αναδιατεταγμένες (αρνητικά) χρώσεις κυτταρικών πυρήνων και να χρησιμεύει τόσο ως θετικός όσο και ως αρνητικός μάρτυρας.

Γνωστοί θετικοί ιστολογικοί μάρτυρες πρέπει να χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της σωστής επεξεργασίας των ιστών και των αντιδραστηρίων κατά την εκτέλεση της δοκιμασίας και όχι ως βοήθημα για τον καθορισμό συγκεκριμένης διάγνωσης στα δείγματα του ασθενούς.

Εάν οι θετικοί ιστολογικοί μάρτυρες δεν εμφανίζουν την αναμενόμενη θετική χρώση, τα αποτελέσματα για τα δείγματα του ασθενούς πρέπει να θεωρούνται ως μη έγκυρα.

Αρνητικός ιστολογικός μάρτυρας

Ο ίδιος ιστός που χρησιμοποιείται ως θετικός ιστολογικός μάρτυρας μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως αρνητικός ιστολογικός μάρτυρας.

Τα μη νεοπλασματικά κύτταρα στην αντικειμενοφόρο πλάκα/στο δείγμα του όγκου, όπως π.χ. ινοβλάστες, επιθηλιακά κύτταρα ή/και λεμφοκύτταρα, αναγνωρίζονται ως εσωτερικοί αρνητικοί ιστολογικοί μάρτυρες. Εάν αυτά τα κύτταρα δεν εμφανίζουν την αναμενόμενη χρώση, τα αποτελέσματα για τα αντίστοιχα δείγματα πρέπει να θεωρούνται ως μη έγκυρα.

Ανεξήγητες διαφορές

Ανεξήγητες διαφορές σε ελέγχους πρέπει να αναφέρονται άμεσα στο τμήμα εξυπηρέτησης πελατών της A.Menarini Diagnostics. Εάν τα αποτελέσματα των ποιοτικών ελέγχων δεν πληρούν τις προδιαγραφές, τα αποτελέσματα των ασθενών δεν είναι έγκυρα. Ανατρέξτε στην ενότητα Αντιμετώπισης προβλημάτων στο παρόν ένθετο. Εντοπίστε και διορθώστε το πρόβλημα και στη συνέχεια επαναλάβετε όλη τη διαδικασία με τα δείγματα του ασθενούς.

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Με τη χρήση των κατάλληλων σετ φίλτρων, τα σήματα υβριδισμού της σημασμένης χρωμοσωμιακής περιοχής 2p23 εμφανίζονται πράσινα και πορτοκαλί. Στις ενδιάμεσες φάσεις φυσιολογικών κυττάρων ή κυττάρων χωρίς αναδιατάξεις στη ζώνη 2p23 εμφανίζονται δύο πράσινα/πορτοκαλί σήματα σύντηξης. Ένα μεμονωμένο πράσινο σήμα και ένα μεμονωμένο πορτοκαλί σήμα υποδεικνύουν μια θέση 2p23 με αναδιάταξη. Θα πρέπει να μην πραγματοποιείται αξιολόγηση αλληλοκαλυπτόμενων πυρήνων, ώστε να αποφευχθούν εσφαλμένα αποτελέσματα. Λόγω αποσυμπυκνωμένης χρωματίνης, τα μεμονωμένα σήματα FISH μπορεί να εμφανίζονται ως μικρά συσσωματώματα σημάτων. Επομένως, δύο ή τρία σήματα του ίδιου μεγέθους που έχουν απόσταση ίση ή μικρότερη από τη διάμετρο ενός σήματος πρέπει να υπολογίζονται ως ένα σήμα.

Τεχνικά προβλήματα, όπως ιστός στο όριο της αντικειμενοφόρου ή ιστός που έχει διασπασθεί ή έχει συμπιεσθεί πρέπει να μην αξιολογείται. Μην αξιολογείτε τον ιστό του ασθενούς εάν οι μάρτυρες δεν δίνουν τα αναμενόμενα αποτελέσματα. Απορρίψτε το αποτέλεσμα εάν παρουσιάζει ισχυρό σήμα αυτοφθορισμού. Η υπερβολική πέψη μπορεί να αναγνωριστεί από σκοτεινές περιοχές ορατές στο εσωτερικό του πυρήνα και πρέπει να αποκλείεται από την περαιτέρω αξιολόγηση.

Ενδέχεται να προκληθεί αρνητικό ή αόριστο αποτέλεσμα εξαιτίας πολλών παραγόντων (δείτε το κεφάλαιο Αντιμετώπισης προβλημάτων σε αυτό το ένθετο).

Περιορισμοί

1. Τα αντιδραστήρια προορίζονται για «επαγγελματική χρήση μόνο» καθώς η τεχνική φθορίζοντας in situ υβριδισμού είναι μια διαδικασία πολλαπλών βημάτων που απαιτεί εξειδικευμένη εκπαίδευση στην επιλογή των κατάλληλων αντιδραστηρίων και ιστών, στη μονιμοποίηση, επεξεργασία, προετοιμασία της αντικειμενοφόρου πλάκας FISH καθώς και στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων της χρώσης.
2. Μόνο για εργαστηριακή χρήση.
3. Για in vitro διαγνωστική χρήση.
4. Η χρώση του ιστού, ειδικότερα η ένταση του σήματος και η χρώση του υποστρώματος, εξαρτώνται από τον χειρισμό και την επεξεργασία του ιστού πριν από τη χρώση. Η εσφαλμένη μονιμοποίηση, ψύξη, απόψυξη, πλύση, ξήρανση, θέρμανση, κατάτμηση ή μόλυνση με άλλους ιστούς ή υγρά μπορεί να δημιουργήσει τεχνικά προβλήματα ή ψευδή αποτελέσματα. Μπορεί να προκύψουν αντιφατικά αποτελέσματα από διακυμάνσεις στις μεθόδους μονιμοποίησης και εγκλεισμού, καθώς και από εγγενείς ανωμαλίες εντός του ιστού.
5. Η υπερβολική ή ατελής αντίχρωση ενδέχεται να θέσει σε κίνδυνο την ορθή ερμηνεία των αποτελεσμάτων.
6. Η ποιότητα των σημάτων εξαρτάται από τη σωστή τοποθέτηση του ιστού στο κάτω μισό της αντικειμενοφόρου πλάκας. Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τη σωστή τοποθέτηση του ιστού επικοινωνήστε με τον εκπρόσωπο πωλήσεων της A.Menarini Diagnostics
7. Η κλινική ερμηνεία κάθε θετικής χρώσης, ή απουσίας αυτής, πρέπει να γίνεται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού, της μορφολογίας, άλλων ιστοπαθολογικών κριτηρίων όπως επίσης και διαγνωστικών δοκιμασιών. Αποτελεί ευθύνη του εξειδικευμένου παθολογοανατόμου να είναι εξοικειωμένος με τους ανιχνευτές FISH, τα αντιδραστήρια, τους διαγνωστικούς πίνακες και τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται κατά την προετοιμασία του υλικού προς χρώση. Η χρώση πρέπει να εκτελείται σε πιστοποιημένο, εξουσιοδοτημένο εργαστήριο υπό την επίβλεψη εξειδικευμένου παθολογοανατόμου, ο οποίος είναι υπεύθυνος για τον έλεγχο των αντικειμενοφόρων πλακών μετά τη χρώση και τη διασφάλιση της επάρκειας των θετικών και αρνητικών μαρτύρων.
8. Παρέχονται έτοιμοι για χρήση ανιχνευτές FISH και αντιδραστήρια σε βέλτιστη αραιώση για την ενδεικνυόμενη χρήση. Οποιαδήποτε απόκλιση από τις συνιστώμενες διαδικασίες της δοκιμασίας ενδέχεται να καταστήσει άκυρα τα αναμενόμενα αποτελέσματα. Πρέπει να εφαρμόζονται και να τεκμηριώνονται οι κατάλληλοι έλεγχοι. Οι χρήστες πρέπει σε κάθε περίπτωση να αναλαμβάνουν την ευθύνη της ερμηνείας των αποτελεσμάτων του ασθενούς.
9. Τα αντιδραστήρια μπορεί να παρουσιάσουν μη αναμενόμενες αντιδράσεις σε ιστούς που δεν έχουν αναλυθεί στο παρελθόν. Η πιθανότητα μη αναμενόμενων αποτελεσμάτων ακόμη και σε ομάδες ελεγμένων ιστών δεν μπορεί να αποκλειστεί εντελώς λόγω βιολογικών διακυμάνσεων σε νεοπλασμάτα ή σε άλλους παθολογικούς ιστούς. Επικοινωνήστε με το τμήμα εξυπηρέτησης πελατών της A.Menarini Diagnostics για οποιαδήποτε ύποπτη, τεκμηριωμένα μη αναμενόμενη αντίδραση.

Αναμενόμενα αποτελέσματα

Ο παρακάτω πίνακας παρουσιάζει την εκτίμηση έκφρασης του ανιχνευτή ImPath ALK D/C Break Apart FISH, που ανιχνεύεται με την συσκευή ImPath 36, σε σύγκριση με τη δια χειρός χρήση CE πιστοποιημένου ανιχνευτή σε ιστικό υλικό καρκινωμάτων του πνεύμονα και λεμφωμάτων μονιμοποιημένων σε ουδέτερη φορμαλδεΰδη και εγκλεισμένων σε παραφίνη. Για κάθε ιστό αξιολογούνται 100 κύτταρα. Το όριο αποκοπής θετικών κυττάρων ορίστηκε στο 15%.

		ImPath ALK D/C Break Apart FISH		
		Αρνητικό (λόγος <15%)	Θετικό (λόγος ≥15%)	Σύνολο
Μέθοδος Αναφοράς	Αρνητικό (λόγος <15%)	6	0	6
	Θετικό (λόγος ≥15%)	0	4	4
	Σύνολο	6	4	10

Ο ανιχνευτής ImPath ALK D/C Break Apart FISH παρέχει αντιστοιχία 100%, ακρίβεια 100% και ευαισθησία 100% όταν χρησιμοποιείται στη συσκευή ImPath 36.

Αντιμετώπιση προβλημάτων

1. Σε περίπτωση που παρατηρηθούν αδύναμα ή καθόλου σήματα, μπορεί η προηγηθείσα πρωτεολυτική επεξεργασία να μην έχει πραγματοποιηθεί σωστά και θα πρέπει να βελτιστοποιηθεί ο χρόνος επώασης με Πεψίνη.
2. Επιπλέον, ένα υπερβολικά αραιό διάλυμα έκπλυσης μπορεί να οδηγήσει σε αδύναμα σήματα. Κατά συνέπεια θα πρέπει να γίνεται έλεγχος της συγκέντρωσης του διαλύματος έκπλυσης.
3. Μια επιπλέον αιτία για χαμηλή ένταση σήματος μπορεί να είναι η λανθασμένη ρύθμιση του μικροσκοπίου φθορισμού. Βεβαιωθείτε ότι χρησιμοποιείτε ένα σωστά ρυθμισμένο και καλά συντηρημένο μικροσκόπιο φθορισμού με τα κατάλληλα σερ φίλτρων.
4. Μια πολύ δυνατή δέσμη φωτός κατά τη χρήση του ανιχνευτή ή των αντικειμενοφόρων πλακών μπορεί να αποτελέσει την αιτία για αδύναμα ή καθόλου σήματα. Ο χειρισμός του ανιχνευτή και των αντικειμενοφόρων πλακών μετά τη χρώση πρέπει να γίνεται μακριά από την άμεση ηλιακή ακτινοβολία.
5. Εάν προκύψουν σήματα διασταυρούμενου υβριδισμού ή ισχυρή χρώση υποστρώματος, πιθανώς να έχει προηγηθεί πολύ ισχυρή πρωτεολυτική επεξεργασία και ο χρόνος επώασης της Πεψίνης να πρέπει να βελτιστοποιηθεί.
6. Επιπλέον, ένα πολύ υψηλής συγκέντρωσης διάλυμα έκπλυσης μπορεί να προκαλέσει διασταυρούμενο υβριδισμό ή ισχυρή χρώση υποστρώματος. Κατά συνέπεια θα πρέπει να γίνεται έλεγχος της συγκέντρωσης του διαλύματος έκπλυσης.
7. Εάν κάποια τμήματα ιστού αποκολληθούν από την αντικειμενοφόρο πλάκα κατά την έκπλυση, οι αντικειμενοφόρες πλάκες θα πρέπει να ελεγχθούν για να βεβαιωθείτε ότι είναι θετικά φορτισμένες. Άλλες πιθανές αιτίες που θα μπορούσαν να έχουν δυσμενείς επιπτώσεις στην πρόσφυση των ιστών είναι η ανεπαρκής ξήρανση του τμήματος του ιστού στην αντικειμενοφόρο πλάκα πριν από τη χρώση ή τη μονιμοποίηση σε φορμαδεύδη που δεν ήταν ουδέτερα ρυθμισμένα. Άλλος ένας καθοριστικός παράγοντας είναι το πάχος του ιστού στην αντικειμενοφόρο πλάκα.

Για όποια διορθωτική ενέργεια ανατρέξτε στην ενότητα 'Διαδικασίας βήμα προς βήμα' ή επικοινωνήστε με το τμήμα εξυπηρέτησης πελατών της A.Menarini Diagnostics.

Πηγές

1. Kievits T, et al. Rapid subchromosomal localization of cosmids by nonradioactive in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* 53: 134-6. (1990)
2. Wilkinson DG: *In Situ Hybridization, A Practical Approach*, Oxford University Press ISBN 0 19 963327 4. (1992)