

Vysis MultiVysion PGT Multi-color FISH Probe Kit



es

Vysis MultiVysion PGT
Multi-color FISH Probe Kit

REF 8L69-10

B8L693

48-8472/R1

Clave de los símbolos utilizados

REF	Número de referencia	LOT	Número de lote
IVD	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>		Fecha de caducidad
-20°C	Almacénese a una temperatura inferior o igual a -20 °C	i	Consulte las instrucciones de uso
EC REP	Representante autorizado		Precaución, consúltense los documentos adjuntos
	Fabricante legal		

Finalidad de uso

Estas sondas para la hibridación *in situ* por fluorescencia (FISH) permiten detectar el número de copias de los cromosomas 13, 18, 21, X e Y.

Resumen y explicación del ensayo

El diagnóstico genético preimplantacional para el cribado de aneuploidías (PGD-AS), mediante el uso de sondas marcadas con FISH multicolor, se ha convertido en una herramienta de diagnóstico potente para analizar el estado de la ploidía de varios cromosomas simultáneamente. Los estudios clínicos indican que el PGD-AS aumenta la tasa de implantación y disminuye los casos de aborto espontáneo en mujeres con malos resultados después de una fecundación *in vitro* [(IVF) (edad materna avanzada (AMA) \geq 35 años, fallos repetidos de fecundación *in vitro* (RIF), aborto espontáneo repetido (RSA)].^{1,2,3} El PGD-AS se puede practicar en cuerpos polares o blastocistos. La aplicación sobre cuerpos polares es menos invasiva pero no detecta las enfermedades hereditarias por vía paterna ni las alteraciones que se generan durante la primera fase del desarrollo embrionario.

Vysis MultiVysion PGT Multi-color FISH Probe Kit son sondas DNA FISH complementarias diseñadas para analizar el número de copias de los cromosomas en una sola célula blastomérica. Vysis MultiVysion PGT Multi-color FISH Probe Kit detecta las siguientes aneuploidías cromosómicas que cubren más del 80% de todas las anomalías genéticas en el feto: cromosoma 13 (síndrome de Patau), 18 (síndrome de Edward), 21 (síndrome de Down) y X, Y (p. ejemplo, síndrome de Klinefelter y de Turner).

Vysis MultiVysion PGT Multi-color FISH Probe Kit se ha usado en varios estudios.^{3,4,5,6} Staessen *et al.*⁴ analizaron en un estudio amplio, al azar y controlado, 289 ciclos con recuperación de ovocitos de 400 pacientes ambulatorias elegidas al azar usando un procedimiento FISH de dos vueltas. Evaluaron los cromosomas X, Y, 13, 18, 21 (vuelta 1) y 16, 22 (vuelta 2) en dos blastómeros (MultiVysion PGT). Kahraman *et al.*⁵ seleccionaron 276 parejas que se habían sometido a fecundación *in vitro* incluyendo grupos AMA, RIF, RSA y AGCM (morfología celular de gametos anormales) usando MultiVysion PGT. Debido a que se observaron tasas altas de aneuploidía en este grupo, el estudio sugería que la AGCM se puede considerar como una de las principales indicaciones para hacer diagnóstico genético preimplantacional (PGD). Más allá, el estudio determinó el PGD-AS con la ayuda de MultiVysion PGT como una herramienta útil para incrementar la posibilidad de éxito de la fecundación *in vitro* en parejas con un mal pronóstico sometidas a técnicas de reproducción asistida.⁵

Descripción de la sonda

Vysis MultiVysion PGT Multi-color Probes son una combinación de cinco sondas de DNA, de cinco colores, homólogas a regiones específicas en los cromosomas 13, 18, 21, X e Y. Cada una de las sondas está marcada directamente con uno de los fluoróforos de Vysis. La mezcla de sondas se compone de:

LSI 13: sonda de DNA que abarca el gen RB1 (13q14) marcada con SpectrumRed

CEP 18: sonda de DNA satélite alfa D18Z1 (18p11.1-q11.1) marcada con SpectrumAqua

LSI 21: sonda de DNA que corresponde al locus D21S341, D21S342, D21S339, EGR y D21S338 (21q22.13-21q22.2) marcada con SpectrumGreen

CEP X: sonda de DNA satélite alfa DXZ1 que corresponde a Xp11.1-q11.1 marcada con SpectrumBlue

CEP Y: sonda de DNA satélite alfa DYZ3 que corresponde a Yp11.1-q11.1 marcada con SpectrumGold.

El DNA de placenta humana marcado con fluoróforo (SpectrumBlue, SpectrumAqua, SpectrumOrange) también se incluye en la mezcla de sondas para proporcionar una tinción nuclear que no interfiera con la señal fluorescente de la sonda. Las sondas también incluyen el DNA bloqueante sin marcar para suprimir secuencias contenidas en los locus diana que son comunes a otros cromosomas.

Reactivos

Ysis MultiVysion PGT Multi-color Probes (sondas) (Nº de referencia: 30-111080)

30 µl (10 ensayos). Sondas de DNA marcadas con fluoróforos para los cromosomas 13, 18, 21, X e Y premezcladas en el tampón de hibridación que contienen sulfato de dextrano, formamida y SSC.

Almacenamiento



-20°C Ysis MultiVysion PGT Multi-color FISH Probe Kit debe almacenarse a una temperatura igual o inferior a -20 °C, protegido de la luz.

La fecha de caducidad aparece en el exterior del envase y en el vial.

Descomposición: Los fluoróforos son fotosensibles. Para limitar esta descomposición, maneje las soluciones y los portaobjetos que contengan fluoróforos en condiciones de luz reducida. Lleve a cabo todos los pasos que no requieran luz (periodos de incubación, lavados, etc.) en la oscuridad.

Condiciones para el transporte

Ysis MultiVysion PGT Multi-color FISH Probe Kit se transporta en nieve carbónica.

Si recibe algún reactivo que no cumple con las recomendaciones de la etiqueta o está dañado, póngase en contacto con el Servicio de Asistencia Técnica de Abbott Molecular.

Advertencias y precauciones

[IVD] Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*

Para uso exclusivo en diagnóstico *in vitro*.

Ysis MultiVysion PGT Multi-color FISH Probes ha sido clasificada según las directivas de la Comunidad Europea (CE) como: Tóxica (T). A continuación se indican las frases R (que indican los riesgos específicos derivados de los peligros de la sustancia) y frases S (consejos de prudencia en relación con el uso de la sustancia).



- | | |
|--------|---|
| R61 | Riesgo durante el embarazo de efectos adversos para el feto. |
| S35 | Eliminense los residuos del producto y sus recipientes con todas las precauciones posibles. |
| S45 | En caso de accidente o malestar, acúdase inmediatamente al médico (si es posible, muéstresele la etiqueta). |
| S36/39 | Úsense indumentaria adecuada y protección para los ojos/la cara. |
| S53 | Evítese la exposición - recábense instrucciones especiales antes del uso. |

Preparación de los reactivos

Prepare las siguientes soluciones para la preparación de la célula blastomérica y del ensayo MultiVysion PGT FISH.

Preparación de las soluciones de trabajo para la preparación de la célula blastomérica

Solución hipotónica (BSA al 0,6%, citrato de sodio al 1%) [para la preparación de la célula blastomérica]:

Mezcle:

0,3 g	Seroalbúmina bovina (BSA)
0,5 g	Citrato de sodio
50 ml	Agua purificada

Mezcle bien. Filtre con un filtro de 0,2 µm. Almacéñese a una temperatura entre 2 °C y 8 °C. Úsela en el plazo de 1 mes.

Fijador de Carnoy:

Mezcle:

25 ml	de ácido acético
75 ml	de metanol

Dispense en un frasco de vidrio con tapa. Invierta el frasco suavemente varias veces para que se mezcle bien el contenido. Almacéñese a -20 °C. Úselo en el plazo de 2 horas. Deséchelo después del uso.

Metanol: Dispense aproximadamente 70 ml de metanol absoluto en una jarra de Coplin. Úsese inmediatamente. Tape la jarra de Coplin siempre que no la use.

Preparación de las soluciones de trabajo para el ensayo

MultiVysion

20X SSC (pH 5,3):

Mezcle:

66 g	20X SSC
200 ml	Agua purificada
250 ml	Volumen final

Mezcle bien. Mida el pH a temperatura ambiente con un pehachímetro. Ajuste el pH a 5,3 con HCl concentrado si fuera necesario. Obtenga un volumen total de 250 ml. Filtre con un filtro de 0,45 µm. Almacene la solución en un recipiente cerrado a temperatura ambiente un máximo de 6 meses.

0,3% NP-40 en 0,4X SSC (Solución de lavado poshibridación)

Mezcle:

950 ml*	Agua purificada
20 ml	20X SSC pH 5,3
3 ml	NP-40
1 000 ml	Volumen final

Añada agua purificada hasta conseguir un volumen total de 1 000 ml. Mezcle bien. Ajuste el pH de 7,0 a 7,5 con NaOH 1N con ayuda de un pehachímetro con electrodo pH de vidrio si fuese necesario. Filtre la solución con filtro de 0,45 µm de poro. Almacene la solución no utilizada en un recipiente cerrado a temperatura ambiente hasta 6 meses. Deseche la solución utilizada en los ensayos al final de la jornada.

* o añada agua purificada hasta alcanzar un volumen de 1 000 ml después de ajustar el pH.

0,1 % NP-40 en 2X SSC (Solución de lavado poshibridación)

Mezcle:

100 ml	20XSSC pH 5,3
899 ml*	Agua purificada
1 ml	NP-40
1 000 ml	Volumen final

Añada agua purificada hasta conseguir un volumen total de 1 000 ml. Mezcle bien. Ajuste el pH de 7,0 a 7,5 con NaOH 1N con ayuda de un pehachímetro con electrodo pH de vidrio. Filtre la solución con filtro de 0,45 µm de poro. Vierta 70 ml en una jarra de Coplin y manténgala a temperatura ambiente. Almacene la solución no utilizada en un recipiente cerrado a temperatura ambiente hasta 6 meses. Deseche la solución utilizada en los ensayos al final de la jornada.

* o añada agua purificada hasta alcanzar un volumen de 1 000 ml después de ajustar el pH.

Preparación de células blastoméricas humanas para hibridación *in situ* por fluorescencia

Este procedimiento se lleva a cabo una vez que se ha realizado la biopsia de blastómeros. La biopsia de blastómeros individuales se hace por disección mecánica.⁷

Procedimiento

Extraiga la célula blastomérica e introdúzcala en una microgota de medio de cultivo en una placa de Petri de 35 mm.

1. Prepare solución hipotónica.
2. Prepare la jarra de Coplin con metanol.
3. Grabe un pequeño círculo en el fondo de la placa de Petri de 35 mm x 10 mm y añada 3 ml de solución hipotónica. El círculo identifica el área diana sobre la que colocar la célula blastomérica, lo que permite una relocalización más sencilla.

- Anote los datos identificativos y la información correspondiente de la muestra en la cara de vidrio esmerilado del portaobjetos. Limpie previamente el portaobjetos con fijador de Carnoy y un paño sin pelusas.
- Caliente la punta de una pipeta capilar de 25 µl con un soplete tipo Microtorch y tire a la vez de la punta de la pipeta caliente de forma que la extienda y cree una punta con un diámetro interior de 60 µm a 100 µm. Asegúrese de que la punta extendida de la pipeta tiene un corte plano y no afilado. Si la punta es afilada hay riesgo de dañar la célula blastomérica. Rompa, si fuera necesario, de nuevo la punta para crear una punta lisa. Antes de extraer el blastómero, se debe revisar el tamaño de la apertura de la pipeta para asegurar que sea más grande que el del blastómero.
- Aspire una pequeña cantidad (aproximadamente 2 µl a 3 µl) de solución hipotónica en la pipeta.
- Posicione con ayuda de un estereomicroscopio la célula blastomérica en la placa de Petri.
- Aspire con suavidad el blastómero dentro de la pipeta y transfíralo a la placa de Petri que contiene la solución hipotónica, colocándolo en el círculo grabado.
- Deje que la célula blastomérica permanezca en la solución hipotónica durante 5 minutos. Retire el blastómero de la solución hipotónica aspirándola con una pequeña cantidad de solución hipotónica dentro de la pipeta atenuada. Procure no empujar la célula blastomérica demasiado al fondo de la pipeta. Transfiera la célula a un portaobjetos junto con la pequeña cantidad de solución hipotónica.
- Transfiera el portaobjetos al microscopio invertido. Deje que la célula blastomérica empiece a secarse en la gota de solución hipotónica en el portaobjetos a la vez que la observa constantemente en el microscopio invertido. Observe con atención la célula blastomérica hasta que casi se haya secado por completo. Justo antes de que la solución hipotónica seque por completo, aspire una pequeña cantidad de solución fijadora (aproximadamente 2 µl a 3 µl) dentro de la misma pipeta atenuada y dispense la solución fijadora sobre la célula blastomérica.
- Observe constantemente la célula en el microscopio invertido mientras que la solución fijadora empieza a secar. Justo antes de que se complete el proceso de secado, coloque otra gota de solución fijadora de la pipeta atenuada sobre la célula. Repita el paso 11 varias veces hasta que el citoplasma que rodea la célula se haya disuelto dejando únicamente el núcleo.

Nota: Debe colocar una nueva gota de solución fijadora antes de que la primera se seque. Para una correcta hibridación de la sonda, es crucial que el citoplasma se disuelva por completo.

- Grabe con el punzón y sobre la superficie del portaobjetos dos círculos alrededor del núcleo celular. Grabe un círculo ligeramente más grande que el otro, esto es, un círculo dentro de otro y la célula en el centro del más pequeño. El círculo que rodea la célula facilitará la localización de ésta tras el procedimiento de hibridación.
- Coloque el portaobjetos en la jarra de Coplin que contiene el metanol hasta que esté listo para iniciar la hibridación.
- Inmediatamente antes de la hibridación o almacenamiento del portaobjetos, en caso de que la hibridación no se vaya a realizar ese mismo día, extraiga el portaobjetos de la solución de metanol y déjelo secar al aire.
- Con la escala Vernier del microscopio, o la referencia England Finder, localice y registre la posición de la célula en el portaobjetos. Estas coordenadas ayudarán a la localización de la célula tras la hibridación.
- Grabe otro círculo más grande en el fondo del portaobjetos alrededor de la célula con un marcador de carburo. Defina el área en la que se aplican los 3 µl de solución de sondas con un marcador permanente en el fondo del portaobjetos.
- Si el ensayo MultiVysion no se va a realizar de inmediato, coloque el portaobjetos en una caja de portaobjetos con tapa y almacénelos a -20 °C hasta su uso.

Uso de los portaobjetos de control

Los portaobjetos de control deben procesarse al mismo tiempo que los portaobjetos de muestras para comprobar el rendimiento del ensayo. Se recomienda procesar los portaobjetos de control cada día que se realice el análisis FISH. Se recomiendan los portaobjetos de control no hibridados Yysis ProbeChek MultiVysion PGT (Nº de referencia: 5J07-01).

Procedimiento de hibridación *in situ* con fluorescencia MultiVysion

Elección de los parámetros del sistema HYBrite

Si desea más información sobre la utilización del sistema HYBrite, consulte la Guía del usuario de este instrumento.

Procedimiento

Materiales necesarios

- Yysis MultiVysion PGT Multi-color Probes (sondas)

Materiales necesarios pero no suministrados

- HCl 12N (para el ajuste del pH de las soluciones de lavado)
- NaOH 1N (para el ajuste del pH de las soluciones de lavado)
- Jarras de Coplin de vidrio
- Termómetro calibrado
- Pinzas
- Probeta graduada de 1 000 ml
- Agitador magnético
- Etanol
- Microcentrífuga
- Puntas de pipeta (1 µl a 10 µl)
- Micropipetas (1 µl a 10 µl)
- Pehachímetro
- Portaobjetos limpios de vidrio para microscopio
- Agua purificada
- Temporizador
- Mezclador Vórtex
- Baño de agua (73 °C)
- Microscopio de fluorescencia
- Adhesivo Parafilm
- Antífase II
- Metanol
- Ácido acético glacial
- Citrato de sodio
- Seroalbúmina bovina
- 20X SSC
- NP-40
- Calentador de portaobjetos

Elección de los parámetros del sistema HYBrite

Si desea más información sobre la utilización del sistema HYBrite, consulte la Guía del usuario de este instrumento.

- Humedezca dos toallas de papel con agua y colóquelas en los surcos laterales de la superficie caliente del HYBrite. No vierta agua directamente en el surco.
- Encienda el HYBrite. Programe la temperatura de fusión (Melt Temp) a 73 °C y el tiempo de fusión (Melt Time) a 5 minutos. Fije la temperatura de hibridación (Hyb Temp) a 37 °C y el tiempo de hibridación (Hyb Time) a 4 horas. Deje que el sistema HYBrite alcance la temperatura de 37 °C.

Hibridación

- Saque la sonda MultiVysion PGT del congelador a -20 °C y deje que alcance la temperatura ambiente. En caso de que los portaobjetos de muestras estén almacenados, sáquelos del congelador a -20 °C y deje que alcancen la temperatura ambiente.
- Coloque el portaobjetos de muestras en la superficie del HYBrite. Si quedan aperturas vacías, rellénelas con portaobjetos en blanco.
- Aplique 3 µl de solución de sondas MultiVysion al área del portaobjetos que contiene la célula.
- Ponga un cubreobjetos de 12 mm de diámetro sobre el área diana inmediatamente después de aplicar la solución de sondas. (Ponga con cuidado el cubreobjetos sobre la solución de sondas, primero un borde, para evitar que se creen burbujas de aire.)
- Corte un trozo de adhesivo Parafilm del tamaño del portaobjetos y colóquelo sobre el portaobjetos y el cubreobjetos. Éste impide que la sonda se seque durante la hibridación.

- Cierre la tapa del sistema HYBrite y ponga en marcha el programa de hibridación/fusión. El programa iniciará la fase de fusión y seguirá con el proceso de 4† horas de hibridación.

† Nota: El tiempo máximo recomendado de hibridación son 8 horas, no obstante, 4 horas son lo óptimo. Tiempos de hibridación mayores pueden tener como consecuencia una tinción nuclear alta, lo que puede ocultar las señales de la sonda.

Lavado de los portaobjetos

- Durante la hibridación llene una jarra de Coplin con 0,4X SSC/0,3% NP-40 y colóquelo en un baño de agua a 73 °C. Con un termómetro calibrado, compruebe la temperatura de la solución en el interior de la jarra antes de introducir los portaobjetos para lavarlos. La solución deberá estar a 73 °C ± 1 °C.
 - Llene una segunda jarra con 2X SSC/0,1% NP-40 y déjela a temperatura ambiente.
 - Una vez que finaliza el programa HYBrite, saque los portaobjetos del HYBrite. Retire el adhesivo Parafilm y los cubreobjetos del/de los portaobjeto/s.
 - Coloque el/los portaobjeto/s en 0,4X SSC/0,3% NP-40 inmediatamente después de retirar el cubreobjetos. Cuando todos los portaobjetos estén en la jarra (4 como máximo), incúbelos durante 5 minutos. Nota: No lave más de 4 portaobjetos a la vez en una misma jarra. El hecho de colocar un portaobjetos en la jarra no debe llevar más de unos segundos; si tarda más, asegúrese de que no permanezca ningún portaobjetos en la jarra de lavado más de 5 minutos. Tras retirar los portaobjetos, espere a que la temperatura alcance los 73 °C ± 1 °C antes de lavar más portaobjetos.
 - Pasados 5 minutos, retire el/los portaobjeto/s de la solución de lavado y colóquelo(s) en la jarra de Coplin con 2X SSC/0,1%NP-40 a temperatura ambiente. Incube durante 1 minuto.
 - Retire el/los portaobjeto/s de la solución de lavado y colóquelo(s) en posición vertical en lugar oscuro (como por ej.: un cajón) sobre una toallita de papel hasta que esté(n) completamente seco(s).
 - Dispense 3 µl de solución Antifade II sobre el área diana y tape la solución Antifade II con un cubreobjetos de 12 mm de diámetro. Evite que se formen burbujas de aire. No añada tinción de contraste DAPI ya que ésta borraría la señal de la sonda marcada con SpectrumBlue. La célula o cromosomas pueden localizarse con el conjunto de filtros de paso de banda simple Aqua puesto que el DNA HP marcado con fluoróforo SpectrumAqua que contiene la mezcla de sondas permite identificar la célula y determinar los límites entre las distintas células.
- Nota: En caso de que se desee usar otro tipo de tinción de contraste general con fines de identificación y localización de la célula, se recomienda usar tinción de contraste de yoduro de propidio diluido. La tinción de contraste de yoduro de propidio de Vysis (Nº de referencia: 7J06-01) se debe diluir 1 parte a 6 partes (volumen:volumen) de Vysis Antifade II (Nº de referencia: 6J29-01). Mezcle bien y aplíquela al área diana. Utilice un conjunto de filtros de paso de banda simple naranja para localizar la célula.
- Observe los portaobjetos con un microscopio de fluorescencia y conjuntos de filtros adecuados (véase más abajo).
 - Las muestras hibridadas se pueden almacenar hasta un mes a una temperatura de -20 °C sin que se produzca deterioro relevante de las señales fluorescentes de la sonda.

Observación de los resultados

La observación y el análisis correctos de la hibridación de MultiVysion PGT depende en gran medida del uso de los conjuntos de filtros óptimos y de que los microscopios de fluorescencia estén bien ajustados. Puede que su laboratorio no disponga de todos los conjuntos de filtros necesarios para observar o formar la imagen de los resultados MultiVysion PGT. Para más información sobre las especificaciones de los conjuntos de filtros, póngase en contacto con el Departamento de Asistencia Técnica de Abbott Molecular. Todos los conjuntos de filtros se pueden obtener a través de Abbott Molecular, Inc.

Para observar los resultados de MultiVysion PGT se recomienda como mínimo disponer de los siguientes conjuntos de filtros.

- Conjunto de paso de banda doble Blue/Aqua
- Conjunto de paso de banda doble Green/Red
- Conjunto de paso de banda simple Yellow
- El conjunto de paso de banda simple Aqua (opcional para la aclaración de señales que se observan en el conjunto de paso de banda doble azul/aguamarina cuando la agudeza visual para distinguir el azul y el aguamarina es deficiente o si la intensidad de la señal aguamarina de la sonda no es óptima).

Los conjuntos de filtros de paso de banda simple están también disponibles para cada una de las cinco sondas marcadas con fluorescencia (SpectrumBlue, SpectrumAqua, SpectrumGreen, SpectrumGold y SpectrumRed) para una aclaración máxima de cada una de las señales FISH por separado. Los conjuntos de filtros de paso de banda simple proporcionan máxima intensidad de brillo fluorescente y el mínimo ruido de fondo y proporcionan las señales fluorescentes mejor diferenciadas. Además, las señales superpuestas, que son el resultado de la posición del DNA diana dentro del núcleo celular, se distinguen de forma óptima con los conjuntos de filtros de paso de banda simple. Este método de análisis proporciona la interpretación de la señal más sencilla y certera. Las imágenes de la sonda se pueden obtener también usando los 5 filtros de paso de banda simple individuales.

Nota: Si usa los conjuntos de filtros de paso de banda simple para observar o formar la imagen, la señal de la sonda SpectrumBlue debe ser observada o formada la imagen en primer lugar. Esta secuencia se recomienda para evitar que se extienda el fotoblanqueo, observando primero los fluoróforos más sensibles.

Si se prefiere el filtro de paso de banda simple para la observación o formación de la imagen, se deben usar los conjuntos de filtros de paso de banda simple como sigue:

- Conjunto de paso de banda simple azul (para SpectrumBlue)
- Conjunto de paso de banda simple aguamarina (para SpectrumAqua)
- Conjunto de paso de banda simple verde (para SpectrumGreen)
- Conjunto de paso de banda simple amarillo (para SpectrumGold)
- Conjunto de paso de banda simple rojo (para SpectrumRed)

Nota: Es posible apreciar contaminación (*bleed-through*) de fluorescencia en los conjuntos de filtros de paso de banda simple. Las señales de SpectrumAqua fluorescentes contaminan la señal en el conjunto de filtros de paso de banda simple azul y las señales fluorescentes SpectrumBlue brillantes contaminan la señal en el conjunto de filtros de paso de banda simple aguamarina. Las señales fluorescentes SpectrumGold brillantes pueden contaminar la señal débilmente en los conjuntos de filtros de paso de banda simple verde o los conjuntos de filtros de paso de banda doble verde/rojo.

Observe los resultados de la hibridación como sigue:

- Encuentre la célula diana con un microscopio de contraste de fase, con poco aumento (100 aumentos) usando las coordenadas que se registraron anteriormente.
- Una vez que la célula se ha localizado sin mover la escala del microscopio cambie a luz fluorescente usando el conjunto de filtros de paso de banda simple aguamarina y localice de nuevo la célula con poco aumento (100 aumentos). Una vez que la célula se ha localizado de nuevo con fluorescencia, cambie a un aumento mayor (1000 aumentos) para analizar.

Si se usa el conjunto de filtros de paso de banda doble aguamarina/azul para el análisis de las sondas marcadas con SpectrumAqua y SpectrumBlue localice y analice como sigue:

Localice la célula usando un conjunto de filtros de paso de banda simple aguamarina.

Analice cada una de las otras sondas usando la siguiente secuencia de filtros: 1) paso de banda doble aguamarina/azul, 2) paso de banda doble verde/rojo, 3) paso de banda simple amarilla.

Nota: Se recomienda observar la muestra o la imagen formada en esta secuencia evitar que se extienda el fotoblanqueo. Al seguir esta secuencia los fluoróforos más sensibles son los primeros en exponerse a la luz.

Bibliografía

1. Munné S, Sandalinas M, Escudero T, et al. Improved implantation after preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy. *Reprod Biomed Online*. 2003;7(1):91-7.
2. Munné S, Chen S, Fischer J, et al. Preimplantation genetic diagnosis reduces pregnancy loss in women aged 35 years and older with a history of recurrent miscarriages. *Fertil Steril*. 2005;84(2):331-5.
3. Bloechle M, Marr S, Guillot P, et al. P-698: Polar body analysis of 314 unfertilized oocytes: what can we learn? *Fertil Steril*. 2006;86(3) Suppl. 2:S392-3.
4. Staessen C, Platteau P, Van Assche, et al. Comparison of blastocyst transfer with or without preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in couples with advanced maternal age: a prospective randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2004;19(12):2849-58
5. Kahraman S, Benkhalifa M, Donmez E, et al. The results of aneuploidy screening in 276 couples undergoing assisted reproductive techniques. *Prenat Diagn*. 2004;24(4):307-11.
6. Baart EB, Martini E, Van Opstal D. Screening for aneuploidies of ten different chromosomes in two rounds of FISH: a short and reliable protocol. *Prenat Diagn*. 2004;24(12):955-61.
7. Verlinsky Y and Kuliev A, eds. *Preimplantation Diagnosis of Genetic Diseases: A New Technique for Assisted Reproduction*. New York: Wiley Liss; 1994.

Si desea más información o hacer algún pedido, póngase en contacto con:

Datos del fabricante

Abbott Molecular Inc.
1300 East Touhy Avenue
Des Plaines, IL 60018

Número de teléfono en los EE.UU.: 800 553-7042

Número de teléfono desde fuera de los EE.UU.: 001 224 361-7000

Fax: 001 224 361-7522

Correo electrónico: help@abbottmolecular.com

Dirección del representante autorizado:

ABBOTT

Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden
Alemania

Teléfono: +49-6122-580

Correo electrónico: help@abbottmolecular.com

MultiVysion, ProbeChek, SpectrumRed, SpectrumBlue, SpectrumGold, SpectrumAqua, SpectrumGreen, SpectrumOrange, SpectraVysion, HYBrite, CEP, LSI y Vysis son marcas comerciales de Abbott Molecular Inc. en varios países.

Patente de EE.UU. nº 5,447,841 con autorización exclusiva para Vysis por la Universidad de California, incluye DNA bloqueante y sondas de secuencia única como sondas LSI de Vysis. Las sondas de fluorescencia de marcado directo LSI, CEP y WCP de Vysis están protegidas por la patente de EE.UU. nº 5,491,224. Los múltiples productos de sondas de DNA de marcado directo para FISH de Vysis están protegidos por la patente de EE.UU. 5,663,319.



Abbott Molecular Inc.
Des Plaines, IL 60018 USA



ABBOTT
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden
Germany
+49-6122-580

© 2009 Abbott Laboratories

www.abbottmolecular.com

Agosto 2009