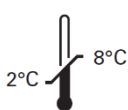


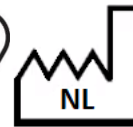
## FISH Reagent Kit

**REF** KBI-60005

Containing sufficient volume for up to 25 or 5x5 tests



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
The Netherlands  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 Intended use/purpose

Fluorescence in situ hybridization (FISH) identifies or labels target genomic sequences so that their location can be studied. DNA sequences from appropriate chromosome specific probes are first labeled with reporter molecules. The labeled DNA probe is then hybridized to the metaphase chromosomes or interphase nuclei on a slide. After washing, the specimen is screened for the reporter molecules by fluorescence microscopy.

For use on metaphase and interphase cells from peripheral blood cultures or direct preparations prepared by standard cytogenetic methods.

This pretreatment kit is specifically developed to obtain optimal results on FRESHLY prepared cytological samples.

This product is intended for In Vitro Diagnostic Use.

### 2 Product Description

This pretreatment kit is for non-automated FISH hybridizations specifically developed to use for pretreatment and enzyme digestion of metaphase and interphase cells from peripheral blood cultures or direct preparations prepared by standard cytogenetic methods before DNA FISH hybridization procedure. This kit is specifically developed to obtain optimal results on FRESHLY prepared cytological samples. The use of the kit will reverse the cross-links in the cells, permeabilize the cell membrane and digest cell proteins to ease the binding of the FISH probes with the specific cell DNA.

### 3 Instructions for use

#### 3.1 Specimens

For use on metaphase and interphase cells from peripheral blood cultures or direct preparations prepared by standard cytogenetic methods.

This pretreatment kit is specifically developed to obtain optimal results on FRESHLY prepared cytological samples.

Specimens pre-analytics: To obtain a successful FISH the pre-analytics play a major role. The specimen should be correctly fixated, aged and pretreated according to a well-established protocol. Over-fixation, under fixation or poor pretreatment of specimen can cause failure of the FISH procedure or at least low reproducibility/signal intensity. Kreatech FISH probes have been tested on metaphase/interphase nuclei derived from cultured peripheral blood and/or bone marrow. Slides should be stored according to the recommended storage and handling conditions for optimal results, see Leica website.

#### 3.2 Pretreatment

Protocol below is for the use of 5 slides in an upright coplin jar of 50 ml.

1. Pretreat freshly prepared sample slides in 50 ml of 2 x SSC / 0.5% Igepal (LK-105B) at 37 °C for 15 minutes (min).
2. Dehydrate in 70%, 85% and 100% ethanol for 1 minute each. Airdry. Proceed with **Probe Preparation**.

#### 3.3 Probe preparation:

Kreatech™ FISH probes are supplied Ready to Use (RtU). SE, ST, and WC Kreatech™ FISH probes are provided 5 x concentrated and must be diluted as follows: 2 µl 5 x conc. Probe in 8 µl FISH Hybridization Buffer (FHB or WCB, supplied with probes). To combine several 5 x conc. probes, replace FISH Hybridization Buffer (FHB or WCB) with 2 µl for each probe added.

### 3.4 Co-denaturation

Apply 10 µl of probe per 22 x 22 mm field. Cover with glass cover slip and seal with Fixogum or rubber cement. Denature sample and probe on a ThermoBrite (TS-01/02) at 75 ±1 °C for 5-10 min. Continue with **Hybridization**.

### 3.5 Hybridization:

Incubate overnight at 37 ±1 °C in a ThermoBrite (TS-01/02) or in a humidified chamber.

### 3.6 Post-hybridization Wash:

1. Pre-warm 50 ml Wash Buffer I (0.4 x SSC / 0.3% Igepal) (LK-102) to 72 °C
2. Remove rubber cement.
3. Place slides in 50 ml of Wash Buffer II (2 x SSC / 0.1% Igepal) (LK-103), incubate for 2 min. at RT. Slide off coverclips. Re-use the wash buffer only once for a total of 10 slides.
4. Place slides in 50 ml of pre-warmed Wash Buffer I (0.4 x SSC / 0.3% Igepal) (LK-102), incubate for 2 min at 72 °C (+- 1 °C) without agitation. Re-use the wash buffer only once for a total of 10 slides.
5. Place slides in 50 ml of fresh Wash Buffer II (2 x SSC / 0.1% Igepal) (LK-103), incubate for 1 min. at RT without agitation. Re-use the wash buffer only once for a total of 10 slides.
6. Dehydrate in fresh 70%, 85% and 100% ethanol, incubate for 1 min each at RT. Air dry at RT and proceed to **Counterstaining**.

### 3.7 Counterstaining:

Apply 15 µl DAPI counterstain (DAPI/Antifade 0.1 µg/ml) (LK-095B) or a dilution of this using counterstain diluent (LK097B) and apply glass cover slip. Proceed with microscopy.

### 3.8 Procedural recommendations:

Optimal prepared and pre-treated cytological slides are key to obtain a successful FISH result. Under or over pre-treatment does not only influence the morphology but also the signal strength (and thus the ease of analysis).

Temperature and buffer concentration (stringency) of hybridization and washing are important, as lower stringency can result in non-specific binding of the probe to other sequences, and higher stringency can result in a lack of signal. Incomplete denaturation of target DNA can result in lack of signal.

### 3.9 Recommendations for fluorescence microscopy

For optimal visualization use a well maintained and regularly calibrated microscope equipped with a 100W mercury lamp or other appropriate light source (e.g. Metal Halide Bulb (120W X-cite) or LED based light sources) and a 63x or 100x fluorescence objective. Triple band-pass filters (DAPI/FITC/Cy3 or DAPI/FITC/TRITC) are used to view multiple colors, single band-pass filters are used for individual color visualization. See the Leica website for recommendations on appropriate filters for each microscope brand: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Suitable excitation and emission range for Kreatech™ fluorophores:

| Fluorophore         | Excitation | Emission   |
|---------------------|------------|------------|
| DAPI                | 360 ±20 nm | 460 ±30 nm |
| PlatinumBright™ 415 | 429 ±15 nm | 470 ±15 nm |
| PlatinumBright™ 495 | 495 ±10 nm | 517 ±10 nm |
| PlatinumBright™ 550 | 550 ±10 nm | 580 ±10 nm |

*The shown bandwidth corresponds to 80% of the maximum excitation/emission of the fluorophore)*

## 4 Analytical Performance

The performance of the FISH Reagent Kit has been established using the procedures described in this instruction for use. Modifications to these procedures may alter the performance of the assay. Any deviations from the instructed protocols must be validated by the user. Users who deviate from recommended test procedures must accept responsibility for interpretation of patient results under these circumstances. Protocol times may vary due to variation in fixation and processing.

## 5 Materials required and supplied with product

| Code #   | Description                                 | Volume     |
|----------|---------------------------------------------|------------|
| LK-095B  | DAPI/Antifade 0.1 µg/ml (DAPI Counterstain) | 0.5 ml     |
| LK-097B  | Antifade (Counterstain diluent)             | 0.5 ml     |
| LK-102B* | 0.4 x SSC / 0.3% Igepal (Wash Buffer I)     | 250 ml     |
| LK-103B* | 2 x SSC / 0.1% Igepal (Wash Buffer II)      | 2 x 250 ml |
| LK-105B  | 2 x SSC/0.5% Igepal                         | 250 ml     |

\*Please note that LK-102 and LK-103 products containing the same number, but different letters are identical except for the volume. A= 100 ml, B=250 ml

## 6 Materials required and not supplied with product

- Ethanol 100%, 85% and 70%
- Fixogum (LK-071A) or rubber cement
- Hot plate with accurate temperature control up to 75 °C or ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Incubator with accurate temperature range of 37 °C
- Water bath with accurate temperature range of 37 - 75 °C
- Plastic and glass coplin jars
- Variable micropipettes (1 µl - 200 µl)
- Fluorescence microscope equipped with suitable filters (see recommendations for Fluorescence Microscopy).

## 7 Warning and precautions

- Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user and/or the patient is established.
- For in vitro diagnostic use. For laboratory professional use only. In case of emergencies check SDS sheets for safety information.
- The kit is intended to use only prior and after to DNA FISH on metaphase and interphase cells from peripheral blood cultures or direct preparations prepared by standard cytogenetic methods.
- For non-automated FISH pre-treatment and hybridization only.
- All materials should be disposed of according to your institution's guidelines for hospital waste disposal.
- It is advised to use the KBI-60006 FISH Digestion kit in case older samples, slides with cytoplasmic background or difficult samples are used or expected.
- For paraffin embedded tissues it is recommended to use pretreatment kits KBI-60004 or KBI-60007.

Labelling according to Regulation (EC) No 1272/2008

| Code #  | Description                                 | Signal Word | Pictogram                                                                           | Hazard Statements |
|---------|---------------------------------------------|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| LK-095B | DAPI/Antifade 0.1 µg/ml (DAPI Counterstain) | Warning     |  | H315, H319, H335  |
| LK-097B | Antifade (Counterstain diluent)             | Warning     |  | H315, H319, H335  |
| LK-102B | 0.4 x SSC / 0.3% Igepal (Wash Buffer I)     | N.A.        | N.A.                                                                                | N.A.              |
| LK-103B | 2 x SSC / 0.1% Igepal (Wash Buffer II)      | N.A.        | N.A.                                                                                | N.A.              |
| LK-105B | 2 x SSC/0.5% Igepal                         | N.A.        | N.A.                                                                                | N.A.              |

#### Hazard statement(s)

H315 – Causes skin irritation.

H319 – Causes serious eye irritation.

H335 – May cause respiratory irritation

#### Precautionary statement(s) Prevention

P271 – Use only outdoors or in a well-ventilated area.

P261 – Avoid breathing mist/vapours/spray.

P264 – Wash all exposed external body areas thoroughly after handling.

P280 – Wear protective gloves, protective clothing, eye protection and face protection.

#### Precautionary statement(s) Response

P305+P351+P338 – IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

P312 – Call a POISON CENTER/doctor/physician/first aider/if you feel unwell.

P337+P313 – If eye irritation persists: Get medical advice/attention.

P302+P352 – IF ON SKIN: Wash with plenty of water and soap.

P304+P340 – IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing.

P332+P313 – If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.

P362+P364 – Take off contaminated clothing and wash it before reuse.

Supplemental Hazard Statements: none

Restricted to laboratory professional users

#### Explanation of symbols

|                                                                                     |                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
|   | Contains hazardous substances    |
|  | Country of manufacture           |
|  | Do not use if package is damaged |
|  | Consult electronic IfU (elfU)    |

## 8 Reagent Storage and Handling

Protect DAPI/Antifade from strong and direct light. Store at 2 - 8 °C. The unopened product is stable under these conditions up to the expiry date indicated on the vial label.

Return undiluted reagent to 2 - 8 °C immediately after use.

After opening products are stable for up to 18 Months, but never longer than the expiry date. After this time period the use of the solutions may result in suboptimal results.

## 9 Technical Support

Technical support is available at [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) or via e-mail: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Please contact us if desired results are not obtained or any anomalies appear when using this product.

A paper printed copy of the IfU can be requested via e-mail by contacting: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



The IfU is available in additional languages that can be downloaded from:  
[www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Customer Service

Kreatech probes may be ordered through Leica Customer Service +31 20 6919181 or order via e-mail:  
[purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

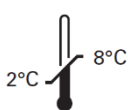
## 11 History

| IfU Version | Date of issue | Changes                                     |
|-------------|---------------|---------------------------------------------|
| 2.4         | 2016-SEP-27   | Remove the tagline "The pathology Company " |
| 3.0         | 2022-April    | Update according to IVD regulations         |

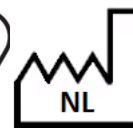
## Комплект с реагент за FISH

**REF** KBI-60005

Съдържа достатъчно количество за до 25 или 5x5 теста



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
Нидерландия  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 Предназначение/цел

Флуоресцентната *in situ* хибридизация (FISH) идентифицира или бележи прицелни геномни последователности, за да може да се изследва тяхното местоположение. ДНК последователностите от съответните специфични за хромозомите сонди първо се бележат с репортерни молекули. След това белязаната ДНК сонда се хибридизира към метафазните хромозоми или интерфазните ядра върху предметно стъкло. След измиване спесименът се проверява за наличие на репортерни молекули чрез флуоресцентна микроскопия.

За използване върху метафазни и интерфазни клетки от култури от периферна кръв или директни препарати, получени чрез стандартни цитогенетични методи.

Този комплект за предварително третиране е специално разработен за получаване на оптимални резултати при ПРЯСНО подготвени цитологични проби.

Този продукт е предназначен за *in vitro* диагностика.

### 2 Описание на продукта

Този комплект за предварително третиране е за неавтоматизирани FISH хибридизации, специално разработен да се използва за предварително третиране и ензимна дигестия на метафазни и интерфазни клетки от култури от периферна кръв или директни препарати, получени чрез стандартни цитогенетични методи преди процедурата за FISH хибридизация на ДНК. Този комплект е специално разработен за получаване на оптимални резултати при ПРЯСНО приготвени цитологични проби. Използването на комплекта ще обърне кръстосаните връзки в клетките, ще пермеабелизира клетъчната мембрана и ще разгради клетъчните протеини, за да улесни свързването на FISH сондите със специфичната клетъчна ДНК.

### 3 Инструкции за употреба

#### 3.1 Спесимени

За използване върху метафазни и интерфазни клетки от култури от периферна кръв или директни препарати, получени чрез стандартни цитогенетични методи.

Този комплект за предварително третиране е специално разработен за получаване на оптимални резултати при ПРЯСНО подготвени цитологични проби.

Предварителен анализ на спесимени: Предварителният анализ играе важна роля за получаването на успешна FISH. Спесименът трябва да бъде правилно фиксиран, отлежал и предварително третиран в съответствие с утвърден протокол. Прекомерната фиксация, недостатъчната фиксация или лошото предварително третиране на спесимен може да доведат до неуспех на процедурата за FISH или поне до ниска възпроизводимост/нисък интензитет на сигнала. FISH сондите на Kreatech са тествани върху метафазни/интерфазни ядра, получени от култивирана периферна кръв и/или костен мозък. Предметните стъкла трябва да се съхраняват в съответствие с препоръчителните условия за съхранение и работа за постигане на оптимални резултати, вижте уеб сайта на Leica.

#### 3.2 Предварително третиране

Протоколът по-долу е за използване на 5 предметни стъкла в изправен коплинов буркан от 50 ml.

1. Третирайте предварително прясно подготвени предметни стъкла с проба в 50 ml 2 x SSC/0,5% Igepal (LK-105B) при 37°C за 15 минути (мин.).

2. Дехидратируйте в 70%, 85% и 100% етанол за по 1 минута всеки път. Изсушете с въздух. Продължете към **Подготвяне на сонда**.

### 3.3 Подготвяне на сонда:

FISH сондите на Kreatech™ се доставят готови за употреба (RtU). FISH сондите на Kreatech™ за SE, ST и WC се предоставят с концентрация 5 x и трябва да се разреждат по следния начин: Сонда с конц. 2 µl 5 x в 8 µl FISH буфер за хибридизация (FHB или WCB, доставя се със сондите). За да комбинирате няколко сонди с концентрация 5 x, заменете FISH буфера за хибридизация (FHB или WCB) с 2 µl за всяка добавена сонда.

### 3.4 Съвместна денатурация

Нанесете 10 µl от сондата на поле от 22 x 22 mm. Покрийте със стъклено покривно стъкло и запечатайте с Fixogum или гумен цимент. Денатурирайте пробата и сондата в ThermoBrite (TS-01/02) при 75 ± 1°C за 5 – 10 минути. Продължете към **Хибридизация**.

### 3.5 Хибридизация:

Инкубирайте през нощта при 37 ± 1°C в ThermoBrite (TS-01/02) или в овлажнена камера.

### 3.6 Измиване след хибридизация:

1. Загрейте предварително 50 ml Wash Buffer I (0,4 x SSC / 0,3% Igepal) (LK-102) до 72°C
2. Премахнете гумения цимент.
3. Поставете предметни стъкла в 50 ml Wash Buffer II (2 x SSC / 0,1% Igepal) (LK-103), инкубирайте за 2 минути при стайна температура. Отстранете с приплъзване покритията. Можете да използвате повторно буфера за измиване само веднъж за общо 10 предметни стъкла.
4. Поставете предметните стъкла в 50 ml предварително загрят Wash Buffer I (0,4 x SSC / 0,3% Igepal) (LK-102), инкубирайте за 2 минути при 72°C (+/- 1°C) без разбъркване. Можете да използвате повторно буфера за измиване само веднъж за общо 10 предметни стъкла.
5. Поставете предметни стъкла в 50 ml нов Wash Buffer II (2 x SSC / 0,1% Igepal) (LK-103), инкубирайте за 1 минута при стайна температура без разбъркване. Можете да използвате повторно буфера за измиване само веднъж за общо 10 предметни стъкла.
6. Дехидратируйте в нов 70%, 85% и 100% етанол, инкубирайте за по 1 минута всеки път при стайна температура. Изсушете с въздух на стайна температура и продължете към **Контраоцветяване**.

### 3.7 Контраоцветяване

Нанесете 15 µl DAPI контраоцветител (DAPI/Antifade 0,1 µg/ml) (LK-095B) или разтвор на този контраоцветител с помощта на разреждател за контраоцветители (LK097B) и поставете стъклено покривно стъкло. Продължете към микроскопия.

### 3.8 Процедурни препоръки:

Оптимално подготвените и предварително третирани цитологични препарати са от ключово значение за получаване на успешен резултат при FISH. Недостатъчното или прекомерното предварително третиране влияе не само върху морфологията, но и върху силата на сигнала (и по този начин върху улесняването на анализа).

Температурата и концентрацията на буфера (строгост) при хибридизацията и измиването са важни, тъй като по-ниска строгост може да доведе до неспецифично свързване на сондата с други последователности, а по-висока строгост може да доведе до липса на сигнал. Непълното денатуриране на прицелната ДНК може да доведе до липса на сигнал.

### 3.9 Препоръки за флуоресцентна микроскопия

За оптимална визуализация използвайте добре поддържан и редовно калибриран микроскоп, оборудван с живачна лампа от 100 W или друг подходящ източник на светлина (напр. метало-халогенна крушка (120 W X-cite) или светодиодни източници на светлина) и флуоресцентен обектив 63x или 100x. Тройните лентови филтри (DAPI/FITC/Cy3 или DAPI/FITC/TRITC) се използват за визуализиране на множество цветове, а единичните лентови филтри се използват за визуализиране на отделни цветове. Вижте уеб сайта на Leica за препоръки относно подходящите филтри за всяка марка микроскоп: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Подходящ обхват на възбуждане и емисия за флуорофори Kreatech™:

| Флуорофор           | Възбуждане | Емисия     |
|---------------------|------------|------------|
| DAPI                | 360 ±20 nm | 460 ±30 nm |
| PlatinumBright™ 415 | 429 ±15 nm | 470 ±15 nm |
| PlatinumBright™ 495 | 495 ±10 nm | 517 ±10 nm |
| PlatinumBright™ 550 | 550 ±10 nm | 580 ±10 nm |

Показаната честотна лента съответства на 80% от максималното възбуждане/емисия на флуорофора)

#### 4 Аналитично представяне

Ефективността на Комплекта с реагент за FISH е установена с помощта на процедурите, описани в настоящата инструкция за употреба. Промените в тези процедури могат да доведат до промяна на резултатите от теста. Всякакви отклонения от инструктираните протоколи трябва да бъдат валидирани от потребителя. Потребителите, които се отклоняват от препоръчаните процедури за тестване, трябва да поемат отговорност за интерпретацията на резултатите на пациентите при тези обстоятелства. Времетраенето по протокол може да варира поради вариации във фиксацията и обработката.

#### 5 Необходими и доставени с продукта материали

| Код #    | Описание                                    | Обем       |
|----------|---------------------------------------------|------------|
| LK-095B  | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI Counterstain) | 0,5 ml     |
| LK-097B  | Antifade (разредител за контраоцветители)   | 0,5 ml     |
| LK-102B* | 0,4 x SSC / 0,3% Igepal (Wash Buffer I)     | 250 ml     |
| LK-103B* | 2 x SSC / 0,1% Igepal (Wash Buffer II)      | 2 x 250 ml |
| LK-105B  | 2 x SSC/0,5% Igepal                         | 250 ml     |

\*Имайте предвид, че продуктите LK-102 и LK-103, съдържащи същия номер, но различни букви, са идентични с изключение на обема. A= 100 ml, B=250 ml

#### 6 Необходими и недоставени с продукта материали

- Етанол 100%, 85% и 70%
- Fixogum (LK-071A) или гумен цимент
- Гореща плоча с точен контрол на температурата до 75°C или ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Инкубатор с точен температурен диапазон от 37°C
- Водна баня с точен температурен диапазон от 37 – 75°C
- Пластмасови и стъклени коплинови буркани
- Микропипети с променлив обем (1 µl – 200 µl)
- Флуоресцентен микроскоп, снабден с подходящи филтри (вижте препоръките за флуоресцентна микроскопия).

#### 7 Предупреждение и предпазни мерки

- Всеки сериозен инцидент, възникнал във връзка с изделието, се докладва на производителя и на компетентния орган на държавата членка, в която е установен потребителят и/или пациентът.
- За употреба при in vitro диагностика. Само за лабораторна професионална употреба. В случай на спешни случаи проверете листовите ИЛБ за информация относно безопасността.
- Комплектът е предназначен да се използва само преди и след FISH на ДНК върху метафазни и интерфазни клетки от култури от периферна кръв или директни препарати, получени чрез стандартни цитогенетични методи.
- Само за неавтоматизирано FISH предварително третиране и хибридизация.
- Всички материали трябва да се изхвърлят в съответствие с насоките на вашата институция за изхвърляне на болнични отпадъци.
- Препоръчва се използването на KBI-60006 Комплект за дигестия на FISH, в случай че се използват или очакват по-стари проби, предметни стъкла с цитоплазмен фон или трудни проби.
- За вградени в парафин тъкани е препоръчително да се използват комплекти за предварително третиране KBI-60004 или KBI-60007.

Етикетиране съгласно Регламент (ЕО) № 1272/2008

| Код #   | Описание                                    | Сигнална дума  | Пиктограма                                                                          | Предупреждения за опасност |
|---------|---------------------------------------------|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| LK-095B | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI Counterstain) | Предупреждение |  | H315, H319, H335           |
| LK-097B | Antifade (разредител за контраоцветители)   | Предупреждение |  | H315, H319, H335           |
| LK-102B | 0,4 x SSC / 0,3% Igepal (Wash Buffer I)     | Не е приложимо | Не е приложимо                                                                      | Не е приложимо             |
| LK-103B | 2 x SSC / 0,1% Igepal (Wash Buffer II)      | Не е приложимо | Не е приложимо                                                                      | Не е приложимо             |
| LK-105B | 2 x SSC/0,5% Igepal                         | Не е приложимо | Не е приложимо                                                                      | Не е приложимо             |

#### Предупреждения за опасност

H315 – Предизвиква дразнене на кожата.

H319 – Предизвиква сериозно дразнене на очите.

H335 – Може да предизвика дразнене на дихателните пътища.

#### Препоръки за безопасност Превенция

P271 – Да се използва само на открито или на добре проветриво място.

P261 – Избягвайте вдишване на дим/изпарения/аерозоли.

P264 – Да се измият всички изложени външни части на тялото старателно след употреба.

P280 – Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.

#### Препоръки за безопасност Реакция

R305+R351+R338 ПРИ – ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: Промивайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно.

Продължете с изплакването.

R312 – При неразположение се обадете в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ или на лекар.

R337+R313 – При продължително дразнене на очите: Потърсете медицински съвет/помощ.

R302+R352 – ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА: Измийте обилно със сапун и вода.

R304+R340 – ПРИ ВДИШВАНЕ: Изведете лицето на чист въздух и го поставете в позиция, улесняваща дишането.

R332+R313 – При поява на кожно дразнене: Потърсете медицински съвет/помощ.

R362+R364 – Свалете замърсеното облекло и го изперете преди повторна употреба.

Допълнителни предупреждения за опасност: няма

Само за професионална употреба в лаборатории

#### Обяснение на символите

|                                                                                     |                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|
|  | Съдържа опасни вещества |
|  | Държава на производство |

|                                                                                   |                                                          |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
|  | Да не се използва, ако целостта на опаковката е нарушена |
|  | Консултирайте се с електронните ИЗУ (еИЗУ)               |

## 8 Съхранение и обработка на реагент

Защитете DAPI/Antifade от силна и директна светлина. Да се съхранява при температура 2 – 8°C. Неотвореният продукт е стабилен при тези условия до изтичане на срока на годност, указан на етикета на флакона.

Неразредените реагенти да се върнат на температура 2 – 8°C веднага след употреба.

След отваряне продуктите са стабилни до 18 месеца, но никога по-дълго от срока на годност. След изтичането на този период от време използването на разтворите може да доведе до неоптимални резултати.

## 9 Техническа поддръжка

Техническата поддръжка е на разположение на адрес [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) или чрез имейл: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Свържете се с нас, ако не получите желаните резултати или се появят аномалии при използването на този продукт.

Хартиено печатно копие на ИЗУ може да бъде поискано по имейл, като се свържете с: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



Можете да изтеглите еИЗУ на различни езици от: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Обслужване на клиенти

Сондите Kreatech могат да се поръчат през отдела за обслужване на клиенти на Leica +31 20 6919181 или по имейл: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

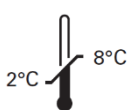
## 11 Хронология

| Версия на ИЗУ | Дата на издаване | Промени                                                                 |
|---------------|------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| 2,4           | 2016-SEP-27      | Премахване на етикета „Доставчик на решения за лабораторна диагностика“ |
| 3,0           | Април 2022 г.    | Актуализация съгласно регламентите за in vitro диагностика              |

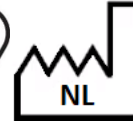
## FISH Reagent Kit

**REF** KBI-60005

Obsahuje dostatečný objem až pro 25 nebo 5x5 testů



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
Nizozemsko  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 Zamýšlené použití / účel

Fluorescenční in situ hybridizace (FISH) identifikuje nebo označuje cílové genomové sekvence, aby bylo možné studovat jejich umístění. Sekvence DNA z příslušných chromozomově specifických sond se nejprve označí reportérovými molekulami. Označená DNA sonda se pak hybridizuje na metafázní chromozomy nebo interfázní jádra na sklíčku. Po promytí se ve vzorku zjistí přítomnost reportérových molekul pomocí fluorescenční mikroskopie.

Pro použití na metafázních a interfázních buňkách z kultur periferní krve nebo na přímých preparátech připravených standardními cytogenetickými metodami.

Tato souprava pro předběžnou úpravu je speciálně vyvinuta pro dosažení optimálních výsledků u ČERSTVĚ připravených cytologických vzorků.

Tento produkt je určen pouze pro diagnostické použití in vitro.

### 2 Popis produktu

Tato souprava pro předběžnou úpravu je určena pro neautomatizované hybridizace FISH a byla speciálně vyvinuta pro použití k předběžné úpravě a enzymové digesci metafázních a interfázních buněk z kultur periferní krve nebo přímých preparátů připravených standardními cytogenetickými metodami před hybridizačním postupem DNA FISH. Tato souprava je speciálně vyvinuta pro dosažení optimálních výsledků u ČERSTVĚ připravených cytologických vzorků. Použití soupravy zruší zesíťování v buňkách, permeabilizuje buněčnou membránu a štěpí buněčné proteiny, aby usnadnilo vazbu sond FISH se specifickou buněčnou DNA.

### 3 Návod k použití

#### 3.1 Vzorky

Pro použití na metafázních a interfázních buňkách z kultur periferní krve nebo na přímých preparátech připravených standardními cytogenetickými metodami.

Tato souprava pro předběžnou úpravu je speciálně vyvinuta pro dosažení optimálních výsledků u ČERSTVĚ připravených cytologických vzorků.

Zpracování vzorků před analýzou: Pro dosažení optimálních výsledků FISH hraje velkou roli zpracování vzorků před analýzou. Vzorek by měl být správně fixován, mít správnou zralost a být předběžně upraven podle dobře zavedeného protokolu. Přílišná nebo nedostatečná fixace nebo nedostatečná předběžná úprava mohou způsobit selhání postupu FISH nebo přinejmenším nízkou reprodukovatelnost/intenzitu signálu. Sondy FISH Kreatech byly testovány na metafázních/interfázních jádrech získaných z kultivované periferní krve a/nebo kostní dřeně. Pro dosažení optimálních výsledků by se měla sklíčka skladovat v souladu s doporučenými podmínkami skladování a manipulace, viz webové stránky společnosti Leica.

#### 3.2 Předběžná úprava

Níže uvedený protokol je určen pro použití 5 sklíček ve svislé Coplinově nádobce o objemu 50 ml.

1. Čerstvě připravená sklíčka se vzorky se předem upraví v 50 ml 2 x SSC / 0,5% Igepal (LK-105B) při 37 °C po dobu 15 minut (min).
2. Odvodněte ponořením do 70%, 85% a 100% etanolu vždy na 1 minutu. Vysušte na vzduchu. Pokračujte přípravou sondy.

### 3.3 Příprava sondy:

Sondy FISH Kreatech™ se dodávají připravené k použití (Ready to Use, RtU). Sondy FISH SE, ST a WC Kreatech™ jsou dodávány 5 x koncentrované a musí být naředěny následujícím způsobem: 2 µl 5 x konc. sondy v 8 µl hybridizačního pufru FISH (FHB nebo WCB, dodává se se sondami). Chcete-li kombinovat několik sond o koncentraci 5 x, nahraďte hybridizační pufr FISH (FHB nebo WCB) 2 µl na každou přidanou sondu.

### 3.4 Společná denaturace

Aplikujte 10 µl sondy na pole 22 x 22 mm. Zakryjte krycím sklíčkem a utěsněte Fixogumem nebo gumovým cementem. Denaturujte vzorek a sondu na ThermoBrite (TS-01/02) při 75 ± 1 °C po dobu 5– 10 min. Pokračujte hybridizací.

### 3.5 Hybridizace:

Inkubujte přes noc při 37 ± 1 °C v ThermoBrite (TS-01/02) nebo ve vlhké komůrce.

### 3.6 Promývání po hybridizaci:

1. Předehřejte 50 ml promývacího pufru I (0,4 x SSC / 0,3% Igepal) (LK-102) při 72 °C.
2. Odstraňte gumový cement.
3. Vložte sklíčka do 50 ml promývacího pufru II (2 x SSC / 0,1% Igepal) (LK-103), inkubujte 2 min. při RT. Sundejte krycí sklíčka. Promývací pufr použijte opakovaně pouze jednou pro celkem 10 sklíček.
4. Vložte sklíčka do 50 ml promývacího pufru I (0,4 x SSC / 0,3% Igepal) (LK-102), inkubujte 2 min při 72 °C (± 1 °C) bez míchání. Promývací pufr použijte opakovaně pouze jednou pro celkem 10 sklíček.
5. Vložte sklíčka do 50 ml promývacího pufru II (2 x SSC / 0,1% Igepal) (LK-103), inkubujte 1 min. při RT bez míchání. Promývací pufr použijte opakovaně pouze jednou pro celkem 10 sklíček.
6. Odvodněte v čerstvém 70%, 85% a 100% etanolu, inkubujte vždy 1 min. při RT. Vysušte na vzduchu a pokračujte na **Kontrastní barvení**

### 3.7 Kontrastní barvení:

Aplikujte 15 µl kontrastního barviva DAPI (DAPI/Antifade 0,1 µg/ml) (LK-095B) nebo jeho ředění pomocí ředicího roztoku kontrastního barviva (LK097B) a přiložte krycí sklíčko. Pokračujte mikroskopováním.

### 3.8 Doporučení k postupu:

Optimálně připravené a předem upravené cytologické preparáty jsou klíčem k dosažení úspěšného výsledku FISH. Nedostatečná nebo nadměrná předběžná úprava má vliv nejen na morfologii, ale také na sílu signálu (a tím i na snadnost analýzy).

Teplota a koncentrace pufru (stringence) při hybridizaci a promývání jsou důležité, protože nižší stringence může vést k nespecifické vazbě sondy na jiné sekvence a vyšší stringence může mít za následek nedostatek signálu. Neúplná denaturace cílové DNA může mít za následek nedostatek signálu.

### 3.9 Doporučení pro fluorescenční mikroskopii

Pro optimální vizualizaci použijte dobře udržovaný a pravidelně kalibrovaný mikroskop vybavený 100W rtuťovou lampou nebo jiným vhodným zdrojem světla (např. metalhalogenidovou žárovkou (120W X-cite) nebo zdroji světla na bázi LED) a fluorescenčním objektivem 63x nebo 100x. Pro zobrazení více barev se používají třípásmové filtry (DAPI/FITC/Cy3 nebo DAPI/FITC/TRITC), pro vizualizaci jednotlivých barev se používají jednopásmové filtry. Doporučení vhodných filtrů pro jednotlivé značky mikroskopů najdete na webových stránkách společnosti Leica: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>.

Vhodný rozsah excitace a emise pro fluorofory Kreatech™:

| Fluorofor           | Excitace    | Emise       |
|---------------------|-------------|-------------|
| DAPI                | 360 ± 20 nm | 460 ± 30 nm |
| PlatinumBright™ 415 | 429 ± 15 nm | 470 ± 15 nm |
| PlatinumBright™ 495 | 495 ± 10 nm | 517 ± 10 nm |
| PlatinumBright™ 550 | 550 ± 10 nm | 580 ± 10 nm |

Uvedená šířka pásma odpovídá 80 % maxima  
excitace/emise fluoroforu

## 4 Analytická výkonnost

Výkonnost soupravy FISH Reagent Kit byla stanovena při použití postupů popsanych v tomto návodu k použití. Úpravy těchto postupů mohou výkonnost testu změnit. Jakékoli odchylky od uvedených protokolů musí být uživatelem validovány. Uživatelé, kteří se při vyšetření odchýlí od doporučeného postupu, musí za těchto okolností přijmout odpovědnost za interpretaci výsledků u pacienta. Doby uvedené v protokolu se mohou lišit kvůli odlišnému způsobu fixace a zpracování.

## 5 Materiály, které jsou nezbytné a jsou dodávány s produktem

| Kód č.   | Popis                                                | Objem      |
|----------|------------------------------------------------------|------------|
| LK-095B  | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml<br>(Kontrastní barvivo DAPI) | 0,5 ml     |
| LK-097B  | Antifade<br>(Ředící roztok kontrastního barviva)     | 0,5 ml     |
| LK-102B* | 0,4 x SSC / 0,3% Igepal<br>(Promývací pufr I)        | 250 ml     |
| LK-103B* | 2 x SSC / 0,1% Igepal<br>(Promývací pufr II)         | 2 x 250 ml |
| LK-105B  | 2 x SSC / 0,5% Igepal                                | 250 ml     |

\*Upozorňujeme, že výrobky LK-102 a LK-103 obsahující stejné číslo, ale různá písmena, jsou identické kromě objemu. A = 100 ml, B = 250 ml

## 6 Materiály, které jsou nezbytné a nejsou dodávány s produktem

- Etanol 100%, 85% a 70%
- Fixogum (LK-071A) nebo gumový cement
- Horká deska s přesnou regulací teploty až do 75 °C nebo ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Inkubátor s přesným rozsahem teplot 37–37 °C
- Vodní lázeň s přesným rozsahem teplot 37–75 °C
- Plastové a skleněné Coplinovy nádoby
- Různé druhy mikropipet (1 µl – 200 µl)
- Fluorescenční mikroskop vybavený vhodnými filtry (viz doporučení pro fluorescenční mikroskopii).

## 7 Varování a bezpečnostní opatření

- Každá závažná událost, ke které došlo v souvislosti s tímto prostředkem, má být oznámena výrobcí a příslušnému orgánu členského státu, v němž je uživatel a/nebo pacient vedený.
- Pro diagnostické použití in vitro. Jen pro profesionální použití v laboratoři. V případě nouze projděte bezpečnostní informace v listech SDS.
- Souprava je zamýšlena k použití pouze před a po provedení DNA FISH na metafázních a interfázních buňkách z kultur periferní krve nebo přímých preparátech připravených standardními cytogenetickými metodami.
- Pouze pro neautomatizovanou předběžnou úpravu FISH a hybridizaci.
- Všechny materiály by měly být zlikvidovány v souladu s předpisy vaší instituce pro likvidaci nemocničního odpadu.
- V případě, že se používají nebo očekávají starší vzorky, preparáty s cytoplazmatickým pozadím nebo obtížné vzorky, doporučuje se použít kit KBI-60006 FISH Digestion.
- Pro tkáň zalité do parafínu se doporučuje použít soupravy pro předběžnou úpravu KBI-60004 nebo KBI-60007.

Označení podle nařízení (ES) č. 1272/2008

| Kód č.  | Popis                                                | Signální slovo | Piktogram                                                                            | Standardní věty o nebezpečnosti |
|---------|------------------------------------------------------|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| LK-095B | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml<br>(Kontrastní barvivo DAPI) | Varování       |  | H315, H319, H335                |
| LK-097B | Antifade<br>(Ředící roztok kontrastního barviva)     | Varování       |  | H315, H319, H335                |

|                |                                               |            |            |            |
|----------------|-----------------------------------------------|------------|------------|------------|
| <b>LK-102B</b> | 0,4 x SSC / 0,3% Igepal<br>(Promývací pufr I) | Neuvádí se | Neuvádí se | Neuvádí se |
| <b>LK-103B</b> | 2 x SSC / 0,1% Igepal<br>(Promývací pufr II)  | Neuvádí se | Neuvádí se | Neuvádí se |
| <b>LK-105B</b> | 2 x SSC / 0,5% Igepal                         | Neuvádí se | Neuvádí se | Neuvádí se |

Standardní věta (věty) o nebezpečnosti

H315 – Dráždí kůži.

H319 – Způsobuje vážné podráždění očí.

H335 – Může způsobit podráždění dýchacích cest

Pokyn(y) pro bezpečné zacházení

P271 – Používejte pouze venku nebo v dobře větraných prostorách.

P261 – Zamezte vdechování mlhy/par/aerosolu.

P264 – Po manipulaci důkladně omyjte všechny odkryté vnější části těla.

P280 – Používejte ochranné rukavice, ochranný oděv, ochranné brýle a obličejový štít.

Pokyny pro bezpečné zacházení – reakce

P305+P351+P338 – PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně oplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

P312 – Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/lékaře/první pomoc.

P337+P313 – Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

P302+P352 – PŘI STYKU S KÚŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody a mýdla.

P304+P340 – PŘI VDECHNUTÍ: Přeneste osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v poloze usnadňující dýchání.

P332+P313 – Při podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

P362+ P364 – Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte.

Dodatečné standardní věty o nebezpečnosti: žádné

Omezeno na profesionální uživatele v laboratoři

Vysvětlení symbolů

|                                                                                     |                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
|  | Obsahuje nebezpečné látky               |
|  | Země výroby                             |
|  | Nepoužívejte, pokud je obal poškozený   |
|  | Nahlédněte do elektronického IfU (eIfU) |

## 8 Skladování reagensů a manipulace s nimi

Chraňte DAPI/Antifade před silným a přímým světlem. Uchovávejte při teplotě 2 – 8 °C. Neotevřený produkt je za těchto podmínek stabilní až do data expirace uvedeného na štítku lahvičky.

Okamžitě po použití vraťte nenařazené reagensie do prostředí s teplotou 2– 8 °C.

Po otevření jsou produkty stabilní po dobu až 18 měsíců, nikdy však déle, než je datum expirace. Po uplynutí této doby může použití roztoků vést k neoptimálním výsledkům.

## 9 Technická podpora

Technická podpora je k dispozici na [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) nebo prostřednictvím e-mailu: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Pokud se při používání tohoto produktu nedostaví požadované výsledky nebo se objeví jakékoli anomálie, kontaktujte nás.

Tištěnou verzi IfU si můžete vyžádat e-mailem na adrese: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



elFu je k dispozici v dalších jazycích, které si můžete stáhnout ze stránek: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Zákaznický servis

Sondy Kreatech lze objednat prostřednictvím zákaznického servisu Leica +31 20 6919181 nebo e-mailem: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

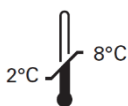
## 11 Historie

| Verze IfU | Datum vydání | Změny                                         |
|-----------|--------------|-----------------------------------------------|
| 2,4       | 2016-SEP-27  | Odstranění sloganu „Společnost pro patologii“ |
| 3,0       | duben 2022   | Aktualizace podle předpisů pro IVD            |

## FISH-reagenskit

**REF** KBI-60005

Indeholder tilstrækkelig volumen til op til 25 eller 5x5 tests



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
Holland  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 Tiltænkt brug/formål

Fluorescerende in situ-hybridisering (FISH) identificerer eller mærker genomiske målsekvenser, så deres placering kan studeres. DNA-sekvenser fra passende kromosomspecifikke sonder mærkes først med reporter-molekyler. Den mærkede DNA-sonde hybridiseres derefter til metafasekromosomerne eller interfasekernerne på et objektglas. Efter vask screenes prøven for reporter-molekylerne ved fluorescensmikroskopi.

Til brug på metafase- og interfaseceller fra perifere blodkulturer eller direkte præparater fremstillet ved standard cytogenetiske metoder.

Dette forbehandlingskit er specielt udviklet til at opnå optimale resultater på FRISKT fremstillede cytologiske prøver.

Dette produkt er beregnet til in vitro-diagnostisk anvendelse.

### 2 Produktbeskrivelse

Dette forbehandlingskit er til ikke-automatiserede FISH-hybridiseringer, der er specielt udviklet til brug til forbehandling og enzymfordøjelse af metafase- og interfaseceller fra perifere blodkulturer eller direkte præparater fremstillet ved standard cytogenetiske metoder før DNA FISH-hybridiseringsproceduren. Dette kit er specielt udviklet til at opnå optimale resultater på FRISKT fremstillede cytologiske prøver. Brugen af kittet vil vende tværbindingerne om i cellerne, permeabilisere cellemembranen og fordøje celleproteiner for at lette bindingen af FISH-sonderne med det specifikke celle-DNA.

### 3 Brugsanvisning

#### 3.1 Prøver

Til brug på metafase- og interfaseceller fra perifere blodkulturer eller direkte præparater fremstillet ved standard cytogenetiske metoder.

Dette forbehandlingskit er specielt udviklet til at opnå optimale resultater på FRISKT fremstillede cytologiske prøver.

Præanalyser af prøver: For at opnå en vellykket FISH spiller præanalysen en stor rolle. Prøven skal være korrekt fikseret, lagret og forbehandlet i henhold til en veletableret protokol. Overfiksering, underfiksering eller dårlig forbehandling af prøven kan forårsage fejl i FISH-proceduren eller i det mindste lav reproducerbarhed/signalintensitet. Kreatech FISH-sonder er blevet testet på metafase/interfasekerner afledt af dyrket perifert blod og/eller knoglemarv. Objektglassene skal opbevares i henhold til de anbefalede opbevarings- og håndteringsforhold for at opnå optimale resultater. Se Leicas website.

#### 3.2 Forbehandling

Protokol nedenfor er til brug af 5 objektglas i en opretstående coplin-skål på 50 ml.

1. Forbehandl friskt fremstillede prøveobjektglas i 50 ml 2 x SSC/0,5 % Igepal (LK-105B) ved 37 °C i 15 minutter (min.).
2. Dehydrer i 70 %, 85 % og 100 % ethanol i hver 1 minut. Lufttør. Fortsæt med **klargøring af sonden**.

#### 3.3 Forberedelse af sonde:

Kreatech™ FISH-sonder leveres klar til brug. SE, ST og WC Kreatech™ FISH-sonder leveres 5 x koncentrerede og skal fortyndes som følger: 2 µl 5 x konc. sonde i 8 µl FISH-hybridiseringsbuffer (FHB eller WCB, leveres med sonde). Udskift FISH Hybridization Buffer (FHB eller WCB) med 2 µl for hver sonde, der tilføjes, for at kombinere flere 5 x konc. sonder.

### 3.4 Co-denaturering

Påfør 10 µl sonde pr. 22 x 22 mm felt. Dæk med glasdæksel og forsegl med Fixogum eller gummicement. Denaturer prøve og sonde på en ThermoBrite (TS-01/02) ved 75 ±1 °C i 5-10 min. Fortsæt med **hybridisering**.

### 3.5 Hybridisering:

Inkubér natten over at 37 ±1 °C i en ThermoBrite (TS-01/02) eller i et befugtet kammer.

### 3.6 Post-hybridiseringsvask:

1. Forvarm 50 ml vaskebuffer I (0,4 x SSC/0,3 % Igepal) (LK-102) til 72 °C
2. Fjern gummicement.
3. Placer objektglassene i 50 ml vaskebuffer II (2 x SSC / 0,1 % Igepal) (LK-103), inkubér i 2 min. ved rumtemperatur. Træk dækglass af. Genbrug kun vaskebufferen én gang til i alt 10 objektglas.
4. Placer objektglassene i 50 ml forvarmet vaskebuffer I (0,4 x SSC / 0,3 % Igepal) (LK-102), inkubér i 2 minutter ved 72 °C (+- 1 °C) uden omrøring. Genbrug kun vaskebufferen én gang til i alt 10 objektglas.
5. Placer objektglassene i 50 ml frisk vaskebuffer II (2 x SSC / 0,1 % Igepal) (LK-103), inkubér i 1 min. ved rumtemperatur uden omrøring. Genbrug kun vaskebufferen én gang til i alt 10 objektglas.
6. Dehydrer i frisk 70 %, 85 % og 100 % ethanol, inkubér i hver 1 min. ved rumtemperatur. Lufttør ved rumtemperatur, og fortsæt til **Kontrastfarvning**.

### 3.7 Kontrastfarvning:

Påfør 15 µl DAPI-kontrastfarvning (DAPI/antifade 0,1 µg/ml) (LK-095B) eller en fortynding af denne med kontrastfarvningsfortynder (LK097B), og sæt glasdækslet på. Fortsæt med mikroskopi.

### 3.8 Proceduremæssige anbefalinger:

Optimalt klargjorte og forbehandlede cytologiske objektglas er nøglen til at opnå et vellykket FISH-resultat. Under eller over forbehandling påvirker ikke kun morfologien, men også signalstyrken (og dermed analysen).

Temperatur og bufferkoncentration (stringens) af hybridisering og vask er vigtige, da lavere stringens kan resultere i ikke-specifik binding af sonden til andre sekvenser, og højere stringens kan resultere i mangel på signal. Ufuldstændig denaturering af mål-DNA kan resultere i mangel på signal.

### 3.9 Anbefalinger til fluorescensmikroskopi

For optimal visualisering skal der anvendes et velholdt og regelmæssigt kalibreret mikroskop udstyret med en 100W kviksløvlampe eller anden passende lyskilde (f.eks. metalhalogenpære (120W X-cite) eller LED-baserede lyskilder) og et 63x eller 100x fluorescensobjektiv. Tredobbelte båndpasfiltre (DAPI/FITC/Cy3 eller DAPI/FITC/TRITC) bruges til at se flere farver. Enkelt båndpasfilter bruges til individuel farvevisualisering. Se Leicas website for anbefalinger om passende filtre til hvert mikroskopmærke: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Egnet excitations- og emissionsområde for Kreatech™-fluoroforer:

| Fluorofor           | Excitation | Emission   |
|---------------------|------------|------------|
| DAPI                | 360 ±20 nm | 460 ±30 nm |
| PlatinumBright™ 415 | 429 ±15 nm | 470 ±15 nm |
| PlatinumBright™ 495 | 495 ±10 nm | 517 ±10 nm |
| PlatinumBright™ 550 | 550 ±10 nm | 580 ±10 nm |

Den viste båndbredde svarer til 80 % af maksimum excitation/emission af fluorofor

## 4 Analytiske resultater

Ydeevnen af FISH-reagenskit er blevet fastslået ved hjælp af procedurerne beskrevet i denne brugsanvisning. Ændringer af disse procedurer kan ændre udførelsen af analysen. Eventuelle afvigelser fra de instruerede protokoller skal valideres af brugeren. Brugere, som afviger fra anbefalede testprocedurer, må selv tage ansvaret for tolkningen af patientresultater under disse betingelser. Protokoltider kan variere på grund af variation i fiksering og behandling.

## 5 Nødvendige materialer, der leveres med produktet

| Kodenr.  | Beskrivelse                                     | Volumen    |
|----------|-------------------------------------------------|------------|
| LK-095B  | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI-kontrastfarvning) | 0,5 ml     |
| LK-097B  | Antifade (Kontrastfarvningsfortynder)           | 0,5 ml     |
| LK-102B* | 0,4 x SSC / 0,3 % Igepal (Vaskebuffer I)        | 250 ml     |
| LK-103B* | 2 x SSC/0,1 % Igepal (Vaskebuffer II)           | 2 x 250 ml |
| LK-105B  | 2 x SSC/0,5 % Igepal                            | 250 ml     |

\*Bemærk, at LK-102- og LK-103-produkter, der indeholder samme tal, men forskellige bogstaver er identiske bortset fra volumen. A = 100 ml, B = 250 ml

## 6 Nødvendige materialer, der ikke leveres med produktet

- Ethanol 100 %, 85 % og 70 %
- Fixogum (LK-071A) eller gummiment
- Varmeplade med nøjagtig temperaturstyring op til 75 °C eller ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Inkubator med nøjagtigt temperaturområde på 37 °C
- Vandbad med nøjagtigt temperaturområde på 37-75 °C
- Coplin-skåle af glas og plastik
- Variable mikropipetter (1 µl - 200 µl)
- Fluorescensmikroskop udstyret med passende filtre (se anbefalinger for fluorescensmikroskopi).

## 7 Advarsel og forholdsregler

- Enhver alvorlig hændelse, der er opstået i forbindelse med udstyret, skal rapporteres til fabrikanten og den kompetente myndighed i den medlemsstat, hvor brugeren og/eller patienten er etableret.
- Til in vitro-diagnostisk anvendelse. Kun til professionel laboratoriebrug. I nødstilfælde skal du kontrollere sikkerhedsdatabladene for sikkerhedsinformation.
- Kittet er kun beregnet til brug før og efter DNA FISH på metafase- og interfaseceller fra perifere blodkulturer eller direkte præparater fremstillet ved standard cytogenetiske metoder.
- Kun til ikke-automatiseret FISH-forbehandling og hybridisering.
- Alle materialer skal bortskaffes i henhold til din institutions retningslinjer for bortskaffelse af hospitalsaffald.
- Det anbefales at bruge KBI-60006 FISH Digestion-kit, hvis der anvendes eller forventes ældre prøver, objektglas med cytoplasmatiske baggrund eller vanskelige prøver.
- Til paraffinindlejret væv anbefales det at bruge forbehandlingskit KBI-60004 eller KBI-60007.

Mærkning i henhold til forordning (EF) nr. 1272/2008

| Kodenr. | Beskrivelse                                     | Signalord     | Piktogram                                                                           | Faresætninger    |
|---------|-------------------------------------------------|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| LK-095B | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI-kontrastfarvning) | Advarsel      |  | H315, H319, H335 |
| LK-097B | Antifade (Kontrastfarvningsfortynder)           | Advarsel      |  | H315, H319, H335 |
| LK-102B | 0,4 x SSC / 0,3 % Igepal (Vaskebuffer I)        | Ikke relevant | Ikke relevant                                                                       | Ikke relevant    |
| LK-103B | 2 x SSC/0,1 % Igepal (Vaskebuffer II)           | Ikke relevant | Ikke relevant                                                                       | Ikke relevant    |
| LK-105B | 2 x SSC/0,5 % Igepal                            | Ikke relevant | Ikke relevant                                                                       | Ikke relevant    |

Faresætning(er)

H315 – Forårsager hudirritation.  
H319 – Forårsager alvorlig øjenirritation.  
H335 – Kan forårsage irritation af luftvejene

Sikkerhedssætning(er) – forebyggelse

P271 – Brug kun udendørs eller i et rum med god udluftning.  
P261 – Undgå indånding af tåge/dampe/spray.  
P264 – Vask alle udsatte ydre kropsdele grundigt efter håndtering.  
P280 – Bær beskyttelseshandsker, beskyttelsestøj, øjen- og ansigtsbeskyttelse.

Sikkerhedssætning(er) – respons

P305+P351+P338 – VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning.  
P312 – Ring til en GIFTINFORMATION/læge/skadestue, hvis du føler dig utilpas.  
P337+P313 – Ved vedvarende øjenirritation: Søg lægehjælp/-behandling.  
P302+P352 – VED KONTAKT MED HUDEN: Vask med rigeligt vand og sæbe.  
P304+P340 – VED INDÅNDING:: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejrtrækningen lettes.  
P332+P313 – Ved hudirritation: Søg lægehjælp/-behandling.  
P362+P364 – Alt tilsmudset tøj tages af og vaskes inden genanvendelse.

Supplerende faresætninger: ingen

Begrænset til professionelle laboratoriebrugere

#### Symbolforklaring

|                                                                                     |                                                 |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
|   | Indeholder farlige stoffer                      |
|  | Fremstillingsland                               |
|  | Må ikke anvendes, hvis emballagen er beskadiget |
|  | Se den elektroniske brugsanvisning              |

## 8 Opbevaring og håndtering af reagenser

Beskyt DAPI/Antifade mod stærkt og direkte lys. Opbevares ved 2-8 °C. Det uåbnede produkt er stabilt under disse forhold op til den udløbsdato, der er angivet på hætteglassets mærke.

Returner ufortyndet reagens til 2-8 °C umiddelbart efter brug.

Efter åbning er produkter stabile i op til 18 måneder, men aldrig længere end udløbsdatoen. Brugen af opløsningerne udover denne tidsperiode kan resultere i suboptimale resultater.

## 9 Teknisk support

Teknisk support er tilgængelig på [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) eller via e-mail: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Kontakt os, hvis de ønskede resultater ikke opnås, eller hvis der opstår uregelmæssigheder i forbindelse med brug af dette produkt.

En papirtrykt kopi af brugsanvisningen kan rekvireres via e-mail ved at kontakte: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



Den elektroniske brugsanvisning er tilgængelig på yderligere sprog, der kan downloades fra: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Kundeservice

Kreatech-sonder kan bestilles gennem Leica kundeservice +31 20 6919181 eller bestilles via e-mail: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

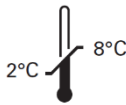
## 11 Historik

| Brugsanvisningsversion | Udstedelsesdato | Ændringer                              |
|------------------------|-----------------|----------------------------------------|
| 2,4                    | 2016-SEP-27     | Fjern sloganet "The pathology Company" |
| 3,0                    | April 2022      | Opdatering i henhold til IVD-regler    |

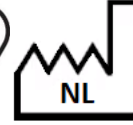
## FISH Reagent Kit

**REF** KBI-60005

Volumen ausreichend für bis zu 25 oder 5 x 5 Tests



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
Niederlande  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 Verwendungszweck

Die Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung (FISH) identifiziert oder markiert Zielgenomsequenzen, sodass deren Position untersucht werden kann. Zunächst werden DNA-Sequenzen aus entsprechenden chromosomspezifischen Sonden mit Reportermolekülen markiert. Die markierte DNA-Sonde wird dann auf die Metaphasenchromosomen oder Interphasenkerne auf einem Objektträger hybridisiert. Nach dem Waschen wird die Probe mittels Fluoreszenzmikroskopie auf die Reportermoleküle untersucht.

Zur Verwendung bei Metaphasen- und Interphasenzellen aus Peripherblutkulturen oder Direktpräparaten, die mittels zytogenetischer Standardmethoden vorbereitet wurden.

Dieses Vorbehandlungskit wurde speziell entwickelt, um optimale Ergebnisse für FRISCH vorbereitete zytologische Proben zu erhalten.

Dieses Produkt ist für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.

### 2 Produktbeschreibung

Dieses Vorbehandlungskit ist für nicht-automatisierte FISH-Hybridisierungen bestimmt und wurde speziell zur Verwendung für die Vorbehandlung und Enzymandauung von Metaphasen- und Interphasenzellen aus Peripherblutkulturen oder Direktpräparaten, die mittels zytogenetischer Standardmethoden vorbereitet wurden, vor dem DNA-FISH-Hybridisierungsverfahren entwickelt. Dieses Kit wurde speziell entwickelt, um optimale Ergebnisse für FRISCH vorbereitete zytologische Proben zu erhalten. Die Verwendung des Kits bewirkt eine Aufhebung der Quervernetzungen in den Zellen, eine Durchlässigkeit der Zellmembran und eine Andauung der Zellproteine, um die Bindung der FISH-Sonden an die spezifische Zell-DNA zu erleichtern.

### 3 Gebrauchsanweisung

#### 3.1 Specimens

Zur Verwendung bei Metaphasen- und Interphasenzellen aus Peripherblutkulturen oder Direktpräparaten, die mittels zytogenetischer Standardmethoden vorbereitet wurden.

Dieses Vorbehandlungskit wurde speziell entwickelt, um optimale Ergebnisse für FRISCH vorbereitete zytologische Proben zu erhalten.

Probenpräanalytik: Die Präanalytik spielt eine wesentliche Rolle für den Erfolg des FISH-Verfahrens. Die Probe muss gemäß einem bewährten Protokoll richtig fixiert, reifen gelassen und vorbehandelt werden. Eine zu starke oder zu schwache Fixierung oder eine unzureichende Vorbehandlung der Probe kann ein Versagen des FISH-Verfahrens oder zumindest eine geringe Reproduzierbarkeit/Signalintensität zur Folge haben. Kreatech FISH-Sonden wurden mit Metaphasen-/Interphasenkernen aus Peripherblut- und/oder Knochenmarkkulturen getestet. Objektträger müssen für optimale Ergebnisse entsprechend den empfohlenen Lagerungs- und Handhabungsbedingungen gelagert werden; siehe hierzu die Website von Leica.

#### 3.2 Vorbehandlung

Das folgende Protokoll beschreibt das Verfahren bei Verwendung von 5 Objektträgern in einem aufrecht stehenden 50-ml-Färbetrog nach Coplin.

1. Frisch vorbereitete Probenobjektträger 15 Minuten (Min.) lang bei 37 °C in 50 ml 2 x SSC/0,5 % Igepal (LK-105B) vorbehandeln.
2. Jeweils 1 Min. lang in 70 %, 85 % und 100 % Ethanol dehydrieren. An der Luft trocknen lassen. Mit der **Sondenvorbereitung** fortfahren.

### 3.3 Sondenvorbereitung

Kreatech™ FISH-Sonden sind gebrauchsfertig. SE, ST und WC Kreatech™ FISH-Sonden sind 5-fach konzentriert und müssen wie folgt verdünnt werden: 2 µl 5-fach konz. Sonde in 8 µl FISH-Hybridisierungspuffer (FHB oder WCB; im Lieferumfang der Sonden enthalten). Wenn mehrere 5-fach konz. Sonden kombiniert werden, muss der FISH-Hybridisierungspuffer (FHB oder WCB) durch 2 µl für jede hinzugefügte Sonde ersetzt werden.

### 3.4 Co-Denaturierung

Pro Feld (22 x 22 mm) 10 µl der Sonde auftragen. Mit Deckglas versehen und mit Fixogum oder Gummilösung (Rubber Cement) abdichten. Probe und Sonde 5–10 Min. lang bei  $75 \pm 1^\circ\text{C}$  in einem ThermoBrite (TS-01/02) denaturieren. Mit der **Hybridisierung** fortfahren.

### 3.5 Hybridisierung

Über Nacht bei  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  in einem ThermoBrite (TS-01/02) oder einer befeuchteten Kammer inkubieren.

### 3.6 Waschen nach der Hybridisierung

1. 50 ml von Waschpuffer I (0,4 x SSC/0,3 % Igepal) (LK-102) auf  $72^\circ\text{C}$  vorwärmen.
2. Die Gummilösung entfernen.
3. Die Objektträger in 50 ml Waschpuffer II (2 x SSC/0,1 % Igepal) (LK-103) legen und 2 Min. lang bei RT inkubieren. Die Deckgläser abnehmen. Der Waschpuffer darf nur einmal für insgesamt 10 Objektträger wiederverwendet werden.
4. Die Objektträger in 50 ml vorgewärmten Waschpuffer I (0,4 x SSC/0,3 % Igepal) (LK-102) legen und 2 Min. lang ohne Rühren bei  $72^\circ\text{C}$  ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) inkubieren. Der Waschpuffer darf nur einmal für insgesamt 10 Objektträger wiederverwendet werden.
5. Die Objektträger in 50 ml frischen Waschpuffer II (2 x SSC/0,1 % Igepal) (LK-103) legen und 1 Min. lang ohne Rühren bei RT inkubieren. Der Waschpuffer darf nur einmal für insgesamt 10 Objektträger wiederverwendet werden.
6. In 70 %, 85 % und 100 % frischem Ethanol dehydrieren und jeweils 1 Min. lang bei RT inkubieren. Bei RT an der Luft trocknen lassen und mit der **Gegenfärbung** fortfahren.

### 3.7 Gegenfärbung

15 µl des DAPI Gegenfärbemittels (DAPI/Antifade 0,1 µg/ml) (LK-095B) oder einer mit Gegenfärbemittel-Verdüner (LK097B) hergestellten Verdünnungslösung auftragen und mit einem Deckglas versehen. Mit der Mikroskopie fortfahren.

### 3.8 Empfehlungen für das Verfahren

Für ein erfolgreiches FISH-Ergebnis ist es wesentlich, dass die zytologischen Objektträger optimal vorbereitet und vorbehandelt werden. Eine unzureichende oder zu starke Vorbehandlung hat nicht nur Einfluss auf die Morphologie sondern auch auf die Signalstärke (und somit auf die Einfachheit der Analyse).

Bei der Hybridisierung und dem Waschen sind die Temperatur und die Pufferkonzentration (Stringenz) wichtig, da eine geringere Stringenz eine unspezifische Bindung der Sonde an andere Sequenzen und eine höhere Stringenz ein fehlendes Signal zur Folge haben kann. Eine unvollständige Denaturierung der Ziel-DNA kann ein fehlendes Signal zur Folge haben.

### 3.9 Empfehlungen für die Fluoreszenzmikroskopie

Für eine optimale Visualisierung ein ordnungsgemäß gewartetes und regelmäßig kalibriertes Mikroskop verwenden, das mit einer 100-W-Quecksilberlampe oder einer anderen geeigneten Lichtquelle (z. B. Metallhalogenid-Lichtquelle (X-cite, 120 W) oder LED-basierte Lichtquellen) und einem Fluoreszenzobjektiv mit 63- oder 100-facher Vergrößerung ausgestattet ist. Es werden Dreifachbandpassfilter (DAPI/FITC/Cy3 oder DAPI/FITC/TRITC) zur Darstellung mehrerer Farben und Einfachbandpassfilter zur Visualisierung einzelner Farben verwendet. Filterempfehlungen für die jeweiligen Mikroskope sind auf der Leica-Website unter <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/> zu finden.

Empfohlene Anregungs- und Emissionsbereiche für Kreatech™ Fluorophore:

| Fluorophor          | Anregung               | Emission               |
|---------------------|------------------------|------------------------|
| DAPI                | $360 \pm 20\text{ nm}$ | $460 \pm 30\text{ nm}$ |
| PlatinumBright™ 415 | $429 \pm 15\text{ nm}$ | $470 \pm 15\text{ nm}$ |

|                            |             |             |
|----------------------------|-------------|-------------|
| <b>PlatinumBright™ 495</b> | 495 ± 10 nm | 517 ± 10 nm |
| <b>PlatinumBright™ 550</b> | 550 ± 10 nm | 580 ± 10 nm |

(Die angegebene Bandbreite entspricht 80 % der maximalen Anregung/Emission des Fluorophors.)

## 4 Analytische Leistung

Die Leistung des FISH Reagent Kit wurde anhand der in dieser Gebrauchsanweisung beschriebenen Verfahren bewertet. Änderungen an diesen Verfahren können sich auf die Leistung des Assays auswirken. Alle Abweichungen von den vorgeschriebenen Protokollen müssen vom Anwender validiert werden. Anwender, die von den empfohlenen Testverfahren abweichen, müssen die Verantwortung für eine Auswertung der Patientenergebnisse unter diesen Umständen übernehmen. Die Protokollzeiten können aufgrund von Unterschieden bei der Fixierung und Verarbeitung schwanken.

## 5 Erforderliche und im Lieferumfang des Produkts enthaltene Materialien

| Code-Nr.        | Beschreibung                                       | Volumen    |
|-----------------|----------------------------------------------------|------------|
| <b>LK-095B</b>  | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml<br>(DAPI Gegenfärbemittel) | 0,5 ml     |
| <b>LK-097B</b>  | Antifade<br>(Gegenfärbemittel-Verdünner)           | 0,5 ml     |
| <b>LK-102B*</b> | 0,4 x SSC/0,3 % Igepal<br>(Waschpuffer I)          | 250 ml     |
| <b>LK-103B*</b> | 2 x SSC/0,1 % Igepal<br>(Waschpuffer II)           | 2 x 250 ml |
| <b>LK-105B</b>  | 2 x SSC/0,5 % Igepal                               | 250 ml     |

\* Hinweis: Produkte mit der Code-Nummer LK-102 oder LK-103, die aber einen anderen Buchstaben haben, sind identisch, mit Ausnahme des Volumens. A = 100 ml, B = 250 ml

## 6 Erforderliche, aber nicht im Lieferumfang des Produkts enthaltene Materialien

- Ethanol 100 %, 85 % und 70 %
- Fixogum (LK-071A) oder Gummilösung (Rubber Cement)
- Wärmeplatte mit genauer Temperaturkontrolle bis zu 75 °C oder ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Inkubator mit genauem Temperaturbereich von 37 °C
- Wasserbad mit genauem Temperaturbereich von 37–75 °C
- Färbetröge nach Coplin aus Kunststoff und Glas
- Variable Mikropipetten (1–200 µl)
- Fluoreszenzmikroskop mit geeigneten Filtern (siehe die Empfehlungen für die Fluoreszenzmikroskopie)

## 7 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Etwaige schwerwiegende Vorfälle, die im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten sind, müssen dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaates, in dem der Anwender und/oder der Patient ansässig ist, gemeldet werden.
- Für In-vitro-Diagnostik. Nur für die professionelle Anwendung im Labor. Im Notfall die Sicherheitsinformationen in den Sicherheitsdatenblättern beachten.
- Das Kit ist nur zur Verwendung bei Metaphasen- und Interphasenzellen aus Peripherblutkulturen oder Direktpräparaten, die mittels zytogenetischer Standardmethoden vorbereitet wurden, sowohl vor als auch nach dem DNA-FISH-Verfahren bestimmt.
- Nur für die nicht-automatisierte FISH-Vorbehandlung und -Hybridisierung bestimmt.
- Alle Materialien müssen in Übereinstimmung mit den Richtlinien zur Entsorgung von Krankenhausabfällen der jeweiligen Einrichtung entsorgt werden.
- Wenn ältere Proben, Objektträger mit zytoplasmatischem Hintergrund oder schwierige Proben verwendet oder erwartet werden, wird die Verwendung des KBI-60006 FISH Digestion Kit empfohlen.
- Für in Paraffin eingebettetes Gewebe wird empfohlen, das Vorbehandlungskit KBI-60004 oder KBI-60007 zu verwenden.

Kennzeichnung gemäß Verordnung (EG) Nr. 1272/2008

| Code-Nr. | Beschreibung | Signalwort | Piktogramm | Gefahrenhinweise (H-Sätze) |
|----------|--------------|------------|------------|----------------------------|
|----------|--------------|------------|------------|----------------------------|

|                |                                                    |         |                                                                                   |                     |
|----------------|----------------------------------------------------|---------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <b>LK-095B</b> | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml<br>(DAPI Gegenfärbemittel) | Achtung |  | H315, H319,<br>H335 |
| <b>LK-097B</b> | Antifade<br>(Gegenfärbemittel-Verdünner)           | Achtung |  | H315, H319,<br>H335 |
| <b>LK-102B</b> | 0,4 x SSC/0,3 % Igepal<br>(Waschpuffer I)          | N.A.    | N.A.                                                                              | N.A.                |
| <b>LK-103B</b> | 2 x SSC/0,1 % Igepal<br>(Waschpuffer II)           | N.A.    | N.A.                                                                              | N.A.                |
| <b>LK-105B</b> | 2 x SSC/0,5 % Igepal                               | N.A.    | N.A.                                                                              | N.A.                |

#### Gefahrenhinweis(e)

H315 – Verursacht Hautreizungen.

H319 – Verursacht schwere Augenreizung.

H335 – Kann die Atemwege reizen.

#### Sicherheitshinweis(e) – Prävention

P271 – Nur im Freien oder in gut belüfteten Räumen verwenden.

P261 – Einatmen von Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.

P264 – Nach Gebrauch alle exponierten äußerlichen Körperstellen gründlich waschen.

P280 – Schutzhandschuhe, Schutzkleidung, Augenschutz und Gesichtsschutz tragen.

#### Sicherheitshinweis(e) – Reaktion

P305+P351+P338 – BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen.  
Evtl. vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen.

P312 – Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt/Notarzt anrufen.

P337+P313 – Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.

P302+P352 – BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen.

P304+P340 – BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen.

P332+P313 – Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.

P362+P364 – Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.

Zusätzliche Gefahrenhinweise: keine

Nur für professionelle Anwender im Labor

#### Zeichenerklärung

|                                                                                     |                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
|  | Enthält gefährliche Substanzen                      |
|  | Herstellungsland                                    |
|  | Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist |
|  | Elektronische Gebrauchsanweisung beachten           |

## 8 Lagerung und Handhabung der Reagenzien

DAPI/Antifade vor starker und direkter Lichteinstrahlung schützen. Bei 2–8 °C aufbewahren. Das ungeöffnete Produkt ist unter diesen Bedingungen bis zu dem auf dem Produktetikett angegebenen Ablaufdatum stabil. Unverdünnte Reagenzien müssen direkt nach der Verwendung wieder bei 2–8 °C eingelagert werden. Nach dem Öffnen sind die Produkte bis zu 18 Monate lang, aber höchstens bis zum Ablaufdatum stabil. Werden die Lösungen darüber hinaus verwendet, können suboptimale Ergebnisse auftreten.

## 9 Technischer Support

Der Technische Support ist unter [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) oder per E-Mail an [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com) erreichbar. Kontaktieren Sie uns, falls nicht die gewünschten Ergebnisse ermittelt werden oder irgendwelche Unregelmäßigkeiten bei der Verwendung des Produkts auftreten.

Wenn Sie eine ausgedruckte Kopie der Gebrauchsanweisung anfordern möchten, senden Sie eine E-Mail an: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com).



Die elektronische Gebrauchsanweisung kann in unterschiedlichen Sprachen unter [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) heruntergeladen werden.

## 10 Kundendienst

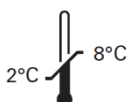
Kreatech Sonden können beim Leica-Kundendienst unter +31 20 6919181 oder per E-Mail an [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com) bestellt werden.

## 11 Historie

| Version der Gebrauchsanweisung | Ausgabedatum  | Änderungen                                                 |
|--------------------------------|---------------|------------------------------------------------------------|
| 2,4                            | 27. SEP. 2016 | Entfernung der Tagline „The pathology Company“             |
| 3,0                            | April 2022    | Aktualisierung in Übereinstimmung mit den IVD-Verordnungen |

**Κιτ αντιδραστηρίων FISH****REF KBI-60005**

Περιέχει επαρκή όγκο για έως και 25 ή 5x5 δοκιμές



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
Ολλανδία  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



## 1 Προβλεπόμενη χρήση/σκοπός

Η φθορίζουσα υβριδοποίηση in situ (FISH) προσδιορίζει ή επισημαίνει γονιδιωματικές αλληλουχίες-στόχους, ώστε να καταστεί δυνατή η μελέτη της θέσης τους. Οι αλληλουχίες DNA από κατάλληλους χρωμοσωμικούς ανιχνευτές σημαίνονται πρώτα με μόρια αναφοράς. Στη συνέχεια, ο επισημασμένος ανιχνευτής DNA υβριδοποιείται στα χρωμοσώματα της μετάφασης ή στους πυρήνες της ενδιάμεσης φάσης σε μια αντικειμενοφόρο πλάκα. Μετά την έκπλυση, το δείγμα ελέγχεται για τα μόρια αναφοράς με μικροσκοπία φθορισμού.

Για χρήση σε μεταφασικά και μεσοφασικά κύτταρα από καλλιέργειες περιφερικού αίματος ή απευθείας παρασκευάσματα που παρασκευάζονται με τυποποιημένες κυτταρογενετικές μεθόδους.

Αυτό το κιτ προεπεξεργασίας έχει αναπτυχθεί ειδικά για την επίτευξη βέλτιστων αποτελεσμάτων σε NEA προετοιμασμένα κυτταρολογικά δείγματα.

Το προϊόν αυτό προορίζεται για in vitro διαγνωστική χρήση.

## 2 Περιγραφή προϊόντος

Αυτό το κιτ προεπεξεργασίας είναι για μη αυτοματοποιημένους υβριδισμούς FISH που αναπτύχθηκε ειδικά για τη χρήση προεπεξεργασίας και ενζυμικής πέψης μεταφασικών και μεσοφασικών κυττάρων από καλλιέργειες περιφερικού αίματος ή απευθείας παρασκευάσματα που παρασκευάζονται με τυποποιημένες κυτταρογενετικές μεθόδους πριν από τη διαδικασία υβριδισμού DNA FISH. Αυτό το κιτ έχει αναπτυχθεί ειδικά για την επίτευξη βέλτιστων αποτελεσμάτων σε NEA προετοιμασμένα κυτταρολογικά δείγματα. Η χρήση του κιτ θα αντιστρέψει τους σταυροειδείς συνδέσμους στα κύτταρα, θα διαπεράσει την κυτταρική μεμβράνη και θα αφομοιώσει τις κυτταρικές πρωτεΐνες για να διευκολύνει τη σύνδεση των ανιχνευτών FISH με το συγκεκριμένο κυτταρικό DNA.

## 3 Οδηγίες χρήσης

### 3.1 Δείγματα

Για χρήση σε μεταφασικά και μεσοφασικά κύτταρα από καλλιέργειες περιφερικού αίματος ή απευθείας παρασκευάσματα που παρασκευάζονται με τυποποιημένες κυτταρογενετικές μεθόδους.

Αυτό το κιτ προεπεξεργασίας έχει αναπτυχθεί ειδικά για την επίτευξη βέλτιστων αποτελεσμάτων σε NEA προετοιμασμένα κυτταρολογικά δείγματα.

Προανάλυση δειγμάτων: Για να επιτευχθεί ένα επιτυχημένο FISH, οι προ-αναλύσεις παίζουν σημαντικό ρόλο. Το δείγμα θα πρέπει να στερεώνεται, να ωριμάζει και να προεπεξεργάζεται σωστά σύμφωνα με ένα καθιερωμένο πρωτόκολλο. Η υπερβολική στερέωση, η υποστερέωση ή η κακή προεπεξεργασία του δείγματος μπορεί να προκαλέσει αποτυχία της διαδικασίας FISH ή τουλάχιστον χαμηλή αναπαραγωγιμότητα/ένταση σήματος. Οι ανιχνευτές FISH της Kreatech έχουν δοκιμαστεί σε πυρήνες μετάφασης/διάμεσης φάσης που προέρχονται από καλλιιεργημένο περιφερικό αίμα ή/και μυελό των οστών. Οι αντικειμενοφόρες πλάκες πρέπει να αποθηκεύονται σύμφωνα με τις συνιστώμενες συνθήκες φύλαξης και χειρισμού για βέλτιστα αποτελέσματα, βλ. ιστοσελίδα της Leica.

### 3.2 Προεπεξεργασία

Το παρακάτω πρωτόκολλο αφορά τη χρήση 5 αντικειμενοφόρων πλακών σε όρθιο δοχείο corlin των 50 ml.

1. Προεπεξεργαστείτε τις αντικειμενοφόρες πλάκες δείγματος που έχουν παρασκευαστεί πρόσφατα σε 50 ml 2 x SSC / 0,5% Igepal (LK-105B) στους 37 °C για 15 λεπτά (min).

2. Αφυδατώστε σε αιθανόλη 70%, 85% και 100% για 1 λεπτό έκαστη. Στεγνώστε με αέρα. Προχωρήστε με την **Προετοιμασία του ανιχνευτή**.

### 3.3 Προετοιμασία ανιχνευτή

Οι ανιχνευτές Kreatech™ FISH παρέχονται έτοιμοι προς χρήση (RtU). Οι ανιχνευτές SE, ST και WC Kreatech™ FISH παρέχονται 5 x συγκεντρωμένοι και πρέπει να αραιωθούν ως εξής: 2 μl 5 x συγκ. ανιχνευτής σε 8 μl ρυθμιστικό διάλυμα υβριδισμού FISH (FHB ή WCB, παρέχεται με τους ανιχνευτές). Για να συνδυάσετε πολλούς ανιχνευτές 5 x συγκ., αντικαταστήστε το ρυθμιστικό διάλυμα υβριδισμού FISH (FHB ή WCB) με 2 μl για κάθε ανιχνευτή που προστίθεται.

### 3.4 Συν-μετουσίωση

Εφαρμόστε 10 μl ανιχνευτή ανά πεδίο 22 x 22 mm. Καλύψτε με γυάλινο κάλυμμα και σφραγίστε με Fixogum ή τσιμέντο από καουτσούκ. Μετουσιώστε το δείγμα και τον ανιχνευτή σε ThermoBrite (TS-01/02) στους 75 ±1 °C για 5-10 λεπτά. Συνεχίστε με τον υβριδισμό.

### 3.5 Υβριδισμός:

Επώστε κατά τη διάρκεια της νύχτας στους 37 ±1 °C σε ThermoBrite (TS-01/02) ή σε θάλαμο με υγρασία.

### 3.6 Έκπλυση μετά τον υβριδισμό:

1. Προθερμάνετε 50 ml ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης I (0,4 x SSC / 0,3% Igepal) (LK-102) στους 72 °C
2. Αφαιρέστε το τσιμέντο από καουτσούκ.
3. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρες πλάκες σε 50 ml ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης II (2 x SSC / 0,1% Igepal) (LK-103), επώστε για 2 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου RT. Αφαιρέστε τα κλιπ κάλυψης. Επαναχρησιμοποιήστε το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης μόνο μία φορά για συνολικά 10 αντικειμενοφόρους πλάκες.
4. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρες πλάκες σε 50 ml προθερμασμένου ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης I (0,4 x SSC / 0,3% Igepal) (LK-102), επώστε για 2 λεπτά στους 72 °C (+/- 1 °C) χωρίς ανάδευση. Επαναχρησιμοποιήστε το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης μόνο μία φορά για συνολικά 10 αντικειμενοφόρους πλάκες.
5. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρες πλάκες σε 50 ml φρέσκου ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης II (2 x SSC / 0,1% Igepal) (LK-103), επώστε για 1 λεπτό σε RT χωρίς ανάδευση. Επαναχρησιμοποιήστε το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης μόνο μία φορά για συνολικά 10 αντικειμενοφόρους πλάκες.
6. Αφυδατώστε σε ανανεωμένη αιθανόλη 70%, 85% και 100%, επώστε για 1 λεπτό το καθένα σε RT. Στεγνώστε με αέρα σε θερμοκρασία δωματίου και προχωρήστε σε **Αντίχρωματισμό**.

### 3.7 Αντίχρωματισμός:

Εφαρμόστε 15 μl αντίχρωμα DAPI (DAPI/Antifade 0,1 μg/ml) (LK-095B) ή μια αραιώση αυτού με τη χρήση αραιωτικού αντίχρωσης (LK097B) και εφαρμόστε γυάλινη καλυπτρίδα. Συνεχίστε με τη μικροσκόπηση.

### 3.8 Διαδικαστικές συστάσεις:

Οι άριστα προετοιμασμένες και προκατεργασμένες κυτταρολογικές αντικειμενοφόροι πλάκες είναι το κλειδί για την επίτευξη ενός επιτυχημένου αποτελέσματος FISH. Η ελλιπής ή υπερβολική προεπεξεργασία δεν επηρεάζει μόνο τη μορφολογία αλλά και την ισχύ του σήματος (και συνεπώς την ευκολία της ανάλυσης).

Η θερμοκρασία και η συγκέντρωση του ρυθμιστικού διαλύματος (αυστηρότητα) του υβριδισμού και της έκπλυσης είναι σημαντικές, καθώς η χαμηλότερη ακρίβεια μπορεί να οδηγήσει σε μη ειδική σύνδεση του ανιχνευτή με άλλες αλληλουχίες και η υψηλότερη ακρίβεια μπορεί να οδηγήσει σε έλλειψη σήματος. Η ατελής μετουσίωση του DNA-στόχου μπορεί να οδηγήσει σε έλλειψη σήματος.

### 3.9 Συστάσεις για τη μικροσκοπία φθορισμού

Για βέλτιστη απεικόνιση χρησιμοποιήστε ένα καλά συντηρημένο και τακτικά βαθμονομημένο μικροσκόπιο εξοπλισμένο με λυχνία υδραργύρου 100W ή άλλη κατάλληλη πηγή φωτός (π.χ. λυχνία μεταλλικών αλογονιδίων (120W X-cite) ή πηγές φωτός LED) και αντικειμενικό φθορισμού 63x ή 100x. Τα τριπλά ζωνοπερατά φίλτρα (DAPI/FITC/Cy3 ή DAPI/FITC/TRITC) χρησιμοποιούνται για την απεικόνιση πολλαπλών χρωμάτων, ενώ τα απλά ζωνοπερατά φίλτρα χρησιμοποιούνται για την απεικόνιση μεμονωμένων χρωμάτων. Ανατρέξτε στον ιστότοπο της Leica για συστάσεις σχετικά με τα κατάλληλα φίλτρα για κάθε εμπορική μάρκα μικροσκοπίου: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Κατάλληλο εύρος διέγερσης και εκπομπής για τα φθοριοφόρα Kreatech™:

| Φθοριοφόρο          | Διέγερση   | Εκπομπή    |
|---------------------|------------|------------|
| DAPI                | 360 ±20 nm | 460 ±30 nm |
| PlatinumBright™ 415 | 429 ±15 nm | 470 ±15 nm |
| PlatinumBright™ 495 | 495 ±10 nm | 517 ±10 nm |
| PlatinumBright™ 550 | 550 ±10 nm | 580 ±10 nm |

Το εμφανιζόμενο εύρος ζώνης αντιστοιχεί στο 80% της μέγιστης διέγερσης/εκπομπής του φθοριοφόρου)

#### 4 Αναλυτική απόδοση

Η απόδοση του κιτ αντιδραστηρίων FISH έχει διαπιστωθεί χρησιμοποιώντας τις διαδικασίες που περιγράφονται στις παρούσες οδηγίες χρήσης. Τροποποιήσεις σε αυτές τις διαδικασίες ενδέχεται να μεταβάλλουν την απόδοση της ανάλυσης. Τυχόν αποκλίσεις από τα υποδειχθέντα πρωτόκολλα πρέπει να επικυρώνονται από τον χρήστη. Οι χρήστες που παρεκκλίνουν από τις προτεινόμενες διαδικασίες εξέτασης πρέπει να αναλάβουν την ευθύνη για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων των ασθενών υπό αυτές τις συνθήκες. Οι χρόνοι του πρωτοκόλλου ενδέχεται να διαφέρουν λόγω της διαφοροποίησης της στερέωσης και της επεξεργασίας.

#### 5 Απαιτούμενα και παρεχόμενα με το προϊόν υλικά

| Αριθμός κωδικού | Περιγραφή                                        | Όγκος     |
|-----------------|--------------------------------------------------|-----------|
| LK-095B         | DAPI/Αντιξεθωριαστικό 0,1 µg/ml (Αντίχρωμα DAPI) | 0.5 ml    |
| LK-097B         | Αντιξεθωριαστικό (Αραιωτικό αντιχρωματισμού)     | 0.5 ml    |
| LK-102B*        | 0.4 x SSC / 0.3% Igepal (Ρυθμιστικό διάλυμα I)   | 250 ml    |
| LK-103B*        | 2 x SSC / 0.1% Igepal (Ρυθμιστικό διάλυμα II)    | 2 x 250ml |
| LK-105B         | 2 x SSC/0,5% Igepal                              | 250 ml    |

\*Λαμβάνετε υπόψη ότι τα προϊόντα LK-102 και LK-103 που περιέχουν τον ίδιο αριθμό αλλά διαφορετικά γράμματα είναι πανομοιότυπα εκτός από τον όγκο. A= 100 ml, B=250 ml

#### 6 Απαιτούμενα και μη παρεχόμενα με το προϊόν υλικά

- Αιθανόλη 100%, 85% και 70%
- Fixogum (LK-071A) ή τσιμέντο από καουτσούκ
- Θερμαινόμενη εστία με ακριβή έλεγχο θερμοκρασίας έως 75 °C ή ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Θερμοκοιτίδα με ακριβές εύρος θερμοκρασίας 37 °C
- Υδρόλουτρο με ακριβές εύρος θερμοκρασίας 37 - 75 °C
- Πλαστικά και γυάλινα δοχεία corlin
- Μεταβλητές μικροπιπέτες (1 µl - 200 µl)
- Μικροσκόπιο φθορισμού εξοπλισμένο με κατάλληλα φίλτρα (βλέπε συστάσεις για τη μικροσκοπία φθορισμού).

#### 7 Προειδοποίηση και προφυλάξεις

- Κάθε σοβαρό περιστατικό που συνέβη σε σχέση με το προϊόν αναφέρεται στον κατασκευαστή και στην αρμόδια αρχή του κράτους μέλους στο οποίο είναι εγκατεστημένος ο χρήστης ή/και ο ασθενής.
- Για διαγνωστική χρήση in vitro. Μόνο για εργαστηριακή επαγγελματική χρήση. Σε περίπτωση έκτακτης ανάγκης ελέγξτε τα δελτία SDS για πληροφορίες ασφαλείας.
- Το κιτ προορίζεται για χρήση μόνο πριν και μετά το DNA FISH σε κύτταρα μεταφάσης και μεσοφάσης από καλλιέργειες περιφερικού αίματος ή απευθείας παρασκευάσματα που παρασκευάζονται με τυποποιημένες κυτταρογενετικές μεθόδους.
- Μόνο για μη αυτοματοποιημένη προεπεξεργασία και υβριδισμό FISH.
- Όλα τα υλικά θα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις οδηγίες του ιδρύματός σας για τη διάθεση νοσοκομειακών αποβλήτων.
- Συνιστάται η χρήση του κιτ πέψης KBI-60006 FISH σε περίπτωση που χρησιμοποιούνται ή αναμένονται παλαιότερα δείγματα, αντικειμενοφόροι πλάκες με κυτταροπλασματικό υπόβαθρο ή δύσκολα δείγματα.

- Για ιστούς έγκλειστους σε παραφίνη συνιστάται η χρήση των κιτ προεπεξεργασίας KBI-60004 ή KBI-60007.

Επισήμανση σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1272/2008

| Αριθμός κωδικού | Περιγραφή                                        | Λέξη σήματος  | Εικονόγραμμα                                                                        | Δηλώσεις κινδύνου |
|-----------------|--------------------------------------------------|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| <b>LK-095B</b>  | DAPI/Αντιξεθωριαστικό 0,1 µg/ml (Αντίχρωμα DAPI) | Προειδοποίηση |  | H315, H319, H335  |
| <b>LK-097B</b>  | Αντιξεθωριαστικό (Αραιωτικό αντιχρωματισμού)     | Προειδοποίηση |  | H315, H319, H335  |
| <b>LK-102B</b>  | 0.4 x SSC / 0.3% Igepal (Ρυθμιστικό διάλυμα I)   | Μ.Δ.          | Μ.Δ.                                                                                | Μ.Δ.              |
| <b>LK-103B</b>  | 2 x SSC / 0.1% Igepal (Ρυθμιστικό διάλυμα II)    | Μ.Δ.          | Μ.Δ.                                                                                | Μ.Δ.              |
| <b>LK-105B</b>  | 2 x SSC/0,5% Igepal                              | Μ.Δ.          | Μ.Δ.                                                                                | Μ.Δ.              |

Δηλώσεις κινδύνου(ων)

H315 – Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος.

H319 – Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό.

H335 – Μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό της αναπνευστικής οδού

Δήλωση(-ες) προφύλαξης Πρόληψη

P271 – Χρησιμοποιήστε το μόνο σε υπαίθριο χώρο ή σε καλά αεριζόμενη περιοχή.

P261 – Αποφύγετε να αναπνέετε συγκεντρώσεις σταγονιδίων/ατμούς/εκνεφώματα.

P264 – Πλύνετε καλά όλες τις εξωτερικά εκτεθειμένες περιοχές του σώματος μετά το χειρισμό.

P280 – Να φοράτε προστατευτικά γάντια, προστατευτικά ενδύματα, μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια και το πρόσωπο.

Δήλωση(-ες) προφύλαξης Ανταπόκριση

P305+P351+P338 – ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εφόσον είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε.

P312 – Καλέστε το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/γιατρό/πρώτες βοήθειες εάν αισθανθείτε αδιαθεσία.

P337+P313 – Εάν δεν υποχωρεί ο οφθαλμικός ερεθισμός: Συμβουλευθείτε / Επισκεφθείτε γιατρό.

P302+P352 – ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ: Πλύνετε με άφθονο νερό και σαπούνι.

P304+P340 – ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Μεταφέρετε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και και φροντίστε να αναπνέει άνετα.

P332+P313 – Εάν παρατηρηθεί ερεθισμός του δέρματος: Συμβουλευθείτε / Επισκεφθείτε γιατρό.

P362+P364 – Βγάλτε τα μολυσμένα ρούχα και πλύνετε τα προτού τα ξαναχρησιμοποιήσετε.

Συμπληρωματικές δηλώσεις επικινδυνότητας: καμία

Περιορίζεται σε επαγγελματίες εργαστηριακούς χρήστες

Επεξήγηση συμβόλων

|                                                                                     |                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
|  | Περιέχει επικίνδυνες ουσίες |
|  | Χώρα κατασκευής             |

|                                                                                   |                                                       |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
|  | Μη χρησιμοποιείτε εάν η συσκευασία έχει υποστεί ζημιά |
|  | Συμβουλευτείτε το ηλεκτρονικό IfU (elfU)              |

## 8 Αποθήκευση και χειρισμός αντιδραστηρίων

Προστατέψτε το DAPI/Αντιξεθωριαστικό από έντονο και άμεσο φως. Φυλάσσεται στους 2-8 °C. Το μη ανοιγμένο προϊόν είναι διατηρήσιμο υπό αυτές τις συνθήκες μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του φιαλιδίου.

Επαναφέρετε το αδιάλυτο αντιδραστήριο στους 2-8 °C αμέσως μετά τη χρήση.

Μετά το άνοιγμα, τα προϊόντα παραμένουν διατηρήσιμα έως και 18 μήνες, αλλά ποτέ περισσότερο από την ημερομηνία λήξης. Μετά την πάροδο αυτού του χρονικού διαστήματος η χρήση των διαλυμάτων μπορεί να οδηγήσει σε μη βέλτιστα αποτελέσματα.

## 9 Τεχνική υποστήριξη

Μπορείτε να ζητήσετε τεχνική υποστήριξη στη διεύθυνση [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) ή μέσω ηλεκτρονικού ταχυδρομείου: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Παρακαλούμε επικοινωνήστε μαζί μας εάν δεν επιτευχθούν τα επιθυμητά αποτελέσματα ή εμφανιστούν ανωμαλίες κατά τη χρήση αυτού του προϊόντος.

Ένα έντυπο αντίγραφο του IfU διατίθεται μέσω ηλεκτρονικού ταχυδρομείου, επικοινωνώντας με την ακόλουθη διεύθυνση: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



Το elfU είναι διαθέσιμο σε επιπλέον γλώσσες, τις οποίες μπορείτε να κατεβάσετε από τη διεύθυνση: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Εξυπηρέτηση πελατών

Οι ανιχνευτές Kreatech διατίθενται μέσω της υπηρεσίας εξυπηρέτησης πελατών της Leica +31 20 6919181 ή μέσω ηλεκτρονικού ταχυδρομείου: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

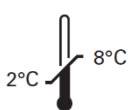
## 11 Ιστορικό

| Έκδοση IfU | Ημερομηνία έκδοσης | Αλλαγές                                        |
|------------|--------------------|------------------------------------------------|
| 2,4        | 2016-SEP-27        | Αφαιρέστε το λογότυπο "The pathology Company". |
| 3,0        | Απρίλιος - 2022    | Ενημέρωση σύμφωνα με τους κανονισμούς IVD      |

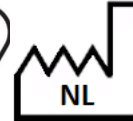
## FISH Reagent Kit

**REF** KBI-60005

Con un volumen suficiente para hasta 25 o 5X5 tests



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Ámsterdam  
Países Bajos  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 Uso previsto

La hibridación in situ de fluorescencia (FISH) identifica o etiqueta secuencias genómicas meta para poder estudiar su localización. Las secuencias de ADN de las sondas específicas para los cromosomas se etiquetan primero con moléculas reporteras. La sonda de ADN etiquetada es a continuación hibridizada a los cromosomas metafásicos o a los núcleos interfásicos en un portaobjetos. Después del lavado, la preparación se enmarca para las moléculas reporteras mediante microscopía de fluorescencia.

Para su uso en células de la metafase y la interfase de cultivos de sangre periférica o preparaciones directas realizadas mediante métodos citogenéticos.

Este kit de pretratamiento está específicamente desarrollado para obtener unos resultados óptimos en muestras citológicas RECIÉN preparadas.

Este producto está indicado para uso diagnóstico in vitro.

### 2 Descripción del producto

El kit de pretratamiento es para hibridaciones FISH no automatizadas y se desarrolló específicamente para su uso en el pretratamiento y la digestión enzimática de células de la metafase y la interfase en cultivos de sangre periférica, o para preparaciones directas realizadas mediante métodos citogenéticos previos al procedimiento de hibridación FISH de ADN. Este kit está específicamente desarrollado para obtener unos resultados óptimos en muestras citológicas RECIÉN preparadas. El uso del kit revertirá los vínculos cruzados en las células, permeabilizará la membrana celular y digerirá las proteínas celulares para facilitar la unión de las sondas FISH con el ADN específico de la célula.

### 3 Manual de instrucciones

#### 3.1 Muestras

Para su uso en células de la metafase y la interfase de cultivos de sangre periférica o preparaciones directas realizadas mediante métodos citogenéticos.

Este kit de pretratamiento está específicamente desarrollado para obtener unos resultados óptimos en muestras citológicas RECIÉN preparadas.

Preanalíticas de las muestras: Las preanalíticas juegan un papel principal a la hora de obtener una FISH exitosa. La muestra debería estar correctamente fijada, datada y pretratada de acuerdo con un protocolo firmemente consolidado. El exceso o la falta de fijación o un pretratamiento deficiente de la muestra puede causar un fallo en el procedimiento FISH o al menos una reducción en la intensidad de la reproducibilidad/señal. Las sondas FISH de Kreatech han sido probadas en núcleos de metafase/interfase derivados de sangre periférica cultivada y/o de médula ósea. Para unos resultados óptimos, los portaobjetos deberán almacenarse según las condiciones de almacenamiento y manipulación recomendadas, consulte el sitio web de Leica.

#### 3.2 Pretratamiento

El siguiente protocolo se utiliza para 5 portaobjetos en una cubeta Coplin de 50 ml.

1. Pretrate portaobjetos con muestras recién preparadas en 50 ml de 2 x SSC/ 0,5 % de Igepal (LK-105B) a 37 °C durante 15 minutos (mínimo).
2. Deshidrate en etanol al 70 %, 85 % y 100 % durante 1 minuto cada vez. Deje secar al aire. Proceda con la **Preparación de la sonda.**

### 3.3 Preparación de la sonda:

Las sondas FISH de Kreatech™ FISH se suministran listas para su uso. Las sondas SE, ST y WC Kreatech™ FISH se facilitan con una concentración 5x y deben diluirse de la siguiente forma: Sonda de 2 µl 5 x conc. en 8 µl de tampón de hibridación FISH (FHB o WCB, facilitado con las sondas). Para combinar varias sondas de 5x conc., sustituya el tampón de hibridación FISH (FHB o WCB) con 2 µl por cada sonda añadida.

### 3.4 Co-desnaturalización

Aplique 10 µl de sonda por campo de 22 x 22 mm. Cubra con un cubreobjetos de cristal y selle con Fixogum o pegamento. Desnaturalice la muestra y la sonda en un ThermoBrite (TS-01/02) a 75 ±1 °C durante 10 minutos. Continúe con la **hibridación**.

### 3.5 Hibridación:

Incube durante la noche a 37 ±1 °C en un ThermoBrite (TS-01/02) o en una cámara humidificada.

### 3.6 Lavado posthibridación:

1. Caliente previamente 50 ml de tampón de lavado I (0,4 x SSC / 0,3% de Igepal) (LK-102) a 72 °C
2. Quite el pegamento.
3. Coloque los portaobjetos en 50 ml de tampón de lavado II (2 x SSC / 0,1% de Igepal) (LK-103) e incube durante 2 minutos a temperatura ambiente. Quite las sujeciones. Reutilice el tampón de lavado una sola vez para un total de 10 portaobjetos.
4. Coloque los portaobjetos en 50 ml de tampón de - lavado I previamente calentado (0,4 x SSC / 0,3% de Igepal) (LK-102) e incube durante 2 minutos a 72 °C (+- 1 °C) sin agitar. Reutilice el tampón de lavado una sola vez para un total de 10 portaobjetos.
5. Coloque los portaobjetos en 50 ml de tampón de lavado II frío (2 x SSC / 0,1% de Igepal) (LK-103) e incube durante 1 minuto a temperatura ambiente sin agitar. Reutilice el tampón de lavado una sola vez para un total de 10 portaobjetos.
6. Deshidrate en etanol frío al 70%, 85% y 100%, e incube durante 1 minuto cada vez a temperatura ambiente. Deje secar al aire a temperatura ambiente y pase a la **Contratinción**.

### 3.7 Contratinción:

Aplique 15 µl de contratinción DAPI (0,1 µg/ml de DAPI/Antifade) (LK-095B) o una dilución de esta utilizando un diluyente para contratinción (LK097B) y coloque un portaobjetos de cristal. Proceda con la microscopía.

### 3.8 Recomendaciones de procedimiento:

Los portaobjetos citológicos pretratados y de preparación óptima son clave para obtener un resultado FISH exitoso. El exceso o la falta de pretratamiento no solo influye en la morfología, sino también en la fuerza de la señal (y por tanto en la facilidad de análisis).

La temperatura y la concentración del tampón (estringencia) de hibridación y lavado son importantes, ya que la astringencia puede resultar en la unión no específica de la sonda en otras secuencias, y una mayor astringencia puede dar lugar a una falta de señal. La desnaturalización incompleta del ADN objetivo puede dar lugar a una falta de señal.

### 3.9 Recomendaciones para la microscopía de fluorescencia

Para una visualización óptima, utilice un microscopio con buen mantenimiento y calibración habitual, equipado con una lámpara de mercurio de 100 vatios o con otra fuente de luz adecuada (p. ej. una bombilla metálica de halogenuro (X-cite de 120 vatios) o fuentes de luz con LED) y un objetivo fluorescente de 63x o 100x. Se utilizan filtros de triple paso de banda (DAPI/FITC/Cy3 o DAPI/FITC/TRITC) para ver los múltiples colores, los filtros de un solo paso de banda se utilizan para la visualización de un color individual. Consulte el sitio web de Leica para obtener recomendaciones sobre los filtros adecuados para cada marca de microscopio: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Excitación apta y rango de emisión de fluoróforos de Kreatech™:

| Fluoróforo          | Excitación | Emisión    |
|---------------------|------------|------------|
| DAPI                | 360± 20 nm | 460± 30 nm |
| PlatinumBright™ 415 | 429± 15 nm | 470± 15 nm |
| PlatinumBright™ 495 | 495± 10 nm | 517± 10 nm |

|                            |            |            |
|----------------------------|------------|------------|
| <b>PlatinumBright™ 550</b> | 550± 10 nm | 580± 10 nm |
|----------------------------|------------|------------|

*El ancho de banda mostrado se corresponde al 80% del máximo de excitación/emisión del fluoróforo)*

#### 4 Rendimiento analítico

El rendimiento del FISH Reagent Kit se ha establecido utilizando los procedimientos descritos en estas instrucciones de uso. Las modificaciones a estos procedimientos pueden alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados. Los usuarios que no sigan los procedimientos de prueba recomendados deben aceptar la responsabilidad de la interpretación de los resultados de pacientes en esas circunstancias. Los tiempos del protocolo varían en función de la fijación y el procesamiento.

#### 5 Materiales necesarios y facilitados con el producto

| N.º de código   | Descripción                                        | positivo  |
|-----------------|----------------------------------------------------|-----------|
| <b>LK-095B</b>  | DAPI/Antifade - 0,1 µg/ml<br>(Contratinción DAPI)  | 0,5 ml.   |
| <b>LK-097B</b>  | Antifade<br>(Diluyente para contratinción)         | 0,5 ml.   |
| <b>LK-102B*</b> | 0,4 x SSC / 0,3% de Igepal<br>(Tampón de lavado I) | 250 ml.   |
| <b>LK-103B*</b> | 2 x SSC / 0,1% de Igepal<br>(Tampón de lavado II)  | 2 x 25 ml |
| <b>LK-105B</b>  | 2 x SSC / 0,5 % de Igepal                          | 250 ml.   |

\* Recuerde que los productos LK-102 y LK-103 con el mismo número pero distintas letras son idénticos a excepción de su volumen. A= 100 ml, B=250 ml

#### 6 Materiales necesarios y no facilitados con el producto

- Etanol al 100%, 85% y 70%
- Fixogum (LK-071A) o pegamento
- Placa caliente con control preciso de temperatura hasta 75 °C o ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Incubadora con rango de temperatura preciso de 37 °C
- Baño de agua con rango de temperatura preciso de 37 a 75 °C
- Cubetas Coplin de plástico y cristal
- Micropipetas de distinta capacidad (1 µl - 200 µl)
- Microscopios para fluorescencia equipado con los filtros adecuados (consulte las recomendaciones para microscopía de fluorescencia).

#### 7 Advertencias y precauciones

- Deberá informar de cualquier incidente grave relacionado con el producto al fabricante y a las autoridades competentes del Estado miembro en el que se encuentre el usuario y/o el paciente.
- Para uso diagnóstico *in vitro*. Solo para usuarios profesionales de laboratorio. En caso de emergencia, compruebe las hojas SDS para obtener información de seguridad.
- El uso previsto del kit es solo antes y después de la FISH de ADN en células de la metafase y la interfase procedentes de cultivos de sangre periférica o en preparaciones directas realizadas mediante métodos citogenéticos.
- Solo para hibridación y pretratamiento FISH no automatizado.
- Deberá deshacerse de todos los materiales de acuerdo con las directrices de su institución con respecto a la eliminación de residuos hospitalarios.
- Se aconseja utilizar el kit de digestión FISH KBI-60006 en caso de utilizar o esperar muestras más antiguas, portaobjetos con origen citoplasmático o muestras difíciles.
- Para los tejidos incluidos en parafina, se recomienda utilizar los kits de pretratamiento KBI-60004 o KBI-60007.

Etiquetado según la Normativa (CE) n.º 1272/2008

| N.º de código | Descripción | Palabra de advertencia | Pictograma | Indicaciones de peligro |
|---------------|-------------|------------------------|------------|-------------------------|
|---------------|-------------|------------------------|------------|-------------------------|

|                |                                                    |             |                                                                                     |                     |
|----------------|----------------------------------------------------|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <b>LK-095B</b> | DAPI/Antifade - 0,1 µg/ml<br>(Contratinción DAPI)  | Advertencia |  | H315, H319,<br>H335 |
| <b>LK-097B</b> | Antifade<br>(Diluyente para contratinción)         | Advertencia |  | H315, H319,<br>H335 |
| <b>LK-102B</b> | 0,4 x SSC / 0,3% de Igepal<br>(Tampón de lavado I) | N.A.        | N.A.                                                                                | N.A.                |
| <b>LK-103B</b> | 2 x SSC / 0,1% de Igepal<br>(Tampón de lavado II)  | N.A.        | N.A.                                                                                | N.A.                |
| <b>LK-105B</b> | 2 x SSC / 0,5 % de Igepal                          | N.A.        | N.A.                                                                                | N.A.                |

#### Indicación(es) de peligro

H315 – Provoca irritación cutánea.

H319 – Provoca irritación grave de los ojos.

H335 – Puede irritar las vías respiratorias.

#### Prevención y consejos de prudencia

P271 – Utilizar únicamente en exteriores o en un lugar bien ventilado.

P261 – Evitar respirar las vaporizaciones, los vapores y las pulverizaciones.

P264 – Lavar concienzudamente las áreas del cuerpo externas expuestas tras la manipulación.

P280 – Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

#### Respuesta a los consejos de prudencia

P305 + P351 + P338 – EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quite las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Siga aclarando.

P312 – Llamar a un CENTRO de información toxicológica o a un médico en caso de malestar.

P337 + P313 – Si persiste la irritación ocular: Consultar con un médico.

P302 + P352 – EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.

P304 + P340 – EN CASO DE INHALACIÓN: Trasladar a la persona afectada al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración.

P332 + P313 – Si persiste la irritación en la piel: Consultar con un médico.

P362 + P364 – Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

Otras indicaciones de peligro: ninguna

Restringido a usuarios profesionales de laboratorio

#### Explicación de los símbolos

|                                                                                     |                                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
|  | Contiene sustancias peligrosas                   |
|  | País de fabricación                              |
|  | No utilice el producto si el paquete está dañado |

|                                                                                   |                                                       |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
|  | Consulte las instrucciones de uso electrónicas (elfU) |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|

## 8 Almacenamiento y manipulación de reactivos

Proteja DAPI/ Antifade de la luz directa y potente. Almacene a entre 2 y 8 °C. El producto no abierto es estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial.

Vuelva a almacenar los reactivos no diluidos a entre 2 - 8 °C inmediatamente después de su uso.

Una vez abiertos, los productos son estables durante un tiempo de hasta 18 meses, pero en ningún caso pasada la fecha de caducidad. Después de este periodo, el uso de las soluciones podría generar unos resultados poco óptimos.

## 9 Asistencia técnica

Asistencia técnica disponible a través de [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) o por correo electrónico: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Póngase en contacto con nosotros si no obtiene resultados o si observa alguna anomalía al utilizar este producto.

Puede solicitar una copia impresa en papel de las instrucciones de uso por correo electrónico a: [LBSAMS-IfU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IfU@leicabiosystems.com)



Las instrucciones de uso electrónicas están disponibles en más idiomas y se puede descargar desde: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Servicio de atención al cliente

Puede pedir sondas Kreatech a través del Servicio de atención al cliente de Leica en el +31 20 6919181 o por correo electrónico a: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

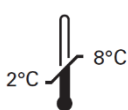
## 11 Historia

| Versión de las instrucciones de uso | Fecha de emisión | Cambios                                                  |
|-------------------------------------|------------------|----------------------------------------------------------|
| 2,4                                 | 2016-SEP-27      | Elimine el eslogan «La empresa centrada en la patología» |
| 3,0                                 | Abril de 2022    | Actualización conforme a las normativas IVD.             |

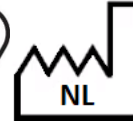
## FISH-reaktiivikomplekt

**REF** KBI-60005

Sisaldab piisavat mahtu kuni 25 või 5 × 5 testi jaoks



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
Madalmaad  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 Kasutusotstarve

Fluorestsentsi in situ hübridisatsioon (FISH) identifitseerib või etiketeerib genoomide sihtjärjestused, nii et nende asukohta saab uurida. Asjakohastest spetsiifilistest kromosoomisondidest pärit DNA järjestused etiketeeritakse esmalt reporter-molekulidega. Seejärel hübridiseeritakse etiketeeritud DNA sond slaidil olevate metafaasi kromosoomide või interfaasi tuumadega. Pärast pesemist skriinitakse proovi reporter-molekulide suhtes fluorestsentsmikroskoopia abil.

Kasutamiseks metafaasi ja interfaasi rakkudel perifeersetest verekuultuuridest või otsestel preparatsioonidel, mis on prepareeritud standardsete tsütogeneetiliste meetoditega.

See eeltöötlemise komplekt on spetsiifiliselt välja töötatud optimaalsete tulemuste saamiseks VÄRSKELT prepareeritud tsütoloogiliste proovide osas.

See toode on ette nähtud kasutamiseks in vitro diagnostikas.

### 2 Toote kirjeldus

See eeltöötlemise komplekt on mitteautomaatsete FISH hübridisatsioonide tarbeks spetsiifiliselt välja töötatud kasutamiseks metafaasi ja interfaasi rakkude eeltöötlemise ning ensüümide seedimise jaoks perifeersetest verekuultuuridest või otsestest preparatsioonide jaoks, mis on prepareeritud standardsete tsütogeneetiliste meetoditega enne DNA FISH hübridisatsiooni protseduuri. See komplekt on spetsiifiliselt välja töötatud optimaalsete tulemuste saamiseks VÄRSKELT prepareeritud tsütoloogiliste proovide osas. Komplekti kasutamine pöörab rakkudes ristsidemed ümber, muudab rakumembraani läbilaskvaks ja seedib rakuvalke, et hõlbustada FISH sondide sidumist spetsiifilise raku DNA-ga.

### 3 Kasutusjuhised

#### 3.1 Proovid

Kasutamiseks metafaasi ja interfaasi rakkudel perifeersetest verekuultuuridest või otsestel preparatsioonidel, mis on prepareeritud standardsete tsütogeneetiliste meetoditega.

See eeltöötlemise komplekt on spetsiifiliselt välja töötatud optimaalsete tulemuste saamiseks VÄRSKELT prepareeritud tsütoloogiliste proovide osas.

Proovi eelanalüütika: Eduka FISH saamiseks mängib eelanalüütika suurt osa. Proov peab olema korrektselt fikseeritud, vanandatud ja eeltöödeldud vastavalt väljakujunenud protokollile. Proovi ülefikseerimine, alafikseerimine või puudulik eeltöötlemine võib põhjustada FISH-protseduuri ebaõnnestumise või vähemalt madala reprodutseeritavuse / signaali intensiivsuse. Kreatechi FISH sonde on testitud kultiveeritud perifeersest verest ja/või luuüdist saadud metafaasi/interfaasi tuumadega. Slaidi tuleb optimaalsete tulemuste saamiseks säilitada kooskõlas soovitud säilitamise ning käitlemise tingimustega, vaata Leica veebilehte.

#### 3.2 Eeltöötlemine

Allpool toodud protokoll on ette nähtud 5 slaidi kasutamiseks püstises 50 ml Coplini purgis.

1. Eeltöödelge värskest prepareeritud proovislaide 50 ml 2 × SSC / 0,5% Igepali sees (LK-105B) 37 °C juures 15 minuti (min) jooksul.
2. Dehüdreerige, leotades neid 70%, 85% ja 100% etanoolis, igaühes 1 minuti jooksul. Kuivatage õhuga. Jätake **sondi ettevalmistusega**.

### 3.3 Sondi ettevalmistus

Kreatech™ FISH sondid tarnitakse kasutusvalmis (RtU) kujul. SE, ST ja WC Kreatech™ FISH sondid antakse 5 × kontsentreeritud kujul ja neid peab lahjendama järgmiselt: 2 µl 5 × kontsentreeritud sond 8 µl FISH hübridisatsiooni puhvris (FHB või WCB, tarnitakse koos sondidega). Selleks et kombineerida mitut 5 × kontsentreeritud sondi, asendage FISH hübridisatsiooni puhver (FHB või WCB) 2 µl-ga iga lisatud sondi kohta.

### 3.4 Kaasdenaturatsioon

Rakendage 10 µl sondist 22 × 22 mm iga välja kohta. Katke klaasist kattekaanega ja pitseerige Fixogumi või kummitsemendiga. Denatureerige proovi ja sondi süsteemis ThermoBrite (TS-01/02) 75 ±1 °C juures 5–10 min jooksul. Jätkake **hübridisatsiooniga**.

### 3.5 Hübridisatsioon

Inkubeerige öö jooksul 37 ±1 °C juures süsteemis ThermoBrite (TS-01/02) või niisutatud kambris.

### 3.6 Hübridisatsioonijärgne pesu

1. Eelsoojendage 50 ml pesupuhvrit I (0,4 × SSC / 0,3% Igepali) (LK-102) temperatuurini 72 °C
2. Eemaldage kummitsement.
3. Pange slaidid 50 ml pesupuhvri II sisse (2 × SSC / 0,1% Igepali) (LK-103), inkubeerige neid 2 min jooksul toatemperatuuril (RT). Libistage katteklambrid maha. Kasutage pesupuhvrit uuesti ainult üks kord, kokku 10 slaidi jaoks.
4. Pange slaidid 50 ml eelsoojendatud pesupuhvri I sisse (0,4 × SSC / 0,3% Igepali) (LK-102), inkubeerige neid 2 min jooksul 72 °C (+– 1 °C) juures ilma lahust segamata. Kasutage pesupuhvrit uuesti ainult üks kord, kokku 10 slaidi jaoks.
5. Pange slaidid 50 ml värske pesupuhvri II sisse (2 × SSC / 0,1% Igepali) (LK-103), inkubeerige neid 1 min jooksul toatemperatuuril (RT) ilma lahust segamata. Kasutage pesupuhvrit uuesti ainult üks kord, kokku 10 slaidi jaoks.
6. Dehüdreerige värskes 70%, 85% ja 100% etanoolis, inkubeerige igaühes 1 min jooksul toatemperatuuril (RT). Kuivatage õhuga toatemperatuuril (RT) ja jätkake **kontrastvärvimisega**.

### 3.7 Kontrastvärvimine

Rakendage 15 µl DAPI kontrastvärvi (DAPI/Antifade 0,1 µg/ml) (LK-095B) või selle lahjendust, kasutades kontrastvärvi lahjendit (LK097B) ja rakendage klaasist kattekaant. Jätkake mikroskoopiaga.

### 3.8 Protseduurilised soovitused

Eduka FISH tulemuse saamiseks on võtmetähtsusega optimaalselt prepareeritud ja eeltöödeldud tsütoloogilised slaidid. Eelnev ala- või ületöötlemine ei mõjuta mitte ainult morfoloogiat, vaid ka signaali tugevust (ja seega ka analüüsi lihtsust).

Hübridisatsiooni ning pesemise temperatuur ja puhvri kontsentratsioon (stringentsus) on olulised, kuna madalam stringentsus võib põhjustada sondi mittespetsiifilise sidumise teiste järjestustega ning kõrgem stringentsus võib põhjustada signaali puudulikkuse. Sihtmärgi DNA mittetäielik denatureerimine võib põhjustada signaali puudulikkuse.

### 3.9 Soovitused fluorestsentsmikroskoopia kohta

Optimaalseks visualiseerimiseks kasutage hästi hooldatud ja regulaarselt kalibreeritud mikroskoopi, mis on varustatud 100 W elavhõbedalambiga või muu sobiva valgusallikaga (nt metallhalogeniidpirn (120 W X-cite) või LED lampide põhised valgusallikad) ning 63× või 100× fluorestsentsobjektiiviga. Kolmekordseid ribapääsfiltreid (DAPI/FITC/Cy3 või DAPI/FITC/TRITC) kasutatakse mitme värvi kuvamiseks, ühekordseid ribapääsfiltreid kasutatakse individuaalseks värvide visualiseerimiseks. Vaadake Leica veebilehte soovitude leidmiseks sobivate filtrite kohta iga mikroskoobi kaubamärgi jaoks: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Sobiv ergastuse ja emissiooni vahemik Kreatech™ fluorofooride jaoks:

| Fluorofoor          | Ergastus   | Emissioon  |
|---------------------|------------|------------|
| DAPI                | 360 ±20 nm | 460 ±30 nm |
| PlatinumBright™ 415 | 429 ±15 nm | 470 ±15 nm |
| PlatinumBright™ 495 | 495 ±10 nm | 517 ±10 nm |

|                            |            |            |
|----------------------------|------------|------------|
| <b>PlatinumBright™ 550</b> | 550 ±10 nm | 580 ±10 nm |
|----------------------------|------------|------------|

Näidatud ribalaius vastab 80%-le maksimaalsest fluorofoori ergastusest/emissioonist

#### 4 Analüütiline toimivus

FISH-reaktiivikomplekti toimivus on kindlaks tehtud käesolevas kasutusjuhises kirjeldatud protseduuride abil. Nende protseduuride modifitseerimised võivad analüüsi toimivust muuta. Mistahes kõrvalekalded juhendatud protokollidest peavad olema kasutaja poolt valideeritud. Soovitatud katsemenetlustest kõrvale kalduvad kasutajad peavad võtma vastutuse patsiendi tulemuste tõlgendamise eest nendel tingimustel. Protokollid ajad võivad erineda tulenevalt fikseerimise ja töötlemise erinevustest.

#### 5 Vajalikud ja koos tootega tarnitud materjalid

| Kood #          | Kirjeldus                                   | Maht       |
|-----------------|---------------------------------------------|------------|
| <b>LK-095B</b>  | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI kontrastvärv) | 0,5 ml     |
| <b>LK-097B</b>  | Antifade (Kontrastvärvi lahjendi)           | 0,5 ml     |
| <b>LK-102B*</b> | 0,4 × SSC / 0,3% Igepali (Pesupuhver I)     | 250 ml     |
| <b>LK-103B*</b> | 2 × SSC / 0,1% Igepali (Pesupuhver II)      | 2 × 250 ml |
| <b>LK-105B</b>  | 2 × SSC / 0,5% Igepali                      | 250 ml     |

\* Palun pange tähele, et LK-102 ja LK-103 tooted, mis sisaldavad sama numbrit, ent erinevaid tähti, on identsed, välja arvatud mahu osas. A = 100 ml, B = 250 ml

#### 6 Vajalikud ja koos tootega mittetarnitud materjalid

- Etanool 100%, 85% ja 70%
- Fixogum (LK-071A) või kummitsement
- Kuum plaat täpse temperatuuri kontrolliga kuni 75 °C või süsteem ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Inkubaator täpse temperatuurivahemikuga 37 °C
- Veevann täpse temperatuurivahemikuga 37–75 °C
- Plastist ja klaasist Coplini purgid
- Muudetavad mikropipetid (1 µl – 200 µl)
- Fluorestsentsmikroskoop, mis on varustatud sobivate filtritega (vaata soovitusi fluorestsentsmikroskoopia jaoks)

#### 7 Hoiatus ja ettevaatusabinõud

- Igast seadmega seotud ohujuhtumist tuleb teatada tootjale ning kasutaja ja/või patsiendi asukohajärgse liikmesriigi pädevale asutusele.
- In vitro diagnostiliseks kasutamiseks. Ainult professionaalseks kasutamiseks laboris. Hädaolukorras vaadake ohutusteabe saamiseks ohutuskardi (SDS) lehti.
- Komplekt on ette nähtud kasutamiseks ainult enne ja pärast DNA FISH protseduuri metafaasi ja interfaasi rakkudel perifeersetest verekuultuuridest või otsestest preparatsioonidel, mis on prepeareeritud standardsete tsütogeneetiliste meetoditega.
- Ainult mitteautomaatse FISH eeltöötlemise ja hübridisatsiooni jaoks.
- Kõik materjalid tuleb kõrvaldada vastavalt teie asutuse haiglajäätmete kõrvaldamise juhiste.
- Soovitatav on kasutada KBI-60006 FISH seedimise komplekti vanemate proovide ja tsütoplasmaatilise taustaga slaidide korral või juhul, kui on kasutatud või eeldatud keerulisi proove.
- Parafiini sisestatud kudede jaoks soovitatakse kasutada eeltöötlemise komplekte KBI-60004 või KBI-60007.

Märgistus vastavalt määrusele (EÜ) nr 1272/2008

| Kood #         | Kirjeldus                                   | Tunnussõna | Piktogramm                                                                          | Ohulaused        |
|----------------|---------------------------------------------|------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| <b>LK-095B</b> | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI kontrastvärv) | Hoiatus    |  | H315, H319, H335 |

|                |                                            |              |                                                                                   |                     |
|----------------|--------------------------------------------|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <b>LK-097B</b> | Antifade<br>(Kontrastvärvi lahjendi)       | Hoiatus      |  | H315, H319,<br>H335 |
| <b>LK-102B</b> | 0,4 × SSC / 0,3% Igepali<br>(Pesupuhver I) | Ei kohaldata | Ei kohaldata                                                                      | Ei kohaldata        |
| <b>LK-103B</b> | 2 × SSC / 0,1% Igepali<br>(Pesupuhver II)  | Ei kohaldata | Ei kohaldata                                                                      | Ei kohaldata        |
| <b>LK-105B</b> | 2 × SSC / 0,5% Igepali                     | Ei kohaldata | Ei kohaldata                                                                      | Ei kohaldata        |

#### Ohulause(d)

H315 – Põhjustab nahaärritust.

H319 – Põhjustab tugevat silmade ärritust.

H335 – Võib põhjustada hingamisteede ärritust

#### Hoiatuslause(d). Ennetamine

P271 – Käidelda üksnes välitingimustes või hästi ventileeritavas kohas.

P261 – Vältida udu / aurude / pihustatud aine sissehingamist.

P264 – Pärast käitlemist pesta hooliga kõik välised kehapiirkonnad.

P280 – Kanda kaitsekindaid/kaitserõivastust/kaitseprille/kaitsemaski.

#### Hoiatuslause(d). Reageerimine

P305+P351+P338 – SILMA SATTUMISE KORRAL: Loputada mitme minuti jooksul ettevaatlikult veega.

Eemaldada kontaktiläätсед, kui neid kasutatakse ja kui neid on kerge eemaldada. Loputada veel kord.

P312 – Halva enesetunde korral võtta ühendust MÜRGISTUSTEABEKESKUSEGA/arstiga/esmaabiga.

P337+P313 – Kui silmade ärritus ei möödu: Pöörduda arsti poole.

P302+P352 – NAHALE SATTUMISE KORRAL: Pesta rohke vee ja seebiga.

P304+P340 – SISSEHINGAMISE KORRAL: Toimetada isik värske õhu kätte ja hoida asendis, mis võimaldab kergesti hingata.

P332+P313 – Nahaärrituse korral: Pöörduda arsti poole.

P362+P364 – Võtta seljast saastunud rõivad ja pesta enne korduskasutust.

#### Täiendavad ohulaused: puuduvad

Piiratud kasutamiseks professionaalsetele kasutajatele laboris

#### Sümbolite selgitus

|                                                                                     |                                                |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
|  | Sisaldab ohtlikke aineid                       |
|  | Tootja riik                                    |
|  | Ärge kasutage, kui pakend on kahjustatud       |
|  | Tutvuge elektroonilise kasutusjuhise<br>(elfU) |

## 8 Reaktiivi säilitamine ja käsitlemine

Kaitske DAPI/Antifade tugeva ja otsese valguse eest. Säilitage 2–8 °C juures. Avamata toode on nendel tingimustel stabiilne kuni viaali etiketil märgitud aegumiskuupäevani.

Viige lahjendamata reaktiiv vahetult pärast kasutamist tagasi temperatuurile 2–8 °C.

Pärast avamist on tooted stabiilsed kuni 18 kuu jooksul, kuid mitte kunagi kauem kui aegumiskuupäevani. Pärast seda ajavahemikku võib lahuste kasutamine anda suboptimaalseid tulemusi.

## 9 Tehniline tugi

Tehniline tugi on saadaval aadressilt [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) või e-posti teel: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Palun võtke meiega ühendust, kui soovitud tulemusi ei saavutata või kui selle toote kasutamisel tekivad anomaaliad.

Kasutusjuhise (IfU) paberile trükitud koopiat saab küsida e-posti teel, võttes ühendust aadressil: [LBSAMS-IfU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IfU@leicabiosystems.com)



Elektrooniline kasutusjuhise (elfU) on saadaval täiendavates keeltes, mida saab alla laadida aadressilt: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Klienditeenindus

Kreatechi sonde saab tellida Leica klienditeenistuse kaudu +31 20 6919181 või tellimusega e-kirja teel: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

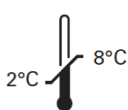
## 11 Ajalugu

| Kasutusjuhise (IfU) versioon | Väljaandmise kuupäev | Muudatused                                                 |
|------------------------------|----------------------|------------------------------------------------------------|
| 2.4                          | 2016-SEP-27          | Eemaldatakse tunnuslause „Patoloogia ettevõtte“            |
| 3.0                          | April 2022           | Värskendus kooskõlas in vitro diagnostika (IVD) määrustega |

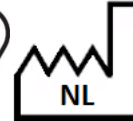
## Kit de réactif FISH

**REF** KBI-60005

Contient un volume suffisant jusqu'à 25 ou 5x5 tests



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
Pays-Bas  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 Utilisation/objectif prévu

L'Hybridation in situ en fluorescence (FISH) identifie ou étiquette des séquences génomiques cibles pour permettre l'étude de leur localisation. Des séquences d'ADN provenant des sondes spécifiques des chromosomes appropriées sont d'abord marquées avec des molécules rapporteurs. La sonde d'ADN marquée est ensuite hybridée aux chromosomes en métaphase ou aux noyaux en interphase d'une lame. Après lavage, l'échantillon est analysé par la microscopie en fluorescence pour y déceler les molécules rapporteurs.

À utiliser sur des cellules en métaphase et en interphase provenant des hémocultures périphériques ou des préparations directes préparées selon des méthodes cytogénétiques standard.

Ce kit de pré-traitement est développé spécialement pour obtenir des résultats optimaux sur des échantillons cytologiques FRAICHEMENT préparés.

Ce produit est destiné à un usage de diagnostic in vitro.

### 2 Description du produit

Ce kit de pré-traitement est destiné aux hybridations FISH non automatisées développées spécialement pour être utilisées dans le pré-traitement et la digestion enzymatique des cellules en métaphase et en interphase provenant des hémocultures périphériques ou de préparations directes préparées selon des méthodes cytogénétiques standard avant la procédure d'hybridation FISH de l'ADN. Ce kit est développé spécialement pour obtenir des résultats optimaux sur des échantillons cytologiques FRAICHEMENT préparés. L'utilisation de ce kit inversera la réticulation dans les cellules, perméabilisera la membrane cellulaire et digérera les protéines cellulaires pour assouplir la liaison des sondes FISH avec un ADN cellulaire spécifique.

### 3 Mode d'emploi

#### 3.1 Échantillons

À utiliser sur des cellules en métaphase et en interphase provenant des hémocultures périphériques ou des préparations directes préparées selon des méthodes cytogénétiques standard.

Ce kit de pré-traitement est développé spécialement pour obtenir des résultats optimaux sur des échantillons cytologiques FRAICHEMENT préparés.

Pré-analyse des échantillons : Pour obtenir une bonne FISH, les analyses préalables jouent un rôle essentiel. L'échantillon doit être correctement fixé, âgé et pré-traité selon un protocole bien établi. Une fixation excessive ou une fixation insuffisante ou un mauvais pré-traitement peut entraîner l'échec de la procédure FISH ou tout au moins une faible reproductibilité/intensité du signal. Les sondes FISH Kreatech™ ont été testées sur des noyaux en métaphase/interphase dérivés du sang périphérique cultivé et/ou de la moelle osseuse. Les lames coupées doivent être conservées dans les conditions de stockage et de manipulation recommandées pour obtenir des résultats optimaux, voir le site Web de Leica.

#### 3.2 Pré-traitement

Le protocole suivant est destiné à l'utilisation de 5 lames dans une jarre de coplin droite de 50 ml.

1. Pré-traiter les lames de prélèvement fraîchement préparées dans 50 ml de 2 x SSC / 0,5% Igepal (LK-105B) à 37 °C pendant 15 minutes (min).
2. Déshydrater dans de l'éthanol à 70%, à 85% et à 100% pendant 1 minute à chaque fois. Sécher à l'air. Procéder à la **Préparation des sondes**.

### 3.3 Préparation des sondes :

Les sondes FISH Kreatech™ sont fournies prêtes à l'emploi. Les sondes FISH Kreatech™ SE, ST, et WC sont fournies 5 fois plus concentrées et doivent être diluées comme suit : Sonde 2 µl 5 x conc. dans 8 µl FISH Hybridization Buffer (FHB ou WCB, fourni avec les sondes). Pour combiner plusieurs sondes 5 x conc., remplacer FISH Hybridization Buffer (FHB ou WCB) avec 2 µl pour chaque sonde ajoutée.

### 3.4 Co-dénaturation

Appliquer 10 µl de sonde pour un champ de 22 x 22 mm. Couvrir avec un couvre-lame en verre et sceller avec du Fixogum ou une colle polymère. Dénaturer l'échantillon et la sonde sur un ThermoBrite (TS-01/02) à 75 ±1 °C pendant 5-10 min. Continuer avec l'**Hybridation**.

### 3.5 Hybridation :

Incuber pendant la nuit à 37 ±1 °C dans un ThermoBrite (TS-01/02) ou dans une chambre humidifiée.

### 3.6 Lavage post-hybridation :

1. Préchauffer 50 ml de Wash Buffer I (0,4 x SSC / 0,3% Igepal) (LK-102) à 72 °C
2. Enlever la colle polymère.
3. Placer les lames dans 50 ml de Wash Buffer II (2 x SSC / 0,1% Igepal) (LK-103), incuber pendant 2 min à la TA. Glisser les lamelles couvre-objets. Réutiliser le wash buffer une seule fois pour un total de 10 lames.
4. Placer les lames dans 50 ml de Wash Buffer I pré-chauffé (0,4 x SSC / 0,3% Igepal) (LK-102), incuber pendant 2 min à 72 °C (+- 1 °C) sans agiter. Réutiliser le wash buffer une seule fois pour un total de 10 lames.
5. Placer les lames dans 50 ml de Wash Buffer II frais (2 x SSC / 0,1% Igepal) (LK-103), incuber pendant 1 min à la TA sans agiter. Réutiliser le wash buffer une seule fois pour un total de 10 lames.
6. Déshydrater dans de l'éthanol frais à 70%, à 85% et à 100%, incuber pendant 1 min à chaque fois à la TA. Sécher à l'air à la TA et procéder à la **Contre-coloration**.

### 3.7 Contre-coloration :

Appliquer 15 µl de contre-coloration au DAPI (DAPI/Antifade 0,1 µg/ml) (LK-095B) ou une dilution à l'aide d'un diluent de contre-coloration (LK097B) et mettre une couvre-lame en verre. Poursuivre avec la microscopie.

### 3.8 Recommandations procédurales :

Les lames cytologiques optimales préparées et pré-traitées sont essentielles pour obtenir un bon résultat FISH. Un pré-traitement insuffisant ou excessif n'influence pas seulement la morphologie mais aussi la force du signal (et ainsi la facilité de l'analyse).

La température et la concentration du buffer (stringence) de l'hybridation et du lavage sont importantes, car une stringence faible peut entraîner une liaison non spécifique de la sonde aux autres séquences, et une stringence élevée peut entraîner l'absence de signal. Une dénaturation incomplète de l'ADN cible peut entraîner l'absence de signal.

### 3.9 Recommandations pour la microscopie en fluorescence

Pour une visualisation optimale, utiliser un microscope bien entretenu et régulièrement calibré équipé d'une lampe à mercure de 100 W ou d'une autre source de lumière appropriée (ex. : Ampoule aux halogénures (120 W X-cite) ou des sources de lumière à base de LED) et un objectif à fluorescence 63x ou 100x. Des filtres passe-bande triples (DAPI/FITC/Cy3 ou DAPI/FITC/TRITC) sont utilisés pour visualiser plusieurs couleurs, les filtres passe-bande uniques sont utilisés pour la visualisation d'une couleur individuelle. Voir le site Web de Leica pour les recommandations concernant les filtres adaptés à chaque marque de microscope : <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Excitation adéquate et plage d'émission pour les fluorochromes Kreatech™ :

| Fluorochromes       | Excitation | émission   |
|---------------------|------------|------------|
| DAPI                | 360 ±20 nm | 460 ±30 nm |
| PlatinumBright™ 415 | 429 ±15 nm | 470 ±15 nm |
| PlatinumBright™ 495 | 495 ±10 nm | 517 ±10 nm |
| PlatinumBright™ 550 | 550 ±10 nm | 580 ±10 nm |

La bande passante montrée correspond à 80% de

l'excitation/émission maximale du fluorochrome)

#### 4 Performance analytique

La performance du kit de réactif FISH a été établie en utilisant les procédures décrites dans ce mode d'emploi. Les modifications faites à ces procédures peuvent altérer la réalisation de l'analyse. Tout écart par rapport aux protocoles indiqués doit être validé par l'utilisateur. Les utilisateurs qui s'écartent des procédures de test recommandées doivent accepter la responsabilité de l'interprétation des résultats du patient dans ces circonstances. Les temps d'incubation requis par le protocole peuvent changer en fonction de la variation de la fixation et du traitement.

#### 5 Matériel nécessaire et fourni avec le produit

| Référence # | Description                                            | Volume     |
|-------------|--------------------------------------------------------|------------|
| LK-095B     | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml<br>(Contre-coloration au DAPI) | 0,5 ml     |
| LK-097B     | Antifade<br>(Diluent de contre-coloration)             | 0,5 ml     |
| LK-102B*    | 0,4 x SSC / 0,3% Igepal<br>(Wash Buffer I)             | 250 ml     |
| LK-103B*    | 2 x SSC / 0,1% Igepal<br>(Wash Buffer II)              | 2 x 250 ml |
| LK-105B     | 2 x SSC/0,5% Igepal                                    | 250 ml     |

\*Veuillez noter que les produits LK-102 et LK-103 contenant le même nombre, mais des lettres différentes sont identiques sauf pour le volume. A= 100 ml, B=250 ml

#### 6 Matériel nécessaire et non fourni avec le produit

- Éthanol 100%, 85% et 70%
- Fixogum (LK-071A) ou colle polymère
- Plaque chauffante avec un contrôle précis de la température jusqu'à 75 °C ou ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Incubateur avec une plage de température précise de 37 °C
- Bain-marie avec une plage de température précise de 37 - 75 °C
- Jarres de coplin en plastique et en verre
- Micropipettes variables (1 µl - 200 µl)
- Microscope à fluorescence équipé de filtres adéquats (voir Recommandations pour la microscopie en fluorescence).

#### 7 Avertissement et précautions

- Tout incident grave survenu en rapport avec le dispositif doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.
- Diagnostic in vitro. Réservé uniquement à l'usage des professionnels de laboratoire. En cas d'urgence, vérifier les fiches FDS pour des informations relatives à la sécurité.
- Le kit est destiné à être utilisé uniquement avant et après l'hybridation FISH de l'ADN sur des cellules en métaphase et en interphase provenant des hémocultures périphériques ou des préparations directes préparées selon des méthodes cytogénétiques standard.
- Destiné uniquement au pré-traitement et à l'hybridation FISH non automatisés.
- Tout le matériel doit être éliminé conformément aux directives de votre établissement concernant l'élimination des déchets hospitaliers.
- Il est conseillé d'utiliser le kit de digestion FISH KBI-60006 au cas où des échantillons plus anciens, des lames avec un fond cytoplasmique ou des échantillons difficiles sont utilisés ou attendus.
- Pour les tissus enrobés de paraffine, il est recommandé d'utiliser les kits de pré-traitement KBI-60004 ou KBI-60007.

Étiquetage conformément à la réglementation (EC) No 1272/2008

| Référence # | Description                                            | Mot d'avertissement | Pictogramme                                                                           | Mentions de danger  |
|-------------|--------------------------------------------------------|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| LK-095B     | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml<br>(Contre-coloration au DAPI) | Avertissement       |  | H315, H319,<br>H335 |

|                |                                            |               |                                                                                     |                     |
|----------------|--------------------------------------------|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <b>LK-097B</b> | Antifade<br>(Diluent de contre-coloration) | Avertissement |  | H315, H319,<br>H335 |
| <b>LK-102B</b> | 0,4 x SSC / 0,3% Igepal<br>(Wash Buffer I) | S.O.          | S.O.                                                                                | S.O.                |
| <b>LK-103B</b> | 2 x SSC / 0,1% Igepal<br>(Wash Buffer II)  | S.O.          | S.O.                                                                                | S.O.                |
| <b>LK-105B</b> | 2 x SSC/0,5% Igepal                        | S.O.          | S.O.                                                                                | S.O.                |

#### Mentions de danger

H315 – Provoque une irritation cutanée.

H319 – Provoque une sévère irritation des yeux.

H335 – Peut irriter les voies respiratoires.

#### Conseils de prudence Prévention

P271 – Utiliser seulement en plein air ou dans un endroit bien ventilé.

P261 – Éviter de respirer les brouillards/vapeurs/aérosols.

P264 – Laver soigneusement toutes les zones corporelles externes exposées après manipulation.

P280 – Porter des gants de protection, des vêtements de protection, un équipement de protection des yeux et du visage.

#### Conseils de prudence Réponse

P305 + P351 + P338 – EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

P312 – Appeler un CENTRE ANTIDOTAGE, un médecin ou un secouriste, en cas de malaise.

P337+P313 – Si l'irritation oculaire persiste : consulter un médecin.

P302+P352 – EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : Laver abondamment à l'eau et au savon.

P304+P340 – EN CAS D'INHALATION : Transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer.

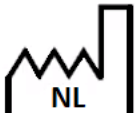
P332+P313 – En cas d'irritation cutanée : consulter un médecin.

P362+P364 – Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.

Mentions de danger supplémentaires : aucune

Réservé aux utilisateurs professionnels de laboratoire

#### Légende

|                                                                                     |                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
|  | Contient des substances dangereuses           |
|  | Pays de fabrication                           |
|  | Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé  |
|  | Consulter le mode d'emploi électronique (eME) |

## 8 Stockage et manipulation des réactifs

Protéger DAPI/Antifade de la lumière forte et directe. Conserver à une température comprise entre 2 et 8 °C. Le produit, s'il n'est pas ouvert, reste stable dans ces conditions jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du récipient.

Replacer les réactifs non dilués à une température comprise entre 2 °C et 8 °C immédiatement après utilisation. Après ouverture, les produits restent stables jusqu'à 18 mois, mais jamais au-delà de la date de péremption. Après ce délai, l'utilisation des solutions pourrait donner des résultats insatisfaisants.

## 9 Assistance technique

Une assistance technique est disponible à [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) ou par e-mail : [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Veuillez nous contacter si vous n'obtenez pas les résultats souhaités ou si des anomalies apparaissent lors de l'utilisation de ce produit.

Une copie papier imprimée du ME peut être demandée par e-mail en contactant : [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



Le eME est disponible dans d'autres langues et peut être téléchargé à partir de : [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Service client

Les sondes Kreatech peuvent être commandées via le service client de Leica +31 20 6919181 ou par e-mail : [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

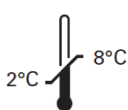
## 11 Historique

| Version du ME | Date de publication | Modifications                                    |
|---------------|---------------------|--------------------------------------------------|
| 2,4           | 2016-SEP-27         | Supprimer le tagline « The pathology Company »   |
| 3,0           | Avril- 2022         | Mise à jour conformément à la réglementation IVD |

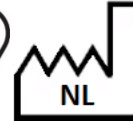
## FISH Komplet reagensa

**REF** KBI-60005

Sadrži dovoljan volumen za do 25 ili 5 x 5 testova



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
Nizozemska  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 Namjena/svrha

Fluorescencijska in situ hibridizacija (FISH) identificira ili označava ciljane genomske sekvence kako bi se njihov položaj mogao proučavati. DNK sekvence iz odgovarajućih kromosomskih specifičnih sonda prvo su obilježene reporterskim molekulama. Obilježena DNA sonda zatim se hibridizira metafaznim kromosomima ili interfaznim jezgrama na stakalcu. Nakon ispiranja, u uzorku se fluorescencijskom mikroskopijom pregledava prisutnost reporterskih molekula.

Za uporabu na metafaznim i interfaznim stanicama iz kultura periferne krvi ili izravnih pripravaka pripremljenih standardnim citogenetskim metodama.

Ovaj komplet za prethodnu obradu posebno je razvijen za postizanje optimalnih rezultata na SVJEŽE pripremljenim citološkim uzorcima.

Ovaj je proizvod namijenjen za in vitro dijagnostičku uporabu.

### 2 Opis proizvoda

Ovaj komplet za prethodnu obradu namijenjen je neautomatiziranim FISH hibridizacijama i posebno je razvijen za uporabu za prethodnu obradu i enzimsku digestaciju metafaznih i interfaznih stanica iz kultura periferne krvi ili izravnih pripravaka pripremljenih standardnim citogenetskim metodama prije postupka FISH hibridizacije DNK. Ovaj komplet posebno je razvijen za postizanje optimalnih rezultata na SVJEŽE pripremljenim citološkim uzorcima. Uporaba kompleta prekinut će poprečne veze u stanicama, permeabilizirati staničnu membranu i digestirati stanične proteine kako bi se olakšalo vezanje FISH sonda sa specifičnom staničnom DNK.

### 3 Upute za uporabu

#### 3.1 Uzorci

Za uporabu na metafaznim i interfaznim stanicama iz kultura periferne krvi ili izravnih pripravaka pripremljenih standardnim citogenetskim metodama.

Ovaj komplet za prethodnu obradu posebno je razvijen za postizanje optimalnih rezultata na SVJEŽE pripremljenim citološkim uzorcima.

Predanalitika uzoraka: Za postizanje uspješne FISH hibridizacije predanalitika igra glavnu ulogu. Uzorak treba biti ispravno fiksiran, odležan i prethodno obrađen prema dobro utvrđenom protokolu. Prekomjerna ili nedovoljna fiksacija ili loša obrada uzorka mogu uzrokovati neuspjeh FISH postupka ili nisku ponovljivost/intenzitet signala. Kreatech FISH sonde testirane su na metafaznim/interfaznim jezgrama dobivenim iz kultivirane periferne krvi i/ili koštane srži. Stakalca trebaju biti pohranjena u skladu s preporučenim uvjetima skladištenja i rukovanja za optimalne rezultate, pogledajte mrežnu stranicu tvrtke Leica.

#### 3.2 Prethodna obrada

Protokol u nastavku je za korištenje 5 stakalca u uspravnoj posudi za uzorke od 50 ml.

1. Svježe pripremljena stakalca za uzorke prethodno obradite u 50 ml 2 x SSC / 0,5 % Igepala (LK-105B) na 37 °C tijekom 15 minuta.
2. Dehidrirajte namakanjem u 70 %, 85 % i 100 % etanolu po 1 minutu u svakom. Osušite na zraku. Nastavite s **pripremom sonde**.

#### 3.3 Priprema sonde:

Kreatech™ FISH sonde isporučuju se spremne za uporabu. SE, ST i WC Kreatech™ FISH sonde isporučuju se 5 x koncentrirane i moraju se razrijediti na sljedeći način: 2 µl 5 x konc. sonda u 8 µl FISH hibridizacijskog pufera

(FHB ili WCB, isporučuje se sa sondama). Za kombiniranje nekoliko 5 x konc. sonda, zamijenite FISH hibridizacijski pufer (FHB ili WCB) s 2 µl za svaku dodanu sondu.

### 3.4 Zajedničko denaturiranje

Nanesite 10 µl sonde na polje 22 x 22 mm. Pokrijte pokrivnim staklom i zatvorite Fixogumom ili gumenim cementom. Denaturirajte uzorak i sondu pomoću sustava ThermoBrite (TS-01/02) na 75 ± 1 °C tijekom 5 – 10 minuta. Nastavite s **hibridizacijom**.

### 3.5 Hibridizacija:

Inkubirajte preko noći na 37 ± 1 °C pomoću sustava ThermoBrite (TS-01/02) ili u vlažnoj komori.

### 3.6 Ispiranje nakon hibridizacije:

1. Prethodno zagrijte 50 ml pufera za ispiranje I (0,4 x SSC / 0,3 % Igepal) (LK-102) na 72 °C
2. Uklonite gumeni cement.
3. Stavite stakalca u 50 ml pufera za ispiranje II (2 x SSC / 0,1 % Igepal) (LK-103), inkubirajte 2 minute na sobnoj temperaturi. Uklonite pokrovna stakla. Ponovno upotrijebite pufer za ispiranje samo jednom za ukupno 10 stakalca.
4. Stavite stakalca u 50 ml prethodno zagrijanog pufera za ispiranje I (0,4 x SSC / 0,3 % Igepal) (LK-102), inkubirajte 2 minute na 72 °C (+/- 1 °C) bez pomicanja. Ponovno upotrijebite pufer za ispiranje samo jednom za ukupno 10 stakalca.
5. Stavite stakalca u 50 ml svježeg pufera za ispiranje II (2 x SSC / 0,1 % Igepal) (LK-103), inkubirajte 1 minutu na sobnoj temperaturi bez pomicanja. Ponovno upotrijebite pufer za ispiranje samo jednom za ukupno 10 stakalca.
6. Dehidrirajte u svježem 70 %, 85 % i 100 % etanolu, inkubirajte 1 minutu svaki na sobnoj temperaturi. Osušite na zraku na sobnoj temperaturi i nastavite s **protuboženjem**.

### 3.7 Protuboženje:

Nanesite 15 µl DAPI protuboje (DAPI/Antifade 0,1 µg/ml) (LK-095B) ili razrijeđenu otopinu pomoću razrjeđivača za protuboju (LK097B) i nanesite pokrovno staklo. Nastavite s pregledom mikroskopom.

### 3.8 Preporuke vezane uz postupak:

Optimalno pripremljena i prethodno obrađena citološka stakalca ključna su za postizanje uspješnog FISH rezultata. Nedovoljna ili prekomjerna prethodna obrada ne utječe samo na morfologiju već i na jačinu signala (a time i na jednostavnost analize).

Temperatura i koncentracija pufera (stringentnost) hibridizacije i ispiranja su važni jer niža stringentnost može rezultirati nespecifičnim vezanjem sonde za druge sekvence, a veća stringentnost može rezultirati nedostatkom signala. Nepotpuna denaturacija ciljne DNK može rezultirati nedostatkom signala.

### 3.9 Preporuke za fluorescencijsku mikroskopiju

Za optimalnu vizualizaciju koristite dobro održavan i redovito kalibriran mikroskop opremljen živinom svjetiljkom od 100 W ili drugim odgovarajućim izvorom svjetlosti (npr. metalhalogenim žaruljama (120 W X-cite) ili LED izvorima svjetlosti) i fluorescencijskim objektivom od 63 x ili 100 x. Trostruki pojasno-propusni filtri (DAPI/FITC/Cy3 ili DAPI/FITC/TRITC) koriste se za prikaz više boja, a jednostruki pojasno-propusni filtri koriste se za vizualizaciju pojedinačnih boja. Pogledajte mrežnu stranicu tvrtke Leica za preporuke o odgovarajućim filtrima za svaku robnu marku mikroskopa: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Prikladan raspon pobude i emisije za Kreatech™ fluorofores:

| Fluorofor           | Pobuda     | Emisija    |
|---------------------|------------|------------|
| DAPI                | 360 ±20 nm | 460 ±30 nm |
| PlatinumBright™ 415 | 429 ±15 nm | 470 ±15 nm |
| PlatinumBright™ 495 | 495 ±10 nm | 517 ±10 nm |
| PlatinumBright™ 550 | 550 ±10 nm | 580 ±10 nm |

Prikazana širina pojasa odgovara 80 % maksimalne pobude/emisije fluorofores.

#### 4 Analitička učinkovitost

Učinkovitost FISH Kompleta reagensa utvrđena je korištenjem postupaka opisanih u ovim uputama za uporabu. Izmjene ovih postupaka mogu promijeniti učinkovitost testa. Korisnik mora potvrditi sva odstupanja od propisanih protokola. Korisnici koji odstupaju od preporučenih postupaka ispitivanja moraju prihvatiti odgovornost za tumačenje rezultata pacijenata u tim okolnostima. Vrijeme protokola može varirati zbog varijacija u fiksiranju i obradi.

#### 5 Potrebni materijali koji se isporučuju s proizvodom

| Šifra #  | Opis                                            | Volumen    |
|----------|-------------------------------------------------|------------|
| LK-095B  | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI protuboj)         | 0,5 ml     |
| LK-097B  | Antifade (Razrjeđivač protuboj)                 | 0,5 ml     |
| LK-102B* | 0,4 x SSC / 0,3 % Igepal (Pufer za ispiranje I) | 250 ml     |
| LK-103B* | 2 x SSC / 0,1 % Igepal (Pufer za ispiranje II)  | 2 x 250 ml |
| LK-105B  | 2 x SSC/0,5 % Igepal                            | 250 ml     |

\* Napomena: Proizvodi LK-102 i LK-103 koji sadrže isti broj, ali različita slova identični osim volumena. A = 100 ml, B = 250 ml

#### 6 Potrebni materijali koji se ne isporučuju s proizvodom

- Etanol 100 %, 85 % i 70 %
- Fixogum (LK-071A) ili gumeni cement
- Grijaća ploča s preciznom kontrolom temperature do 75 °C ili ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Inkubator s preciznim temperaturnim rasponom od 37 °C
- Vodena kupka s preciznim temperaturnim rasponom od 37 do 75 °C
- Plastične i staklene posude za uzorke
- Varijabilne mikropipete (1 µl – 200 µl)
- Fluorescencijski mikroskop opremljen odgovarajućim filtrima (vidi preporuke za fluorescencijsku mikroskopiju).

#### 7 Upozorenje i mjere opreza

- Svaki ozbiljan incident koji se dogodio u vezi s uređajem prijavljuje se proizvođaču i nadležnom tijelu države članice u kojoj korisnik i/ili pacijent ima sjedište.
- Za in vitro dijagnostičku uporabu. Isključivo za profesionalnu uporabu u laboratoriju. U slučaju nužde provjerite sigurnosne informacije u STL listovima.
- Komplet je namijenjen za uporabu isključivo prije i nakon DNK FISH postupka na metafaznim i interfaznim stanicama iz kultura periferne krvi ili izravnih priprema pripremljenih standardnim citogenetskim metodama.
- Samo za neautomatiziranu FISH prethodnu obradu i hibridizaciju.
- Sav materijal treba zbrinuti u skladu sa smjernicama vaše ustanove za zbrinjavanje bolničkog otpada.
- Preporučuje se uporaba KBI-60006 FISH Pribora za digestaciju u slučaju da se koriste ili očekuju stariji uzorci, stakalca s citoplazmatskom pozadinom ili teški uzorci.
- Za tkiva uklopljena u parafin preporučuje se uporaba kompleta za prethodnu obradu KBI-60004 ili KBI-60007.

Označivanje u skladu s Uredbom (EZ) br. 1272/2008

| Šifra # | Opis                                    | Signalna riječ | Piktogram                                                                           | Obavijesti o opasnostima |
|---------|-----------------------------------------|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| LK-095B | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI protuboj) | Upozorenje:    |  | H315, H319, H335         |
| LK-097B | Antifade (Razrjeđivač protuboj)         | Upozorenje:    |  | H315, H319, H335         |

|                |                                                    |                   |                   |                   |
|----------------|----------------------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| <b>LK-102B</b> | 0,4 x SSC / 0,3 % Igepal<br>(Pufer za ispiranje I) | Nije primjenjivo. | Nije primjenjivo. | Nije primjenjivo. |
| <b>LK-103B</b> | 2 x SSC / 0,1 % Igepal<br>(Pufer za ispiranje II)  | Nije primjenjivo. | Nije primjenjivo. | Nije primjenjivo. |
| <b>LK-105B</b> | 2 x SSC/0,5 % Igepal                               | Nije primjenjivo. | Nije primjenjivo. | Nije primjenjivo. |

Obavijest(i) o opasnostima

H315 – Nadražuje kožu.

H319 – Uzrokuje jako nadraživanje oka.

H335 – Može nadražiti dišni sustav.

Obavijest(i) o mjerama opreza Prevenirica

P271 – Rabiti samo na otvorenom ili u dobro prozračenom prostoru.

P261 – Izbjegavati udisanje magle/pare/aerosola.

P264 – Nakon uporabe temeljito oprati sve izložene vanjske dijelove tijela.

P280 – Nositi zaštitne rukavice, zaštitno odijelo, zaštitu za oči i zaštitu za lice.

Obavijest(i) o mjerama opreza Odgovor

P305+P351+P338 – U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: Oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispiranje.

P312 – U slučaju zdravstvenih tegoba nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA / liječnika / hitnu pomoć

P337+P313 – Ako nadražaj oka ne prestaje: Zatražiti savjet/pomoć liječnika.

P302+P352 – U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM: Oprati velikom količinom vode i sapunom.

P304+P340 – AKO SE UDIŠE: Premjestiti osobu na svjež zrak i postaviti ju u položaj koji olakšava disanje.

P332+P313 – U slučaju nadražaja kože: Zatražiti savjet/pomoć liječnika.

P362+P364 – Skinuti zagađenu odjeću i oprati ju prije ponovne uporabe.

Dopunske obavijesti o opasnostima: nema

Ograničeno na stručne korisnike u laboratorijima.

Objašnjenje značenja simbola.

|                                                                                     |                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
|  | Sadrži opasne tvari.                    |
|  | Zemlja proizvodnje.                     |
|  | Nemojte koristiti paket ako je oštećen. |
|  | Pogledajte elektroničke UU (eUU).       |

## 8 Skladištenje reagensa i rukovanje

Zaštititi DAPI/Antifade od jake i izravne svjetlosti. Čuvati na temperaturi 2 – 8 °C. Neotvoreni proizvod stabilan je u ovim uvjetima do roka valjanosti navedenog na naljepnici bočice.

Nerazrijeđeni reagens vratiti na 2 – 8 °C odmah nakon uporabe.

Nakon otvaranja proizvodi su stabilni do 18 mjeseci, ali nikad duže od roka valjanosti. Nakon tog vremenskog razdoblja uporaba otopina može rezultirati suboptimalnim rezultatima.

## 9 Tehnička podrška

Tehnička podrška dostupna je na [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) ili putem e-pošte: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Kontaktirajte nas ako ne dobijete željene rezultate ili se pojave bilo kakve anomalije prilikom korištenja ovog proizvoda.

Papirnati tiskani primjerak UU možete zatražiti putem e-pošte: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



Dokument eUU je dostupan na dodatnim jezicima i može se preuzeti na: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Korisnička služba

Kreatech sonde se mogu naručiti putem korisničke službe tvrtke Leica +31 20 6919181 ili putem e-pošte: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

## 11 Povijest

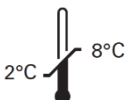
| Verzija UU | Datum izdanja | Izmjene                                 |
|------------|---------------|-----------------------------------------|
| 2,4        | 2016-SEP-27   | Uklonjen slogan „Društvo za patologiju“ |
| 3,0        | Travanj 2022. | Ažuriranje u skladu s propisima o IVD-u |

**HU**

## FISH reagenskit

**REF** KBI-60005

25 vagy 5 × 5 teszthez elegendő térfogatot tartalmaz



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
Hollandia  
www.LeicaBiosystems.com



### 1 Alkalmazási terület/cél

A fluoreszcens in situ hibridizáció (FISH) azonosítja vagy megjelöli a cél-genomszekvenciákat, hogy azok helyét tanulmányozni lehessen. A megfelelő kromoszóma-specifikus próbákból származó DNS-szekvenciákat először riportermolekulákkal jelölik. A megjelölt DNS-próbát ezután metafázisos kromoszómákkal vagy interfázisos sejtmagokkal hibridizálják egy tárgylemezen. Mosás után fluoreszcens mikroszkóppal vizsgálják a riportermolekulák jelenlétét a mintában.

Perifériásvér-tenyészetekből származó metafázisos és interfázisos sejteken vagy standard citogenetikai módszerekkel készített közvetlen preparátumokon történő használatra szolgál.

Ezt az előkezelő kitet kifejezetten a FRISSEN előkészített citológiai minták optimális eredményeinek eléréséhez fejlesztették ki.

Ez a termék in vitro diagnosztikai felhasználásra szolgál.

### 2 Termékleírás

Ez az előkezelő kit nem automatizált FISH hibridizációhoz készült, amelyet kifejezetten a perifériásvér-tenyésztésekből származó metafázisos és interfázisos sejtek vagy standard citogenetikai módszerekkel készített közvetlen preparátumok előkezeléséhez és enzimes emésztéséhez fejlesztettek ki, a DNS FISH hibridizációs eljárás előtt. Ezt a kitet kifejezetten a FRISSEN előkészített citológiai mintákon történő optimális eredmények eléréséhez fejlesztették ki. A kit használata megfordítja a sejtekben lévő keresztkötéseket, permeabilissá teszi a sejtmembránt és emészt a sejtfehérjéket, hogy megkönnyítse a FISH-próbák kötődését a specifikus sejt-DNS-hez.

### 3 Használati útmutató

#### 3.1 Minták

Perifériásvér-tenyészetekből származó metafázisos és interfázisos sejteken vagy standard citogenetikai módszerekkel készített közvetlen preparátumokon történő használatra szolgál.

Ezt az előkezelő kitet kifejezetten a FRISSEN előkészített citológiai minták optimális eredményeinek eléréséhez fejlesztették ki.

Minták előanalitikája: A sikeres FISH eredmény elérésében az előanalitika nagy szerepet játszik. A mintát megfelelően kell rögzíteni, érlelni és előkezelni egy jól megalapozott protokoll szerint. A túlfixálás, az alulfixálás vagy a minta nem megfelelő előkezelése a FISH-eljárás sikertelenségét, vagy legalábbis alacsony reprodukálhatóságot/jelintenzitást okozhat. A Kreatech FISH-próbákat tenyésztett perifériás vérből és/vagy csontvelőből származó metafázisos/interfázisos sejtmagokon tesztelték. A tárgylemezeket az optimális eredmények érdekében az ajánlott tárolási és kezelési feltételek szerint kell tárolni, lásd a Leica weboldalát.

#### 3.2 Előkezelés

Az alábbi protokoll 5 tárgylemez használatára vonatkozik egy 50 ml-es függőleges Coplin-edényben.

1. Kezelje elő a frissen elkészített mintatárgylemezeket 50 ml 2 × SSC-ben/0,5% Igepal-ban (LK-105B) 37 °C-on 15 percig.

- Dehidratálja 70%-os, 85%-os és 100%-os etanolban egyenként 1 percig. Szárítsa meg a levegőn. Folytassa a **Próbaelőkészítéssel**.

### 3.3 Próbaelőkészítés:

A Kreatech™ FISH-próbákat használatra készen (RtU) szállítjuk. Az SE, ST és WC Kreatech™ FISH-próbákat 5-szörös koncentrációban szállítjuk, és az alábbiak szerint kell hígítani: 2 µl 5-szörös koncentrációjú próba 8 µl FISH hibridizációs pufferben (FHB vagy WCB, a próbákkal együtt szállítjuk). Több 5-szörös koncentrációjú próba kombinálásához cserélje ki a FISH hibridizációs puffert (FHB vagy WCB) 2 µl-re minden egyes hozzáadott próbához.

### 3.4 Egyidejű denaturálás

Alkalmazzon 10 µl próbát 22 × 22 mm-es mezőnként. Fedje le üveg fedőlemezzel, és zárja le Fixogummal vagy gumicementtel. Denaturálja a mintát és a próbát ThermoBrite (TS-01/02) készülékben 75 ± 1 °C-on 5–10 percig. Folytassa a **Hibridizációval**.

### 3.5 Hibridizáció:

Inkubálja egy éjszakán át 37 ± 1 °C-on ThermoBrite (TS-01/02) készülékben vagy páraaknában.

### 3.6 Hibridizáció utáni mosás:

- Melegítsen elő 50 ml mosópuffer I-et (0,4 × SSC/0,3% Igepal) (LK-102) 72 °C-ra.
- Távolítsa el a gumicementet.
- Helyezze a tárgylemezeket 50 ml mosópuffer II-be (2 × SSC/0,1% Igepal) (LK-103), inkubálja 2 percig szobahőmérsékleten. Csúszta le a fedőlemezeket. A mosópuffert csak egyszer használja fel újra, összesen 10 tárgylemezre.
- Helyezze a tárgylemezeket 50 ml előmelegített mosópuffer I-be (0,4 × SSC/0,3% Igepal) (LK-102), inkubálja 2 percig 72 °C-on (±1 °C), keverés nélkül. A mosópuffert csak egyszer használja fel újra, összesen 10 tárgylemezre.
- Helyezze a tárgylemezeket 50 ml friss mosópuffer II-be (2 × SSC/0,1% Igepal) (LK-103), és inkubálja 1 percig szobahőmérsékleten, keverés nélkül. A mosópuffert csak egyszer használja fel újra, összesen 10 tárgylemezre.
- Dehidratálja friss 70%-os, 85%-os és 100%-os etanolban, inkubálja egyenként 1 percig szobahőmérsékleten. Szárítsa meg levegőn szobahőmérsékleten, és folytassa a **Kontrasztfestéssel**.

### 3.7 Kontrasztfestés:

Vigyen fel 15 µl DAPI kontrasztfestéket (DAPI/Antifade 0,1 µg/ml) (LK-095B) vagy ennek hígítását kontrasztfesték-hígítóval (LK097B), és helyezze fel az üveg fedőlemezt. Folytassa a mikroszkópos vizsgálattal.

### 3.8 Eljárásra vonatkozó ajánlások:

Az optimálisan előkészített és előkezelte citológiai tárgylemezek kulcsfontosságúak a sikeres FISH eredmény eléréséhez. Az alul- vagy túlzásba vitt előkezelés nemcsak a morfológiát, hanem a jelerősséget is befolyásolja (és ezáltal az elemzés könnyűségét).

A hibridizáció és a mosás hőmérséklete és pufferkoncentrációja (szigorú pontosság) fontos, mivel az alacsonyabb szigorúság a próba nem specifikus kötődését eredményezheti más szekvenciákhoz, a magasabb szigorúság pedig jelhiányt eredményezhet. A cél-DNS nem teljes denaturációja jelhiányt eredményezhet.

### 3.9 Ajánlások a fluoreszcens mikroszkópos vizsgálathoz

Az optimális vizualizációhoz használjon jól karbantartott és rendszeresen kalibrált mikroszkópot, amely 100 W-os higanylámpával vagy más megfelelő fényforrással (pl. fémhalogén izzó (120 W-os X-cite) vagy LED-alapú fényforrás) és 63× vagy 100× fluoreszcens objektívvel van felszerelve. Háromszoros sávszűrő (DAPI/FITC/Cy3 vagy DAPI/FITC/TRITC) használható több szín megjelenítéséhez, egyszeres sávszűrők pedig az egyes színek megjelenítéséhez. Az egyes mikroszkópmárkákhoz megfelelő szűrőkre vonatkozó ajánlásokat a Leica weboldalán találja: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Megfelelő gerjesztési és emissziós tartomány a Kreatech™ fluorofórokhoz:

| Fluorofór | Gerjesztés | Emisszió   |
|-----------|------------|------------|
| DAPI      | 360 ±20 nm | 460 ±30 nm |

|                            |            |            |
|----------------------------|------------|------------|
| <b>PlatinumBright™ 415</b> | 429 ±15 nm | 470 ±15 nm |
| <b>PlatinumBright™ 495</b> | 495 ±10 nm | 517 ±10 nm |
| <b>PlatinumBright™ 550</b> | 550 ±10 nm | 580 ±10 nm |

(A feltüntetett sáv szélesség a fluorofór maximális gerjesztési/emissziós értéke 80%-ának felel meg.)

#### 4 Analitikai teljesítmény

A FISH Reagenskit teljesítményét az ebben a használati útmutatóban leírt eljárások alkalmazásával állapították meg. Ezen eljárások módosítása megváltoztathatja a vizsgálat teljesítményét. Az utasításokban leírt protokolloktól való bármilyen eltérést a felhasználónak validálnia kell. A tesztelési eljárásoktól való eltérés esetén a felhasználó felelőssége a betegeredmények értelmezése az adott körülmények között. A protokollok végrehajtásához szükséges idő a fixálás és a feldolgozás eltérései miatt változhat.

#### 5 Szükséges és a termékkel együtt biztosított anyagok

| Kódszám         | Leírás                                            | Térfogat   |
|-----------------|---------------------------------------------------|------------|
| <b>LK-095B</b>  | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml<br>(DAPI Kontrasztfesték) | 0,5 ml     |
| <b>LK-097B</b>  | Antifade<br>(Kontrasztfesték-hígító)              | 0,5 ml     |
| <b>LK-102B*</b> | 0,4 × SSC/0,3% Igepal<br>(Mosópuffer I)           | 250 ml     |
| <b>LK-103B*</b> | 2 × SSC/0,1% Igepal<br>(Mosópuffer II)            | 2 × 250 ml |
| <b>LK-105B</b>  | 2 × SSC/0,5% Igepal                               | 250 ml     |

\*Figyelem, az azonos számot, de különböző betűket tartalmazó LK-102 és LK-103 termékek a térfogattól eltekintve azonosak.

A = 100 ml, B = 250 ml

#### 6 Szükséges és a termékkel nem biztosított anyagok

- Etanol 100%, 85% és 70%
- Fixogum (LK-071A) vagy gumicement
- Melegítőlap pontos hőmérséklet-szabályozással 75 °C-ig vagy ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Inkubátor 37 °C-os pontos hőmérséklet-tartománnyal
- Vízfürdő 37–75 °C közötti pontos hőmérséklet-tartománnyal
- Műanyag és üveg Coplin-edények
- Változtatható mikropipetták (1 µl – 200 µl)
- Megfelelő szűrőkkel felszerelt fluoreszcens mikroszkóp (lásd a fluoreszcens mikroszkópos vizsgálatra vonatkozó ajánlásokat).

#### 7 Figyelmeztetés és óvintézkedések

- Az eszközzel kapcsolatban bekövetkezett minden súlyos eseményt jelenteni kell a gyártónak és a felhasználó és/vagy a beteg székhelye szerinti tagállam illetékes hatóságának.
- In vitro diagnosztikai használatra. Kizárólag professzionális laboratóriumi használatra. Vészhelyzet esetén ellenőrizze az SDS lapokat a biztonsági információkért.
- A kit kizárólag a perifériásvér-tenyésztésekből származó metafázisos és interfázisos sejteken vagy standard citogenetikai módszerekkel készített közvetlen preparátumokon végzett DNS FISH előtt és után történő használatra szolgál.
- Kizárólag nem automatizált FISH előkezeléshez és hibridizációhoz.
- Minden anyagot az intézménye kórházi hulladékok ártalmatlanítására vonatkozó irányelveinek megfelelően kell ártalmatlanítani.
- A KBI-60006 FISH Emésztőkit használata javasolt abban az esetben, ha régebbi mintákat, citoplazmatikus háttérrel rendelkező tárgylemezeket vagy nehéz mintákat használnak vagy várnak.
- Paraffinba ágyazott szövetek esetében ajánlott a KBI-60004 vagy KBI-60007 előkezelő kit használata.

Az 1272/2008/EK rendelet szerinti címkézés

| Kódszám | Leírás | Jelzőszó | Piktogram | Figyelmeztető mondatok |
|---------|--------|----------|-----------|------------------------|
|---------|--------|----------|-----------|------------------------|

|                |                                                   |          |                                                                                   |                     |
|----------------|---------------------------------------------------|----------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <b>LK-095B</b> | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml<br>(DAPI Kontrasztfesték) | Figyelem |  | H315, H319,<br>H335 |
| <b>LK-097B</b> | Antifade<br>(Kontrasztfesték-hígító)              | Figyelem |  | H315, H319,<br>H335 |
| <b>LK-102B</b> | 0,4 × SSC/0,3% Igepal<br>(Mosópuffer I)           | N.A.     | N.A.                                                                              | N.A.                |
| <b>LK-103B</b> | 2 × SSC/0,1% Igepal<br>(Mosópuffer II)            | N.A.     | N.A.                                                                              | N.A.                |
| <b>LK-105B</b> | 2 × SSC/0,5% Igepal                               | N.A.     | N.A.                                                                              | N.A.                |

#### Figyelmeztető mondatok

H315 – Bőrirritáló hatású.

H319 – Súlyos szemirritációt okoz.

H335 – Légúti irritációt okozhat

#### Óvintézkedésre vonatkozó mondatok – megelőzés

P271 – Kizárólag szabadban vagy jól szellőző helyiségben használható.

P261 – Kerülje a köd/gőzök/permet belélegzését.

P264 – A használatot követően az expozíciónak kitett külső testrészeket alaposan meg kell mosni.

P280 – Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

#### Óvintézkedésre vonatkozó mondatok – válasz

P305 + P351 + P338 – SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Óvatos öblítés vízzel több percen keresztül. Adott esetben kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.

P312 – Rosszullét esetén forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz/elsősegélynyújtó szakemberhez.

P337 + P313 – Ha a szemirritáció nem múlik el: orvosi ellátást kell kérni.

P302 + P352 – HA BŐRRE KERÜL: Lemosás bő szappanos vízzel.

P304 + P340 – BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni.

P332 + P313 – Bőrirritáció esetén: orvosi ellátást kell kérni.

P362 + P364 – A szennyezett ruhadarabot le kell vetni és újbóli használat előtt ki kell mosni.

#### Kiegészítő figyelmeztető mondatok: nincsenek

Kizárólag professzionális laboratóriumi felhasználók számára

#### A szimbólumok magyarázata

|                                                                                     |                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
|  | Veszélyes anyagokat tartalmaz        |
|  | Gyártás helye szerinti ország        |
|  | Ne használja, ha a csomagolás sérült |

|                                                                                   |                                           |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
|  | Lásd az elektronikus használati útmutatót |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|

## 8 Reagensek tárolása és kezelése

Védje a DAPI/Antifade-et az erős és közvetlen fénytől. Tárolja 2–8 °C-on. A felbontatlan termék ilyen körülmények között az injekciós üveg címkéjén feltüntetett lejárati dátumig stabil.

Felhasználás után azonnal tegye vissza a hígítatlan reagenseket 2–8 °C közötti hőmérsékletre.

Felbontás után a termékek legfeljebb 18 hónapig, de legkésőbb a lejárati dátumig stabilak. Ezen időszak után az oldatok használata szuboptimális eredményekhez vezethet.

## 9 Műszaki támogatás

A műszaki támogatás a [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) címen vagy e-mailben érhető el: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Kérjük, vegye fel velünk a kapcsolatot, ha a termék használata során nem a kívánt eredményt kapja, vagy bármilyen rendellenesség jelentkezik.

A használati útmutató nyomtatott példánya kérhető e-mailben a következő címen: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



Az elektronikus használati útmutató további nyelveken is elérhető, amelyek letölthetők a következő honlapról: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Ügyfélszolgálat

A Kreatech próbák megrendelhetők a Leica ügyfélszolgálatán keresztül (+31 20 6919181) vagy megrendelhetők e-mailben: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

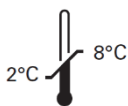
## 11 Dokumentumtörténet

| Használati útmutató verziója | Kiadás dátuma | Változtatások                              |
|------------------------------|---------------|--------------------------------------------|
| 2,4                          | 2016-SEP-27   | A „The pathology Company” szlogen törlése. |
| 3,0                          | 2022. április | Frissítés az IVD-előírásoknak megfelelően  |

## Kit reagente FISH

**REF** KBI-60005

Contiene un volume sufficiente per un massimo di 25 o 5x5 test



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
Paesi Bassi  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 Uso previsto/scopo

L'ibridazione fluorescente in situ (FISH) identifica o etichetta sequenze genomiche target in modo che la loro posizione possa essere studiata. Le sequenze di DNA da sonde specifiche per cromosomi appropriati sono prima marcate con molecole reporter. La sonda di DNA marcata viene poi ibridata ai cromosomi in metafase o ai nuclei in interfase su un vetrino. Dopo il lavaggio, il campione viene esaminato per le molecole reporter mediante microscopia a fluorescenza.

Per l'uso su cellule in metafase e interfase da colture di sangue periferico o preparazioni dirette preparate con metodi citogenetici standard.

Questo kit di pretrattamento è specificamente sviluppato per ottenere risultati ottimali su campioni citologici APPENA preparati.

Il presente prodotto è destinato all'uso diagnostico in vitro.

### 2 Descrizione del prodotto

Questo kit di pretrattamento è per ibridazioni FISH non automatizzate, specificamente sviluppato per il pretrattamento e la digestione enzimatica di cellule in metafase e interfase da colture di sangue periferico o preparazioni dirette preparate con metodi citogenetici standard prima della procedura di ibridazione FISH di DNA. Questo kit è specificamente sviluppato per ottenere risultati ottimali su campioni citologici APPENA preparati. L'uso del kit invertirà i legami incrociati nelle cellule, permeabilizzerà la membrana cellulare e digerirà le proteine cellulari per facilitare il legame delle sonde FISH con il DNA cellulare specifico.

### 3 Istruzioni per l'uso

#### 3.1 Campioni

Per l'uso su cellule in metafase e interfase da colture di sangue periferico o preparazioni dirette preparate con metodi citogenetici standard.

Questo kit di pretrattamento è specificamente sviluppato per ottenere risultati ottimali su campioni citologici APPENA preparati.

Pre-analisi dei campioni: Per ottenere una FISH di successo, le pre-analisi giocano un ruolo importante. Il campione dovrebbe essere fissato correttamente, invecchiato e pretrattato secondo un protocollo ben stabilito. Una fissazione eccessiva, una fissazione insufficiente o un pretrattamento inadeguato del campione possono causare il fallimento della procedura FISH o almeno una bassa riproducibilità/intensità del segnale. Le sonde FISH Kreatech sono state testate su nuclei in metafase/interfase derivati da colture di sangue periferico e/o midollo osseo. I vetrini devono essere conservati secondo le condizioni di conservazione e manipolazione raccomandate per ottenere risultati ottimali, vedere il sito web Leica.

#### 3.2 Pretrattamento

Il protocollo sottostante è per l'uso di 5 vetrini in un vaso Coplin verticale di 50 ml.

1. Pretrattare il vetrino campione appena preparato in 50 ml di 2 x SSC/0,5% Igepal (LK-105B), a 37 °C per 15 minuti (min).
2. Disidratare in etanolo al 70%, all'85% e al 100% per 1 minuto ciascuno. Asciugare all'aria. Procedere con la **Preparazione della sonda**.

### 3.3 Preparazione della sonda:

Le sonde FISH Kreatech™ sono fornite pronte all'uso (RtU). Le sonde FISH SE, ST, e WC Kreatech™ sono fornite 5 x conc. e devono essere diluite come segue: 2 µl di sonda 5 x conc. in 8 µl di tampone di ibridazione FISH (FHB o WCB, fornito con le sonde). Per combinare diverse sonde 5 x conc., sostituire il tampone di ibridazione FISH (FHB o WCB) con 2 µl per ogni sonda aggiunta.

### 3.4 Co-denaturazione

Applicare 10 µl di sonda per campo di 22 x 22 mm. Coprire con un vetrino di copertura e sigillare con Fixogum o cemento gommato. Denaturare il campione e la sonda su un ThermoBrite (TS-01/02) a 75 ±1 °C per 5-10 min. Continuare con l'**Ibridazione**.

### 3.5 Ibridazione:

Incubare durante la notte a 37 ±1 °C in un ThermoBrite (TS-01/02) o in una camera umidificata.

### 3.6 Lavaggio post-ibridazione:

1. Preriscaldare 50 ml di tampone di lavaggio I (0,4 x SSC / 0,3% Igepal) (LK-102) a 72 °C
2. Rimuovere il cemento gommato.
3. Porre i vetrini in 50 ml di tampone di lavaggio II (2 x SSC / 0,1% Igepal) (LK-103), incubare per 2 minuti a temperatura ambiente. Togliere i coprivetrini. Riutilizzare il tampone di lavaggio solo una volta per un totale di 10 vetrini.
4. Porre i vetrini in 50 ml di tampone di lavaggio I preriscaldato (0,4 x SSC / 0,3% Igepal) (LK-102), incubare per 2 minuti a 72 °C (+/- 1 °C) senza agitazione. Riutilizzare il tampone di lavaggio solo una volta per un totale di 10 vetrini.
5. Mettere i vetrini in 50 ml di tampone di lavaggio II fresco (2 x SSC / 0,1% Igepal) (LK-103), incubare per 1 min. a temperatura ambiente senza agitazione. Riutilizzare il tampone di lavaggio solo una volta per un totale di 10 vetrini.
6. Disidratare in etanolo fresco al 70%, all'85% e al 100%, incubare per 1 minuto ciascuno a temperatura ambiente. Asciugare all'aria a temperatura ambiente e procedere alla **Controcolorazione**.

### 3.7 Controcolorazione:

Applicare 15 µl di controcolorante DAPI (DAPI/Anti-sbiadimento 0,1 µg/ml) (LK-095B) o una diluizione di questo usando il diluente per controcoloranti (LK097B) e applicare il vetrino di copertura. Procedere con la microscopia.

### 3.8 Raccomandazioni procedurali:

I vetrini citologici preparati e pretrattati in modo ottimale sono fondamentali per ottenere un risultato FISH di successo. Il pretrattamento insufficiente o eccessivo non solo influenza la morfologia ma anche la forza del segnale (e quindi la facilità di analisi).

La temperatura e la concentrazione del tampone (stringenza) dell'ibridazione e del lavaggio sono importanti, poiché una bassa stringenza può provocare un legame non specifico della sonda ad altre sequenze, mentre una stringenza più alta può provocare una mancanza di segnale. La denaturazione incompleta del DNA bersaglio può portare alla mancanza di segnale.

### 3.9 Raccomandazioni per la microscopia a fluorescenza

Per una visualizzazione ottimale, utilizzare un microscopio ben mantenuto e regolarmente calibrato, dotato di una lampada a mercurio da 100 W o di un'altra fonte di luce appropriata (ad es. lampadina a ioduri metallici (120W X-cite) o fonti di luce basate su LED) e un obiettivo a fluorescenza 63x o 100x. I filtri passa-banda tripli (DAPI/FITC/Cy3 o DAPI/FITC/TRITC) sono utilizzati per visualizzare più colori, i filtri passa-banda singoli sono utilizzati per la visualizzazione dei singoli colori. Vedere il sito web Leica per le raccomandazioni sui filtri appropriati per ogni marca di microscopio: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Gamma di eccitazione ed emissione adatta per i fluorofori Kreatech™:

| Fluorofori          | Eccitazione | Emissione  |
|---------------------|-------------|------------|
| DAPI                | 360 ±20 nm  | 460 ±30 nm |
| PlatinumBright™ 415 | 429 ±15 nm  | 470 ±15 nm |
| PlatinumBright™ 495 | 495 ±10 nm  | 517 ±10 nm |
| PlatinumBright™ 550 | 550 ±10 nm  | 580 ±10 nm |

La larghezza di banda indicata corrisponde all'80% della massima eccitazione/emissione del fluoroforo)

#### 4 Prestazioni analitiche

Le prestazioni del Kit reagente FISH sono state stabilite utilizzando le procedure descritte in queste istruzioni per l'uso. Modifiche a queste procedure possono alterare le prestazioni del saggio. Qualsiasi deviazione dai protocolli deve essere convalidata dall'utente. Gli utenti che modificano le procedure raccomandate devono assumersi la responsabilità dell'interpretazione dei risultati relativi ai pazienti in tali circostanze. I tempi indicati nel protocollo possono variare in base al diverso tipo di fissazione e processazione.

#### 5 Materiali richiesti e forniti con il prodotto

| Codice n. | Descrizione                                            | Volume     |
|-----------|--------------------------------------------------------|------------|
| LK-095B   | DAPI/Anti-sbiadimento 0,1 µg/ml (Controcolorante DAPI) | 0,5 ml     |
| LK-097B   | Anti-sbiadimento (Diluente controcolorante)            | 0,5 ml     |
| LK-102B*  | 0,4 x SSC / 0,3% Igepal (Tampone di lavaggio I)        | 250 ml     |
| LK-103B*  | 2 x SSC / 0,1% Igepal (Tampone di lavaggio II)         | 2 x 250 ml |
| LK-105B   | 2 x SSC/0,5% Igepal                                    | 250 ml     |

\*Si prega di notare che i prodotti LK-102 e LK-103 che contengono lo stesso numero ma lettere diverse sono identici tranne che per il volume. A= 100 ml, B=250 ml

#### 6 Materiali richiesti e non forniti con il prodotto

- Etanolo 100%, 85% e 70%
- Fixogum (LK-071A) o cemento gommato
- Piastra calda con controllo accurato della temperatura fino a 75 °C o ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Incubatore con range di temperatura accurato di 37 °C
- Bagno termostatico con range di temperatura accurato di 37 - 75 °C
- Vasi di Coplin in plastica e vetro
- Micropipette variabili (1 µl - 200 µl)
- Microscopio a fluorescenza dotato di filtri adeguati (vedere raccomandazioni per la microscopia a fluorescenza).

#### 7 Avvertenze e precauzioni

- Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro in cui risiede l'utilizzatore e/o il paziente.
- Per uso diagnostico in vitro. Solo per uso professionale in laboratorio. In caso di emergenza controllare le schede SDS per informazioni sulla sicurezza.
- Il kit è destinato all'uso solo prima e dopo FISH di DNA su cellule in metafase e interfase da colture di sangue periferico o preparazioni dirette preparate con metodi citogenetici standard.
- Solo per il pretrattamento e l'ibridazione FISH non automatizzati.
- Tutti i materiali devono essere smaltiti secondo le linee guida dell'istituto per lo smaltimento dei rifiuti ospedalieri.
- Si consiglia di utilizzare il kit di digestione FISH KBI-60006 nel caso in cui siano utilizzati o previsti campioni più vecchi, vetrini con sfondo citoplasmatico o campioni difficili.
- Per i tessuti inclusi in paraffina si consiglia di utilizzare i kit di pretrattamento KBI-60004 o KBI-60007.

Etichettatura secondo il Regolamento (CE) n. 1272/2008

| Codice n. | Descrizione                                            | Parola di avviso | Icona                                                                                | Indicazioni di pericolo: |
|-----------|--------------------------------------------------------|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| LK-095B   | DAPI/Anti-sbiadimento 0,1 µg/ml (Controcolorante DAPI) | Avvertenza       |  | H315, H319, H335         |

|                |                                                    |            |                                                                                    |                     |
|----------------|----------------------------------------------------|------------|------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <b>LK-097B</b> | Anti-sbiadimento<br>(Diluente controcolorante)     | Avvertenza |  | H315, H319,<br>H335 |
| <b>LK-102B</b> | 0,4 x SSC / 0,3% Igepal<br>(Tampone di lavaggio I) | N.D.       | N.D.                                                                               | N.D.                |
| <b>LK-103B</b> | 2 x SSC / 0,1% Igepal<br>(Tampone di lavaggio II)  | N.D.       | N.D.                                                                               | N.D.                |
| <b>LK-105B</b> | 2 x SSC/0,5% Igepal                                | N.D.       | N.D.                                                                               | N.D.                |

#### Indicazione/i di pericolo

H315 – Causa irritazione cutanea.

H319 – Causa grave irritazione oculare.

H335 – Può irritare le vie respiratorie

#### Consiglio/i di prudenza Prevenzione

P271 – Usare solo all'aperto o in luogo ben ventilato.

P261 – Evitare l'inalazione di nebbie/vapori/spray.

P264 - Lavare accuratamente tutte le aree esterne del corpo esposte dopo l'uso.

P280 – Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.

#### Consiglio/i di prudenza Risposta

P305+P351+P338 – IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Sciacquare attentamente con acqua per diversi minuti. Togliere le lenti a contatto, se indossate e se l'operazione risulta semplice. Continuare a risciacquare.

P312 – Chiamare un CENTRO VELENI/dottore/medico/primo soccorso/se ci si sente male.

P337+P313 – Se l'irritazione agli occhi persiste: Consultare un medico o farsi visitare immediatamente.

P302+P352 – IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: Lavare abbondantemente con acqua e sapone.

P304+P340 – IN CASO DI INALAZIONE: Trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione.

P332+P313 – In caso di irritazione della pelle: Consultare un medico o farsi visitare immediatamente.

P362+P364 – Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

Indicazioni di pericolo supplementari: nessuna

Unicamente ad uso di laboratori professionali.

#### Legenda

|                                                                                     |                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
|  | Contiene sostanze pericolose                  |
|  | Paese di produzione                           |
|  | Non utilizzare se la confezione è danneggiata |
|  | Consultare le IPU elettroniche (eIPU)         |

## 8 Conservazione e manipolazione del reagente

Proteggere DAPI/Anti-sbiadimento dalla luce forte e diretta. Conservare a 2 - 8 °C. In queste condizioni, il prodotto si mantiene stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del contenitore.

Riportare i reagenti non diluiti a 2 - 8 °C immediatamente dopo l'uso.

Dopo l'apertura i prodotti sono stabili fino a 18 mesi, ma mai oltre la data di scadenza. Dopo questo periodo di tempo l'uso delle soluzioni può portare a risultati non ottimali.

## 9 Assistenza tecnica

Il supporto tecnico è disponibile su [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) o via e-mail: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Si prega di contattarci se non si ottengono i risultati desiderati o se appaiono delle anomalie durante l'utilizzo di questo prodotto.

Una copia cartacea stampata delle IPU può essere richiesta via e-mail contattando: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



Le eIPU sono disponibili in altre lingue che possono essere scaricate da: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Assistenza clienti

Le sonde Kreatech possono essere ordinate tramite il Servizio clienti Leica +31 20 6919181 o tramite e-mail: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

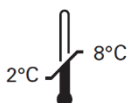
## 11 Storia

| Versione IPU | Data di pubblicazione | Modifiche                                     |
|--------------|-----------------------|-----------------------------------------------|
| 2.4          | 27-SETT-2016          | Rimuovere la tagline "The pathology Company". |
| 3.0          | Aprile 2022           | Aggiornamento secondo i regolamenti IVD       |

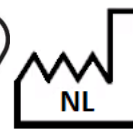
## FISH試薬キット

**REF** KBI-60005

最大25または5x5のテストに十分な容積を収容可能



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
オランダ  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 本来の用途・目的

蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH) は、標的ゲノム配列を同定または標識し、その位置を調査することができる。染色体特異的プローブのDNA配列は、まずレポーター分子で標識される。標識されたDNAプローブは、次にスライド上のメタフェース染色体または間期核にハイブリダイズされる。洗浄後、試料は蛍光顕微鏡でレポーター分子を確認する。

末梢血培養液や標準的な細胞遺伝学的手法で調製した直接標本からのメタフェースおよびインターフェースの細胞に対して使用する。

この前処理キットは、新鮮な細胞診サンプルに最適な結果を得るために特別に開発されたものである。

本製品は体外診断用として使用される。

### 2 製品名

この前処理キットは、DNA FISH ハイブリダイゼーションの前に、末梢血培養液や標準的な細胞遺伝学的手法で調製した直接標本からメタフェース細胞やインターフェース細胞の前処理と酵素消化に使用するために開発された非自動FISH ハイブリダイゼーション用キットである。このキットは、新鮮な細胞診サンプルに最適な結果を得るために特別に開発されたものである。本キットを使用することにより、セル内の架橋を反転させ、細胞膜を透過させ、細胞タンパク質を消化して、FISHプローブと特定の細胞DNAとの結合を容易にすることができる。

### 3 使用説明書

#### 3.1 標本

末梢血培養液や標準的な細胞遺伝学的手法で調製した直接標本からのメタフェースおよびインターフェースの細胞に対して使用する。

この前処理キットは、新鮮な細胞診サンプルに最適な結果を得るために特別に開発されたものである。

標本の事前分析FISHを成功させるためには、事前分析が重要な役割を果たす。標本は、確立されたプロトコルに従って、正しく固定、熟成、前処理を行う必要がある。過固定、過少固定、前処理が不十分な場合、FISH法の失敗や再現性・信号強度の低下の原因となることがある。Kreatech FISH プローブは、培養末梢血や骨髓由来のメタフェース / インターフェース核でテストされている。最適な結果を得るために、スライドは推奨される保管および取り扱い条件に従って保管する必要がある（ライカのウェブサイトを参照）。

#### 3.2 処理

以下のプロトコルは、50mlの直立コプリンジャーにスライドを5枚使用した場合のものである。

1. 50mlの2 x SSC / 0.5% Igepal (LK-105B)で37℃、15分（分）、調製したばかりのスライドガラスを前処理する。
2. 70%、85%、100%エタノールで各 1 分間脱水する。自然乾燥させてください。プローブの準備に進む。

#### 3.3 プローブの準備:

Kreatech™ FISHプローブは、すぐに使える（RtU）で提供される。SE、ST、WC Kreatech™ FISHプローブは5倍濃縮で提供されるので、以下のように希釈する必要がある。2 μl 5x濃縮プローブを8 μl FISH ハイブリダイゼ

ーションバッファ（FHBまたはWCB、プローブに付属）に溶かす。複数の 5 倍濃縮プローブを組み合わせるには、FISH ハイブリダイゼーションバッファ（FHB、WCB）を、プローブ 1 つにつき 2  $\mu$ l ずつ交換する。

### 3.4 共変性

22×22mm フィールドあたり 10  $\mu$ l のプローブを塗布する。ガラスカバースリップで覆い、フィクソガムまたはラバーセメントで密封する。サンプルとプローブを Thermo Brite (TS-01/02) 上で 75±1℃、5～10 分間変性させる。ハイブリダイゼーションを続ける。

### 3.5 ハイブリダイゼーション:

Thermo Brite (TS-01/02) または加湿器中、37±1℃で一晩インキュベートする。

### 3.6 ハイブリダイゼーション後の洗浄:

1. 50ml 洗浄緩衝液 I (0.4 x SSC / 0.3% Igepal) (LK-102) を 72℃に予熱しておく。
2. ラバーセメントを除去する。
3. スライドを 50 ml の Wash Buffer II (2 x SSC / 0.1% Igepal) (LK-103) に入れ、室温で 2 分間インキュベートする。カバークリップをスライドさせて外す。洗浄緩衝液は 1 回のみ再使用し、合計 10 枚のスライドを使用する。
4. スライドを 50 ml の予め温めておいた洗浄緩衝液 I (0.4 x SSC / 0.3% Igepal) (LK-102) に入れ、攪拌せずに 72℃ (+1℃) で 2 分間インキュベートする。洗浄緩衝液は 1 回のみ再使用し、合計 10 枚のスライドを使用する。
5. スライドを 50 ml の新しい洗浄緩衝液 II (2 x SSC / 0.1% Igepal) (LK-103) に入れ、攪拌せずに常温で 1 分間インキュベートする。洗浄緩衝液は 1 回のみ再使用し、合計 10 枚のスライドを使用する。
6. 新しい 70%、85%、100% エタノールで脱水し、常温で各 1 分間インキュベートする。常温で風乾させ、対比染色に進む。

### 3.7 対比染色:

Apply 15  $\mu$ l DAPI counterstain (DAPI/Antifade 0.1  $\mu$ g/ml) (LK-095B) or a dilution of this using counterstain diluent (LK097B) and apply glass cover slip. 顕微鏡検査に進みます。

### 3.8 手順に関する推奨事項:

FISH を成功させるためには、細胞診スライドを最適に準備し、前処理をすることが重要である。前処理の過不足は、形態だけでなく、シグナル強度（ひいては解析のしやすさ）にも影響する。

ハイブリダイゼーションと洗浄の温度とバッファの濃度（ストリンジェンシー）は重要である。ストリンジェンシーが低いとプローブが他の配列と非特異的に結合し、高すぎるとシグナルが出なくなることがある。標的 DNA の変性が不完全だと、シグナルが出なくなることがある。

### 3.9 蛍光顕微鏡観察のための推奨事項

最適な可視化のためには、100W 水銀灯またはその他の適切な光源（例：メタルハライドランプ（120W X-cite）または LED ベースの光源）および 63 倍または 100 倍の蛍光対物レンズを備えた、よく整備され定期的にキャリブレーションされた顕微鏡を使用してください。複数色の観察にはトリプルバンドパスフィルター（DAPI/FITC/Cy3 または DAPI/FITC/TRITC）を、個々の色の視覚化にはシングルバンドパスフィルターを使用する。各顕微鏡ブランドに適した推奨フィルターについては、ライカのウェブサイトをご覧ください：  
<http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Kreatech™フルオロフォアに適した励起・発光範囲である。

| 蛍光体                 | 励起          | 放射          |
|---------------------|-------------|-------------|
| DAPI                | 360 ± 20 nm | 460 ± 30 nm |
| PlatinumBright™ 415 | 429 ± 15 nm | 470 ± 15 nm |
| PlatinumBright™ 495 | 495 ± 10 nm | 517 ± 10 nm |
| PlatinumBright™ 550 | 550 ± 10 nm | 580 ± 10 nm |

表示されている帯域幅は、蛍光体の最大励起/発光の 80% に相当する最大励起/発光の 80% に相当する)

## 4 分析性能

FISH試薬キットの性能は、この使用説明書に記載されている手順で確立されている。これらの手順を変更すると、アッセイの性能が変化することがある。指示されたプロトコールからの逸脱は、ユーザーによるバリデーションが必要である。推奨された試験手順から外れた場合、その状況下での患者の結果の解釈については、ユーザーが責任を負う必要がある。プロトコールにかかる時間は、固定および処理のばらつきにより異なる場合がある。

## 5 製品に必要な材料と付属品

| コード番号    | 内容                                         | 容量         |
|----------|--------------------------------------------|------------|
| LK-095B  | DAPI/Antifade 0.1 $\mu$ g/ml<br>(DAPI対比染色) | 0.5 ml     |
| LK-097B  | Antifade<br>(対比染色希釈液)                      | 0.5 ml     |
| LK-102B* | 0.4 x SSC / 0.3% Igepal<br>(洗浄緩衝液 I)       | 250 ml     |
| LK-103B* | 2 x SSC / 0.1% Igepal<br>(洗浄緩衝液 II)        | 2 x 250 ml |
| LK-105B  | 2 x SSC/0.5% Igepal                        | 250 ml     |

\*LK-102とLK-103は、同じ番号で文字が異なる場合、容量以外は同じになるのでご注意ください。A= 100 ml, B=250 ml

## 6 必要な材料で、製品に付属していないもの

- エタノール100%、85%、70
- フィクソガム（LK-071A）またはラバーセメント
- 75℃まで正確に温度調節できるホットプレート、またはThermoBrite™ (TS01/TS02)
- インキュベーター、温度範囲：37 °C
- ウォーターバス、温度範囲：37～75℃
- プラスチックおよびガラス製コプリンジャー
- 可変式マイクロピペット（1  $\mu$ l～200  $\mu$ l）
- 適切なフィルターを装備した蛍光顕微鏡（蛍光顕微鏡の推奨事項を参照）。

## 7 警告と注意事項

- 装置に関連して発生した重大な事故は、製造者及び使用者及び / 又は患者の居住する加盟国の所轄庁に報告しなければならない。
- in vitro診断用です。実験室の専門家のみ使用可能である。緊急の場合は、SDSシートで安全に関する情報を確認してください。
- 本キットは、末梢血培養細胞や標準的な細胞遺伝学的手法で調製した直接標本からのメタフェースおよびインターフェース細胞に対するDNA FISHの前後にのみ使用することを意図している。
- 非自動 FISH 前治療およびハイブリダイゼーションにのみ使用する。
- 本製品を使用した後は、各施設の廃棄物処理に関するガイドラインに従って廃液処理してください。
- このFISH消化キットKBI-60006 は、古いサンプル、細胞質バックグラウンドのあるスライド、困難なサンプルを使用または予想される場合に、最適な結果を得るために推進される。
- パラフィン包埋組織の場合は、前処理キット KBI-60004 または KBI-60007 を使用することを推奨する。

規則(EC) No 1272/2008に基づくラベリング

| コード番号   | 内容                                         | 注意喚起語 | Pictogram                                                                           | 危険有害性情報                |
|---------|--------------------------------------------|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| LK-095B | DAPI/Antifade 0.1 $\mu$ g/ml<br>(DAPI対比染色) | 警告    |  | H315、<br>H319、<br>H335 |
| LK-097B | Antifade<br>(対比染色希釈液)                      | 警告    |  | H315、<br>H319、<br>H335 |

|                |                                      |    |    |    |
|----------------|--------------------------------------|----|----|----|
| <b>LK-102B</b> | 0.4 x SSC / 0.3% Igepal<br>(洗浄緩衝液 I) | なし | なし | なし |
| <b>LK-103B</b> | 2 x SSC / 0.1% Igepal<br>(洗浄緩衝液 II)  | なし | なし | なし |
| <b>LK-105B</b> | 2 x SSC/0.5% Igepal                  | なし | なし | なし |

#### 危険有害性情報

H315 - 皮膚刺激性。

H319 - 眼に対する重篤な損傷性 / 眼刺激性。

H335 - 呼吸器に刺激を生じるおそれがあります

#### 注意書き（予防措置注意喚起文） 予防

P271 - 屋外または換気の良い場所でのみ使用すること。

P261 - 霧、蒸気、スプレーを吸い込まないようにすること。

P264 - 取り扱い後は、身体の露出部をよく洗うこと。

P280 - 保護手袋 / 保護衣 / 保護眼鏡 / 保護面を着用すること。

#### 注意書き（予防措置注意喚起文） 対処

P305+P351+P338 - 眼に入った場合。水で数分間注意深く水洗すること。コンタクトレンズを着用していて容易に外せる場合は、外すこと。その後も洗浄を続けること。

P312 - 気分が悪い時は、毒物センター/医師/救急隊員/に連絡すること。

P337+P313 - 眼の痛みが続く場合：医療機関で診察および治療を受けること。

P302+P352 - 皮膚に付着した場合：十分な石鹸と流水で洗浄すること。

P304+P340 - 吸入した場合：空気の新鮮な場所に移し、呼吸しやすい姿勢で休息させること。

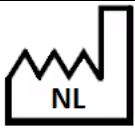
P332+P313 - 皮膚刺激が生じた場合：医療機関で診察および治療を受けること。

P362+P364 - 汚染された衣類を脱ぎ、再使用する場合には洗濯すること。

危険有害性情報の要約: なし

実験室の専門家ユーザーに制限される

#### 記号の説明

|                                                                                     |                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
|  | 有害物質を含む                   |
|  | 製造国                       |
|  | パッケージが破損している場合は使用しないでください |
|  | 電子版使用説明書（elfU）に相談する       |

## 8 試薬の保管と取り扱い

DAPI/Antifade は、強い光や直射日光から保護してください。2〜8℃で保存してください。未開封の製品は、バイアルラベルに記載されている有効期限まで、この条件下で安定である。

原液の試薬は、使用後すぐに2〜8℃に戻してください。

開封後の製品は、最長18ヶ月間安定であるが、有効期限を超えることはない。この期間を過ぎると、最適な結果を得られない可能性がある。

## 9 Technical Support (テクニカルサポート)

テクニカルサポートは [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) または電子メールで受け付けている。

[Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com) 本製品をご使用の際、期待する結果が得られない場合や、何らかの異常が発生した場合には、当社までご連絡ください。

印刷された紙媒体のIfUは、電子メールでお問い合わせください。 [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com) までご連絡ください。



elfUは、次のサイトからダウンロードできる追加言語で利用可能である：

[www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 お客様窓口

Kreatechプロープのご注文は、ライカカスタマーサービス +31 20 6919181 またはEメールにて承ります。

[purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com)

## 11 履歴

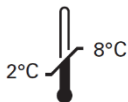
| 使用説明<br>書バージョン | 発行日         | 変更点                                    |
|----------------|-------------|----------------------------------------|
| 2.4            | 2016-SEP-27 | 「The Pathology Company」のキャッチフレーズを削除する。 |
| 3.0            | 2022-4月     | IVD規制に沿ったアップデート                        |

LT

## „FISH Reagent Kit“

**REF** KBI-60005

Kiekio pakanka 25 arba 5x5 tyrimams



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
The Netherlands (Nyderlandai)  
www.LeicaBiosystems.com



### 1 Paskirtis

Fluorescencinė in situ hibridizacija (FISH) nustato arba pažymi genomines sekas, kad galima būtų tirti jų vietą. DNR sekos iš atitinkamų specifinių chromosomų zondų pirmiausia pažymimos reporterinėmis molekulėmis. Tuomet pažymėtas DNR zondas hibridizuojamas su metafazės chromosomomis arba interfazės branduoliais, esančiais ant objekcinio stiklelio. Nuplovus fluorescencinės mikroskopijos būdu tikrinama, ar mėginyje yra reporterinių molekulių.

Skirta naudoti su metafazės ir interfazės ląstelėmis iš periferinių kraujo pasėlių arba standartiniais citogenetiniais metodais paruoštais mėginiais.

Šis parengiamojo apdorojimo rinkinys skirtas gauti optimalius ŠVIEŽIAI paruoštų citologinių ėminių rezultatus.

Šis produktas skirtas in vitro diagnostikai.

### 2 Produkto aprašymas

Šis parengiamojo apdorojimo rinkinys yra skirtas neautomatinėms FISH hibridizacijoms ir specialiai sukurtas naudoti metafazės ir interfazės ląstelių iš periferinių kraujo pasėlių arba standartiniais citogenetiniais metodais paruoštų mėginių parengiamajam apdorojimui bei fermentų skaidymui prieš atliekant DNR FISH hibridizacijos procedūrą. Šis rinkinys skirtas gauti optimalius ŠVIEŽIAI paruoštų citologinių ėminių rezultatus. Šis rinkinys padeda keisti skersinius ryšius ląstelėse, permeabilizuoti ląstelių membraną ir skaidyti ląstelių baltymus, kad sušvelnintų FISH zondų susiejimą su specifinės ląstelės DNR.

### 3 Naudojimo instrukcija

#### 3.1 Mėginiai

Skirta naudoti su metafazės ir interfazės ląstelėmis iš periferinių kraujo pasėlių arba standartiniais citogenetiniais metodais paruoštais mėginiais.

Šis parengiamojo apdorojimo rinkinys skirtas gauti optimalius ŠVIEŽIAI paruoštų citologinių ėminių rezultatus.

Priešanalitiniai mėginių etapai: norint gauti sėkmingą FISH, labai svarbūs priešanalitiniai etapai. Mėginys turi būti tinkamai fiksuotas, sendintas ir pakartotinai apdorotas pagal gerai parengtą protokolą. Per didelė arba per maža fiksacija ar prastas mėginio parengiamasis apdorojimas gali lemti nesėkmingą FISH procedūrą arba mažą atkuriamumą / signalo intensyvumą. „Kreatech“ FISH zondai buvo išbandyti su metafazės / interfazės branduoliais, gautais iš periferinio kraujo pasėlio ir (arba) kaulų čiulpų. Objektiniai stikleliai turi būti laikomi pagal rekomenduojamas laikymo ir tvarkymo sąlygas, kad būtų gauti optimalūs rezultatai. Žr. „Leica“ svetainę.

#### 3.2 Parengiamasis apdorojimas

Žemiau pateiktas protokolą yra skirtas 5 objekciniams stikleliams, sudedamiems vertikaliai į 50 ml stiklainį.

1. Atlikite parengiamąjį šviežiai paruošto ėminio objekcinių stiklelių apdorojimą 50 ml 2 x SSC / 0,5 % Igepal (LK-105B) 37 °C temperatūroje 15 minučių (min.).
2. Kiekvieną stiklį 1 minutę džiovinkite 70 %, 85 % ir 100 % etanolyje. Džiovinkite ore. Toliau **paruoškite zondą**.

#### 3.3 Zondo paruošimas

„Kreatech™“ FISH zondai tiekiami paruošti naudoti (RTU). SE, ST ir WC „Kreatech™“ FISH zondai teikiami 5 x koncentruoti ir turi būti atskiesti taip: 2 µl 5 x konc. zondo su 8 µl FISH hibridizacijos buferio (FHB arba WCB,

teikiamas su zondais). Norėdami atskiesti kelis 5 x konc. zondus, pripilkite 2 µl FISH hibridizacijos buferio (FHB arba WCB) kiekvienam pridėtam zondui.

### 3.4 Bendras denatūravimas

Užpilkite 10 µl zondo ant 22 x 22 mm srities. Uždenkite dengiamuoju stikleliu ir užsandarinkite „Fixogum“ arba gumos klijuais. Denatūruokite ėminį ir zondą su „ThermoBrite“ (TS-01/02) 75 ± 1 °C temperatūroje 5–10 min. Toliau atlikite **hibridizaciją**.

### 3.5 Hibridizacija

Inkubuokite per naktį 37 ± 1 °C temperatūroje „ThermoBrite“ (TS-01/02) sistemoje arba drėkinimo kameroje.

### 3.6 Plovimas po hibridizacijos

1. Pašildykite 50 ml buferinį plovimo tirpalą I (0,4 x SSC / 0,3 % Igepal) (LK-102) iki 72 °C temperatūros.
2. Pašalinkite gumos klijuos.
3. Sudėkite objektinius stiklelius į 50 ml buferinio plovimo tirpalo „Wash Buffer II“ (2 x SSC / 0,1 % „Igepal“) (LK-103), inkubuokite 2 min. KT. Nustumkite dengiamuosius stiklelius. 10 objektinių stiklelių buferinį plovimo tirpalą pakartotinai naudokite tik kartą.
4. Sudėkite objektinius stiklelius į 50 ml pašildyto buferinio plovimo tirpalo „Wash Buffer I“ (0,4 x SSC / 0,3 % „Igepal“) (LK-102), inkubuokite 2 min. 72 °C (+ 1 °C) temperatūroje nemaišydami. 10 objektinių stiklelių buferinį plovimo tirpalą pakartotinai naudokite tik kartą.
5. Sudėkite objektinius stiklelius į 50 ml šviežio buferinį plovimo tirpalą II (2 x SSC / 0,1 % „Igepal“) (LK-103), inkubuokite 1 min. KT nemaišydami. 10 objektinių stiklelių buferinį plovimo tirpalą pakartotinai naudokite tik kartą.
6. Išdžiovinkite šviežiame 70 %, 85 % ir 100 % etanolyje, kiekvieną stiklį inkubuokite 1 min. KT. Džiovinkite ore KT ir toliau atlikite **papildomą dažymą**.

### 3.7 Papildomas dažymas

Uždėkite 15 µl DAPI kontrastinių dažų (DAPI / „Antifade“ 0,1 µg/ml) (LK-095B) arba dažų, atskiestų kontrastinių dažų skiedikliu (LK097B), ir uždėkite dengiamąjį stiklį. Toliau atlikite mikroskopiją.

### 3.8 Procedūrinės rekomendacijos

Optimaliai paruošti ir parengiamuoju būdu apdoroti citologiniai objektiniai stikleliai yra būtina sąlyga norint gauti sėkmingą FISH rezultatą. Per mažas arba per didelis parengiamasis apdorojimas ne tik turi įtakos morfologijai, bet ir signalo stiprumui (be to, palengvina analizę).

Labai svarbi hibridizacijos ir plovimo temperatūra bei buferio koncentracija (tikslumas), kadangi mažesnis tikslumas gali lemti nespecifinį zondo susiejimą su kitomis sekomis, o didesnis tikslumas gali lemti signalo nebuvimą. Nebaigtas tiriamosios DNR denatūravimas gali lemti signalo trūkumą.

### 3.9 Rekomendacijos dėl fluorescencinės mikroskopijos

Optimaliai vizualizacijai naudokite gerai prižiūrimą ir reguliariai kalibruojamą mikroskopą su 100 W gyvsidabrio lempa arba kitu atitinkamu šviesos šaltiniu (pvz., metalo halogeno lempa (120 W „X-cite“) arba LED šviesos šaltiniu) ir 63x arba 100x fluorescencijos objektyvu. Trijų juostų filtrai (DAPI/FITC/Cy3 arba DAPI/FITC/TRITC) naudojami peržiūrėti kelias spalvas, o vienos juostos filtrai naudojami vienos spalvos vizualizavimui. Žiūrėkite „Leica“ svetainę, kurioje rasite rekomendacijų dėl kiekvienam mikroskopo prekės ženklui tinkančių filtrų: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

„Kreatech™“ fluoroforams tinkamas sužadinimo ir spinduliavimo diapazonas:

| Fluoroforas           | Sužadinimas | Spinduliavimas |
|-----------------------|-------------|----------------|
| DAPI                  | 360 ± 20 nm | 460 ± 30 nm    |
| „PlatinumBright™ 415“ | 429 ± 15 nm | 470 ± 15 nm    |
| „PlatinumBright™ 495“ | 495 ± 10 nm | 517 ± 10 nm    |
| „PlatinumBright™ 550“ | 550 ± 10 nm | 580 ± 10 nm    |

Nurodytas dažnių juostos plotis atitinka 80 % didžiausio fluoroforo sužadinimo / spinduliuotės.

#### 4 Analitinis veiksmingumas

„FISH Reagent Kit“ veiksmingumas nustatytas naudojant šiose naudojimo instrukcijose aprašytas procedūras. Šių procedūrų modifikavimas gali pakeisti tyrimo veiksmingumą. Bet kokius nukrypimus nuo nurodytų protokolų turi patvirtinti naudotojas. Rekomenduojamų bandymo procedūrų nesilaikantys naudotojai privalo prisiimti atsakomybę už paciento rezultatų aiškinimą tokiomis aplinkybėmis. Protokolo trukmė gali skirtis priklausomai nuo fiksacijos ir apdorojimo.

#### 5 Reikalingos ir su produktu pateikiamos medžiagos

| Kodas Nr. | Aprašymas                                                 | Tūris      |
|-----------|-----------------------------------------------------------|------------|
| LK-095B   | DAPI / „Antifade“ 0,1 µg/ml („DAPI Counterstain“)         | 0,5 ml     |
| LK-097B   | „Antifade“ (kontrastinių dažų skiediklis)                 | 0,5 ml     |
| LK-102B*  | 0,4 x SSC / 0,3 % „Igepal“ (Buferinis plovimo tirpalas I) | 250 ml     |
| LK-103B*  | 2 x SSC / 0,1% „Igepal“ (Buferinis plovimo tirpalas II)   | 2 x 250 ml |
| LK-105B   | 2 x SSC / 0,5 % Igepal                                    | 250 ml     |

\* Įsidėmėkite, kad LK-102 ir LK-103 produktai su tokiu pačiu numeriu, tačiau skirtingomis raidėmis yra vienodi, išskyrus tūrį. A= 100 ml, B=250 ml

#### 6 Reikalingos ir su produktu nepateikiamos medžiagos

- Etanolis 100 %, 85 % ir 70 %
- „Fixogum“ (LK-071A) arba gumos klijai
- Viryklė su tikslu temperatūros valdymu iki 75 °C arba „ThermoBrite™“ (TS01/TS02)
- Inkubatorius su tikslu temperatūros diapazonu – 37 °C;
- Vandens vonelė su tikslu temperatūros diapazonu 37–75 °C;
- Plastikiniai ir stikliniai stiklainiai
- Įvairios mikropipetės (1–200 µl)
- Fluorescenciniai mikroskopai su tinkamais filtrais (žr. rekomendacijas fluorescencinei mikroskopijai)

#### 7 Įspėjimai ir atsargumo priemonės

- Apie bet koki rimtą incidentą, susijusį su įrenginiu, reikia pranešti gamintojui ir kompetetingai valstybės narės, kurioje įsikūręs naudotojas ir (arba) pacientas, institucijai.
- Tik in vitro diagnostikai. Tik profesionaliems naudotojams laboratorijose. Ištikus nelaimei, saugos informacijos ieškokite SDL.
- Rinkinys skirtas naudoti tik prieš ir po DNR FISH su metafazės ir interfazės ląstelėmis iš periferinių kraujo pasėlių arba standartiniais citogenetinėmis metodais paruoštais mėginiais.
- Tik neautomatiniam FISH parengiamajam apdorojimui ir hibridizacijai.
- Visas medžiagas reikia šalinti laikantis jūsų institucijos nurodymų dėl ligoninės atliekų šalinimo.
- Rekomenduojama KBI-60006 „FISH Digestion“ rinkinį naudoti tuomet, kai naudojami arba ketinama naudoti senesnius ėminius, objektinius stiklėlius su citoplazminiu pagrindu arba sudėtingus ėminius.
- Parafinuotiems audiniams rekomenduojama naudoti parengiamojo apdorojimo rinkinius KBI-60004 arba KBI-60007.

Ženklimas pagal reglamentą (EB) Nr. 1272/2008

| Kodas Nr. | Aprašymas                                                 | Signalinis žodis | Piktograma                                                                           | Pavojingumo frazės |
|-----------|-----------------------------------------------------------|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| LK-095B   | DAPI / „Antifade“ 0,1 µg/ml („DAPI Counterstain“)         | Įspėjimas        |  | H315, H319, H335   |
| LK-097B   | „Antifade“ (kontrastinių dažų skiediklis)                 | Įspėjimas        |  | H315, H319, H335   |
| LK-102B   | 0,4 x SSC / 0,3 % „Igepal“ (Buferinis plovimo tirpalas I) | Nėra             | Nėra                                                                                 | Nėra               |

|                |                                                            |      |      |      |
|----------------|------------------------------------------------------------|------|------|------|
| <b>LK-103B</b> | 2 x SSC / 0,1% „Igepal“<br>(Buferinis plovimo tirpalas II) | Nėra | Nėra | Nėra |
| <b>LK-105B</b> | 2 x SSC / 0,5 % Igepal                                     | Nėra | Nėra | Nėra |

Pavojingumo frazė (-ės)

H315 Dirgina odą.

H319 Sukelia smarkų akių dirginimą.

H335 Gali dirginti kvėpavimo takus.

Atsargumo frazė (-ės), prevencija

P271 Naudoti tik lauke arba gerai vėdinamoje patalpoje.

P261 Stengtis neįkvėpti rūko / garų / aerozolio.

P264 Po naudojimo kruopščiai nuplauti visas paveiktas išorines kūno dalis.

P280 Mūvėti apsaugines pirštines, dėvėti apsauginius drabužius, naudoti akių (veido) apsaugos priemonės.

Atsargumo frazė (-ės), reakcija

P305+P351+P338 PATEKUS Į AKIS: atsargiai plauti vandeniu kelias minutes. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis.

P312 Pasijutęs blogai, skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ arba kreiptis į gydytoją.

P337+P313 Jei akių dirginimas nepraeina: kreiptis į gydytoją.

P302+P352 PATEKUS ANT ODOS: plauti dideliu vandens kiekiu ir muilu.

P304+P340 ĮKVĖPUS: Išveskite žmogų į gryną orą ir užtikrinkite, kad jam būtų patogų kvėpuoti.

P332+P313 Jei sudirginama oda: kreiptis į gydytoją.

P362+P364 Nusivilkti užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl juos apsivelkant.

Papildomos pavojingumo frazės: nėra.

Skirta tik profesionaliems naudotojams laboratorijoje.

Simbolių paaiškinimas

|                                                                                     |                                                |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
|  | Sudėtyje yra pavojingų medžiagų                |
|  | Gamintojo šalis                                |
|  | Nenaudoti, jei pakuotė pažeista                |
|  | Žr. elektronines naudojimo instrukcijas (eIFU) |

## 8 Reagento laikymas ir naudojimas

Saugokite DAPI / „Antifade“ nuo stiprios ir tiesioginės šviesos. Laikykite 2–8 °C temperatūroje. Tokiomis sąlygomis neatidarytas produktas yra stabilus iki tinkamumo termino, nurodyto ant buteliuko etiketės.

Iškart po naudojimo grąžinkite neatskiestą reagentą į 2–8 °C temperatūrą.

Atidaryti produktai yra stabilūs iki 18 mėnesių, tačiau ne ilgiau nei iki tinkamumo termino pabaigos. Pasibaigus šiam laikotarpiui tirpalai gali lemti suboptimalius rezultatus.

## 9 Techninė pagalba

Techninė pagalba pasiekama svetainėje [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) arba el. paštu: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Susisiekite su mumis, jei naudodami produktą negavote pageidautinų rezultatų arba kilo anomalijų.

Popierinę naudojimo instrukcijos (IFU) kopiją galima gauti el. paštu susisiekus su: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



Naudojimo instrukciją (eIFU) papildomomis kalbomis galima atsisiųsti iš: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Klientų aptarnavimas

„Kreatech“ zondus galima užsisakyti susisiekus su „Leica“ klientų aptarnavimo tarnyba telefono numeriu +31 20 6919181 arba el. paštu: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

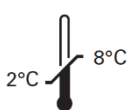
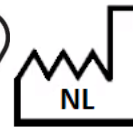
## 11 Istorija

| Naudojimo instrukcijos (IFU) versija | Išleidimo data | Pakeitimai                         |
|--------------------------------------|----------------|------------------------------------|
| 2,4                                  | 2016-SEP-27    | Pašalinti šūkį „Patologijų įmonė“. |
| 3.0                                  | 2022 Balandis  | Atnaujinti pagal IVD reglamentus   |

## FISH reaģentu komplekts

**REF** KBI-60005

Ar pietiekamu tilpumu līdz 25 vai 5x 5 testiem


 Kreatech Biotechnology B.V.  
 Vlierweg 20  
 1032 LG Amsterdam  
 Nederlande  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)


### 1 Paredzētais lietojums/mērķis

Luminiscentā in situ hibridizācija (FISH) identificē vai apzīmē mērķa genoma sekvences, lai varētu izpētīt to atrašanās vietu. DNS sekvences no attiecīgām hromosomu specifiskām zondēm vispirms iezīmē ar ziņotājmolekulām. Pēc tam iezīmēto DNS zondi uz stikliņa hibridizē ar metafāzes hromosomām vai interfāzes kodoliem. Pēc mazgāšanas paraugu luminiscences mikroskopā pārbauda, vai tajā nav ziņotājmolekulu.

Izmantošanai perifēro asiņu kultūru metafāžu un starpfāžu šūnās vai tiešos preparātos, kas sagatavoti ar standarta citoģenētiskām metodēm.

Šis iepriekšējās apstrādes komplekts ir īpaši izstrādāts, lai iegūtu optimālus rezultātus SVAIGI sagatavotiem citoloģiskajiem paraugiem.

Šis produkts ir paredzēts in vitro diagnostiskajai lietošanai.

### 2 Produkta apraksts

Šis iepriekšējās apstrādes komplekts ir paredzēts neautomātiskai FISH hibridizācijai, kas īpaši izstrādāta, lai pirms DNS FISH hibridizācijas procedūras izmantotu perifēro asiņu kultūru metafāzes un interfāzes šūnu pirmapstrādei un fermentatīvajai hidrolīzei vai tiešiem preparātiem, kas sagatavoti ar standarta citoģenētiskām metodēm. Šis komplekts ir īpaši izstrādāts, lai iegūtu optimālus rezultātus SVAIGI sagatavotiem citoloģiskajiem paraugiem. Komplekta izmantošana apvērsīs šūnu krusteniskās saites, permeabilizēs šūnu membrānu un sagremos šūnu proteīnus, lai atvieglotu FISH zondes saistīšanos ar specifisko šūnu DNS.

### 3 Lietošanas norādījumi

#### 3.1 Paraugi

Izmantošanai perifēro asiņu kultūru metafāžu un starpfāžu šūnās vai tiešos preparātos, kas sagatavoti ar standarta citoģenētiskām metodēm.

Šis iepriekšējās apstrādes komplekts ir īpaši izstrādāts, lai iegūtu optimālus rezultātus SVAIGI sagatavotiem citoloģiskajiem paraugiem.

Praugi pirms analīzes: lai iegūtu veiksmīgu FISH, liela nozīme ir pirmsanalīzei. Paraugam jābūt pareizi fiksētam, izturētam un iepriekš apstrādātam saskaņā ar vispāratzītu protokolu. Pārmērīga fiksācija, zema parauga fiksācija vai slikta iepriekšēja apstrāde var izraisīt FISH procedūras neveiksmi vai vismaz zemu reproducējamību/signāla intensitāti. Kreatech FISH zondes ir pārbaudītas uz metafāzes/starpfāzes kodoliem, kas iegūti no kultivētām perifērajām asinīm un/vai kaulu smadzenēm. Lai iegūtu optimālus rezultātus, stikliņi jāuzglabā saskaņā ar ieteiktajiem glabāšanas un lietošanas nosacījumiem; skatīt Leica tīmekļa vietni.

#### 3.2 Iepriekšēja apstrāde

Zemāk esošais protokols ir paredzēts 5 stikliņu lietošanai 50 ml vertikālā traukā ar koplīnu.

1. Svaigi sagatavotus paraugu stikliņus 15 minūtes (min) iepriekš apstrādā 50 ml 2 x SSC / 0,5% Igepal (LK-105B) 37 °C temperatūrā.
2. Atūdeņojiet katru 70 %, 85 % un 100 % etanolā 1 minūti. Nožāvējiet. Turpiniet ar **zondes sagatavošanu**.

#### 3.3 Zondes sagatavošana:

Kreatech™ FISH zondes tiek piegādātas gatavas lietošanai (Ready to Use – RtU). SE, ST un WC Kreatech™ FISH zondes tiek piegādātas 5 x koncentrētā veidā, un tās ir jāatšķaida šādi: 2 µl 5 x konc. zonde 8 µl FISH hibridizācijas buferī (FHB vai WCB, komplektā ar zondēm). Lai apvienotu vairākas 5 x koncentrācijas zondes, katrai pievienotajai zondei nomainiet FISH hibridizācijas buferi (FHB vai WCB) ar 2 µl.

### 3.4 Līdzdenaturācija

Uzklājiet 10 µl zondes uz 22 x 22 mm lauka. Pārklājiet ar stikla pārsegu un ar Fixogum vai gumijas cementu. Denaturējiet paraugu un zondi uz ThermoBrite (TS-01/02) 75 ± 1 °C temperatūrā 5–10 minūtes. Turpiniet ar hibridizāciju.

### 3.5 Hibridizācija

Inkubējiet pa nakti 37 ± 1 °C temperatūrā ThermoBrite (TS-01/02) vai mitrā kamerā.

### 3.6 Pēchibridizācijas mazgāšana

1. Iepriekš uzsildiet 50 ml Wash Buffer I (0,4 x SSC / 0,3% Igepal) (LK-102) līdz 72 °C
2. Noņemiet gumijas cementu.
3. Ievietojiet stikliņus 50 ml Wash Buffer II (2 x SSC / 0,1% Igepal) (LK-103), inkubējiet 2 minūtes telpas temperatūrā. Noslidiniet vāka skavas. Atkārtoti izmantojiet mazgāšanas buferšķīdumu tikai vienu reizi kopā 10 stikliņiem.
4. Ievietojiet stikliņus 50 ml iepriekš uzsildīta Wash Buffer I (0,4 x SSC / 0,3% Igepal) (LK-102), 2 minūtes inkubējiet 72 °C (+/- 1 °C) temperatūrā bez kratīšanas. Atkārtoti izmantojiet mazgāšanas buferšķīdumu tikai vienu reizi kopā 10 stikliņiem.
5. Ievietojiet stikliņus 50 ml svaiga Wash Buffer II (2 x SSC / 0,1% Igepal) (LK-103), inkubējiet 1 min istabas temperatūrā bez kratīšanas. Atkārtoti izmantojiet mazgāšanas buferšķīdumu tikai vienu reizi kopā 10 stikliņiem.
6. Dehidrējiet svaigā 70 %, 85 % un 100 % etanolā, inkubējiet 1 minūti istabas temperatūrā. Žāvējiet telpas temperatūrā un turpiniet ar procedūru **Pretkrāsošana**.

### 3.7 Pretkrāsošana

Uzklājiet 15 µl DAPI pretkrāsas (DAPI/Antifade 0,1 µg/ml) (LK-095B) vai atšķaidiet ar šo šķīdumu, izmantojot pretkrāsas šķīdinātāju (LK097B), un uzlieciet stikla vāciņu. Turpiniet ar mikroskopiju.

### 3.8 Procedūras ieteikumi

Optimāli sagatavoti un iepriekš apstrādāti citoloģiskie stikliņi ir pamata stikliņi, lai iegūtu veiksmīgu FISH rezultātu. Pārmērīga vai nepietiekama iepriekšēja apstrāde ietekmē ne tikai morfoloģiju, bet arī signāla stiprumu (un līdz ar to analīzes vieglumu).

Hibridizācijas un mazgāšanas temperatūra un bufera koncentrācija (stingrība) ir svarīga, jo zemāka stingrība var izraisīt nespecifisku zondes saistīšanos ar citām sekvencēm, bet augstāka stingrība var izraisīt signāla trūkumu. Nepilnīga mērķa DNS denaturācija var izraisīt signāla trūkumu.

### 3.9 Ieteikumi luminiscences mikroskopijai

Optimālai vizualizācijai izmantojiet labi uzturētu un regulāri kalibrētu mikroskopu, kas aprīkots ar 100 W dzīvsudraba lampu vai citu piemērotu gaismas avotu (piemēram, metāla halogēna spuldzi (120 W X-cite) vai LED gaismas avotiem) un 63x vai 100x luminiscences mērķi. Trīs joslu filtri (DAPI/FITC/Cy3 vai DAPI/FITC/Tritc) tiek izmantoti vairāku krāsu skatīšanai, vienas joslas filtri tiek izmantoti atsevišķu krāsu vizualizācijai. Ieteikumus par katram mikroskopa zīmolam piemērotiem filtriem skatiet Leica tīmekļa vietnē: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Piemērots ierosmes un emisijas diapazons Kreatech™ fluoroforiem:

| Fluorofors          | Ierosme     | Emisija     |
|---------------------|-------------|-------------|
| DAPI                | 360 ± 20 nm | 460 ± 30 nm |
| PlatinumBright™ 415 | 429 ± 15 nm | 470 ± 15 nm |
| PlatinumBright™ 495 | 495 ± 10 nm | 517 ± 10 nm |
| PlatinumBright™ 550 | 550 ± 10 nm | 580 ± 10 nm |

Parādītais joslas platums atbilst 80 % no maksimālās fluorofora ierosmes/emisijas)

## 4 Analītiskā veikspēja

FISH reaģentu komplekta veikspēja ir noteikta, izmantojot šajā lietošanas instrukcijā aprakstītās procedūras. Šo procedūru modifikācijas var mainīt analīzes veikspēju. Jebkuras novirzes no norādītajiem protokoliem lietotājam

ir jāapstiprina. Lietotāji, kuri pilnībā neievēro ieteiktās pārbaudes procedūras, šādos gadījumos uzņemas atbildību par pacienta rezultātu skaidrojumu. Protokola laiks var atšķirties atkarībā no fiksācijas un apstrādes metodes.

## 5 Produktam nepieciešamie un komplektā iekļautie materiāli

| Kods nr. | Apraksts                                    | Daudzums   |
|----------|---------------------------------------------|------------|
| LK-095B  | DAPI/antifade 0,1 µg/ml (DAPI Counterstain) | 0,5 ml     |
| LK-097B  | Antifade (Counterstain šķīdinātājs)         | 0,5 ml     |
| LK-102B* | 0,4 x SSC / 0,3% Igepal (Wash Buffer I)     | 250 ml     |
| LK-103B* | 2 x SSC / 0,1% Igepal (Wash Buffer II)      | 2 x 250 ml |
| LK-105B  | 2 x SSC / 0,5% Igepal                       | 250 ml     |

\*Lūdzu, ņemiet vērā, ka LK-102 un LK-103 produkti, kas satur vienu un to pašu skaitli, bet dažādus burtus, ir identiski, izņemot daudzumu. A= 100 ml, B=250 ml

## 6 Produktam nepieciešamie un komplektā neiekļautie materiāli

- Etanols 100 %, 85 % un 70 %
- Fixogum (LK-071A) vai gumijas cements
- Karstā plate ar precīzu temperatūras kontroli līdz 75 °C vai ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Inkubators ar precīzu temperatūras diapazonu 37 °C
- Ūdens vanna ar precīzu temperatūras diapazonu 37–75 °C
- Plastmasas un stikla burkas ar koplīnu
- Maināmas mikropipetes (1 µl–200 µl)
- Luminiscences mikroskops, kas aprīkots ar piemērotiem filtriem (skatīt ieteikumus luminiscences mikroskopijai).

## 7 Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

- Par visiem nopietniem starpgadījumiem, kas notikuši saistībā ar ierīci, ziņojiet ražotājam un tās dalībvalsts kompetentajai iestādei, kurā lietotājs un/vai pacients veic uzņēmējdarbību.
- Lietošanai in vitro diagnostikā. Tikai profesionālai lietošanai laboratorijā. Ārkārtas situācijās drošības informāciju skatiet drošības datu lapās.
- Komplekts ir paredzēts lietošanai tikai pirms un pēc DNS FISH uz metafāzes un starpfāzes šūnām no perifēro asiņu kultūrām vai tiešiem preparātiem, kas sagatavoti ar standarta citoģenētiskām metodēm.
- Tikai neautomātiskai FISH iepriekšējai apstrādei un hibridizācijai.
- Visi materiāli jāiznīcina saskaņā ar jūsu iestādes norādījumiem par slimnīcas atkritumu likvidēšanu.
- Ieteicams izmantot KBI-60006 FISH hidrolīzes komplektu, ja tiek izmantoti vai gaidīti vecāki paraugi, stikliņi ar citoplazmas fonu vai grūti apstrādājami paraugi.
- Parafinā ieguldītajiem audiem ieteicams izmantot iepriekšējas apstrādes komplektus KBI-60004 vai KBI-60007.

Marķējums saskaņā ar Regulu (EK) Nr. 1272/2008

| Kods nr. | Apraksts                                    | Signālvārds | Piktogramma                                                                         | Bīstamības apzīmējumi |
|----------|---------------------------------------------|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| LK-095B  | DAPI/antifade 0,1 µg/ml (DAPI Counterstain) | Brīdinājums |  | H315, H319, H335      |
| LK-097B  | Antifade (Counterstain šķīdinātājs)         | Brīdinājums |  | H315, H319, H335      |
| LK-102B  | 0,4 x SSC / 0,3% Igepal (Wash Buffer I)     | N.P.        | N.P.                                                                                | N.P.                  |
| LK-103B  | 2 x SSC / 0,1% Igepal (Wash Buffer II)      | N.P.        | N.P.                                                                                | N.P.                  |

|         |                       |      |      |      |
|---------|-----------------------|------|------|------|
| LK-105B | 2 x SSC / 0,5% Igepal | N.P. | N.P. | N.P. |
|---------|-----------------------|------|------|------|

#### Bīstamības apzīmējumi

H315 – Kairina ādu.

H319 – Izraisa nopietnu acu kairinājumu.

H335 – Var izraisīt elpceļu kairinājumu.

#### Drošības prasību apzīmējums(-i), profilakse

P271 – Izmantot tikai ārā vai labi vēdināmās telpās.

P261 – Izvairīties ieelpot putekļus/tvaikus/gāzi/dūmus/izgarojumus/smidzinājumu.

P264 – Pēc izmantošanas visas atklātās ārējās ķermeņa zonas kārtīgi nomazgāt.

P280 – Izmantot aizsargcimdus/ aizsargdrēbes/ acu aizsargus/ sejas aizsargus.

#### Drošības prasību apzīmējums(-i), reakcija

P305+P351+P338 – SASKARĒ AR ACĪM: Uzmanīgi skalot ar ūdeni vairākas minūtes. Izņemiet kontaktlēcas, ja tās ir ievietotas un to ir viegli izdarīt. Turpiniet skalot.

P312 – Sazinieties ar SAINDĒŠANĀS INFORMĀCIJAS CENTRU/ārstu/pirmās palīdzības sniedzēju, ja jums ir slikta pašsajūta.

P337+P313 – Ja acu iekaisums nepāriet: Lūdziet palīdzību mediķiem.

P302+P352 – SASKARĒ AR ĀDU: Nomazgāt ar lielu ūdens un ziepju daudzumu.

P304+P340 – IEELPOJOT: Nogādāt cietušo svaigā gaisā un nodrošināt netraucētu elpošanu.

P332+P313 – Ja rodas ādas iekaisums: Lūdziet palīdzību mediķiem.

P362+P364 – Novilkt piesārņoto apģērbu un pirms atkārtotas lietošanas izmazgāt.

Papildu bīstamības apzīmējumi: nav

Paredzēts tikai laboratoriju profesionāliem lietotājiem

#### Simbolu skaidrojums

|                                                                                     |                                   |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
|  | Satur bīstamas vielas             |
|  | Ražotājvalsts                     |
|  | Nelietot, ja iepakojums ir bojāts |
|  | Skatīt elektronisko LI (eIfU)     |

## 8 Reaģentu glabāšana un lietošana

Aizsargājiet DAPI/Antifade no spēcīgas un tiešas gaismas. Uzglabājiet 2–8 °C temperatūrā. Produkts ir stabils šajos apstākļos līdz derīguma termiņa beigu datumam, kas ir norādīts uz flakona uzlīmes.

Pēc izmantošanas neatšķaidīto reaģentu nekavējoties novietojiet atpakaļ 2–8 °C temperatūrā.

Pēc atvēršanas produkti ir stabili līdz 18 mēnešiem, bet ne ilgāk par derīguma termiņa beigu datumu. Pēc šī laika posma šķīdumu lietošana var dot neoptimālus rezultātus.

## 9 Tehniskais atbalsts

Tehniskais atbalsts ir pieejams vietnē [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) vai pa e-pastu: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Lūdzu, sazinieties ar mums, ja, izmantojot šo produktu, netiek iegūti vēlamie rezultāti vai parādās kādas novirzes no normas.

Drukātu LI eksemplāru var pieprasīt pa e-pastu: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



elFU ir pieejama papildu valodās, kuras var lejupielādēt no: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Klientu apkalpošana

Kreatech zondes var pasūtīt, izmantojot Leica klientu apkalpošanas dienestu +31 20 6919181 vai pasūtot pa e-pastu: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

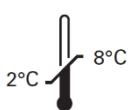
## 11 Vēsture

| LI versija | Izdošanas datums | Izmaiņas                                                             |
|------------|------------------|----------------------------------------------------------------------|
| 2,4        | 2016-SEP-27      | Noņemiet atzīmes joslu "The pathology Company" (Uzņēmuma patoloģija) |
| 3,0        | 2022.<br>Aprīlis | Atjaunināt atbilstoši IVD noteikumiem                                |

## FISH Reagent Kit

**REF** KBI-60005

Bevat voldoende volume voor maximaal 25 of 5 x 5 tests



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
Nederland  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 Beoogd gebruik of doel

In situ fluorescentiehybridisatie (FISH) dient voor het identificeren of labelen van een doelgensequentie, zodat de locatie hiervan kan worden onderzocht. Dna-sequenties van de te gebruiken chromosoomspecifieke probes worden eerst met reportermoleculen gelabeld. De gelabelde dna-probe wordt vervolgens aan de chromosomen in de metafase of kernen in de interfase op een dekglasje gehybridiseerd. Na het wassend wordt het monster met behulp van fluorescentiemicroscopie gescreend op de reportermoleculen.

Voor gebruik op cellen in de metafase en interfase uit perifere-bloedcelculturen of directe preparaten die op basis van standaard cytogenetische methoden tot stand zijn gekomen.

Deze voorbehandelingsset is speciaal bedoeld voor het verkrijgen van optimale resultaten op VERS geprepareerde cytologische monsters.

Dit product is bedoeld voor gebruik bij diagnose in vitro.

### 2 Productbeschrijving

Deze voorbehandelingsset dient voor niet-geautomatiseerde FISH-hybridisatie, speciaal bedoeld voor gebruik voor de voorbehandeling en enzymvertering van cellen in de metafase en interfase uit perifere-bloedcelculturen of directe preparaten die op basis van standaard cytogenetische methoden tot stand zijn gekomen voor de dna-FISH-hybridisatieprocedure. Deze set is speciaal bedoeld voor het verkrijgen van optimale resultaten op VERS geprepareerde cytologische monsters. Het gebruik van de set zorgt ervoor dat de kruisverbanden in de cellen worden omgekeerd, het celmembraan permeabel wordt gemaakt en celeiwitten worden verteerd, zodat de binding van de FISH-probes met het specifieke cel-dna wordt vergemakkelijkt.

### 3 Gebruiksaanwijzing

#### 3.1 Monsters

Voor gebruik op cellen in de metafase en interfase uit perifere-bloedcelculturen of directe preparaten die op basis van standaard cytogenetische methoden tot stand zijn gekomen.

Deze voorbehandelingsset is speciaal bedoeld voor het verkrijgen van optimale resultaten op VERS geprepareerde cytologische monsters.

Pre-analyse van de monsters: Voor het verkrijgen van een succesvolle FISH speelt pre-analyse een belangrijke rol. Het monster moet op de juiste manier worden gefixeerd, gerijpt en voorbehandeld, volgens een gangbaar protocol. Een te sterke fixering, een te zwakke fixering of een slechte voorbehandeling van het monster kan ervoor zorgen dat de FISH-procedure mislukt, of minstens zorgen voor een lage reproduceerbaarheid of lage intensiteit van het signaal. FISH-probes van Kreatech zijn getest op celkernen in de metafase of interfase, afgeleid uit gekweekte perifere-bloedcellen en/of gekweekte beenmergcellen. Objectglasjes moeten worden opgeslagen volgens de aanbevolen opslag- en hanteringsomstandigheden voor optimale resultaten. Raadpleeg de website van Leica.

#### 3.2 Voorbehandeling

Het onderstaande protocol dient voor het gebruik van 5 objectglasjes in een rechtopstaand Coplin-kleurpotje van 50 ml.

1. U kunt vers bereide monsters op objectglasjes voorbehandelen in 50 ml 2 x SSC / 0,5% Igepal (LK-105B), bij een temperatuur van 37 °C gedurende 15 minuten (minimaal).
2. Ze kunnen worden gehydrateerd door ze elk gedurende 1 minuut in 70%, 85% en 100% ethanol te laten staan. Aan de lucht laten drogen. Ga verder naar **Klaarmaken van de probe**.

### 3.3 Klaarmaken van de probe:

FISH-probes van Kreatech™ worden gebruiksklaar geleverd. SE, ST en WC FISH-probes van Kreatech™ worden 5 x geconcentreerd geleverd, en moeten als volgt worden verdund: 2 µl 5 x conc. Probe in 8 µl FISH Hybridization Buffer (FHB of WCB, geleverd met de probes). Voor het combineren van verschillende 5 x conc. probes, kunt u FISH Hybridization Buffer (FHB of WCB) vervangen door 2 µl voor elke probe die wordt toegevoegd.

### 3.4 Co-denaturatie

Breng 10 µl van de probe aan per veld van 22 x 22 mm. Bedek met dekglasjes en dicht af met Fixogum of rubbercement. Denatureer het monster en de probe op een ThermoBrite (TS-01/02) bij een temperatuur van 75 ±1 °C gedurende 5-10 min. Ga verder naar **Hybridisatie**.

### 3.5 Hybridisatie:

Gedurende de nacht incuberen bij een temperatuur van 37 ±1 °C in een ThermoBrite (TS-01/02) of in een vochtige kamer.

### 3.6 Wassen na de hybridisatie:

1. U kunt 50 ml Wash Buffer I (0,4 x SSC / 0,3% Igepal) (LK-102) voorverwarmen tot 72 °C.
2. Verwijder het rubbercement.
3. Plaats de objectglasjes in 50 ml Wash Buffer II (2 x SSC / 0,1% Igepal) (LK-103) en laat deze gedurende 2 minuten op kamertemperatuur incuberen. Schuif de dekglasjes eraf. U kunt dezelfde wasbuffer hergebruiken voor in totaal 10 objectglasjes.
4. Plaats de objectglasjes in 50 ml voorverwarmd Wash Buffer I (0,4 x SSC / 0,3% Igepal) (LK-102) en laat deze gedurende 2 minuten bij een temperatuur van 72 °C (+/- 1 °C) incuberen, zonder doorroeren. U kunt dezelfde wasbuffer hergebruiken voor in totaal 10 objectglasjes.
5. Plaats de objectglasjes in 50 ml vers Wash Buffer II (2 x SSC / 0,1% Igepal) (LK-103) en laat deze gedurende 1 minuut op kamertemperatuur incuberen, zonder doorroeren. U kunt dezelfde wasbuffer hergebruiken voor in totaal 10 objectglasjes.
6. De objectglasjes kunnen worden gedehydrateerd door ze elk gedurende 1 minuut in vers 70%, 85% en 100% ethanol op kamertemperatuur te laten staan. Op kamertemperatuur aan de lucht laten drogen en verder gaan naar **Tegenkleuring**.

### 3.7 Tegenkleuring:

Breng 15 µl DAPI-tegenkleuring (DAPI/Antifade 0,1 µg/ml) (LK-095B) aan, of een verdunning hiervan, met behulp van tegenkleuringverduunningsmiddel (LK097B) en breng een dekglasje aan. Ga verder naar microscopie.

### 3.8 Procedurele aanbevelingen:

Optimaal geprepareerde en voorbehandelde cytologische objectglasjes zijn cruciaal voor een succesvol FISH-resultaat. Te weinig of te veel voorbehandeling beïnvloedt niet alleen de morfologie, maar ook de signaalterkte (en daardoor ook het gemak van de analyse).

De temperatuur en bufferconcentratie (de zogenaamde stringentie) van de hybridisatie en het wassen zijn belangrijk, omdat een lagere stringentie kan leiden tot niet-specifieke binding van de probe aan andere sequenties, en een hogere stringentie kan leiden tot een onvoldoende signaal. Een onvolledige denaturatie van doel-dna kan leiden tot een onvoldoende signaal.

### 3.9 Aanbevelingen voor fluorescentiemicroscopie

Voor een optimale visualisering kunt u gebruikmaken van een goed onderhouden en regelmatig geijkte microscoop, voorzien van een kwiklamp van 100 W, of een andere lichtbron (bijv. een metaalhalidelamp (120 W X-cite) of een led-lamp) en een fluorescentie-objectief van 63x of 100x. Drieband-doorlaatfilters (DAPI/FITC/Cy3 of DAPI/FITC/TRITC) worden gebruikt om meerdere kleuren te bekijken; enkelband-doorlaatfilters worden gebruikt voor afzonderlijke kleurvisualisatie. Zie de website van Leica voor aanbevelingen over de geschikte filters voor elke microscoopband: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Geschikt excitatie- en emissiebereik voor fluoroforen van Kreatech™:

| Fluoroforen | Excitatie  | Emissie    |
|-------------|------------|------------|
| DAPI        | 360 ±20 nm | 460 ±30 nm |

|                            |            |            |
|----------------------------|------------|------------|
| <b>PlatinumBright™ 415</b> | 429 ±15 nm | 470 ±15 nm |
| <b>PlatinumBright™ 495</b> | 495 ±10 nm | 517 ±10 nm |
| <b>PlatinumBright™ 550</b> | 550 ±10 nm | 580 ±10 nm |

De weergegeven bandbreedte komt overeen met 80% van de maximale excitatie of emissie van de fluorofoor)

#### 4 Analytische prestaties

De prestaties van de FISH Reagent Kit zijn bepaald met behulp van de procedures die in deze gebruiksaanwijzing zijn beschreven. Aanpassingen aan deze procedures kunnen de prestaties van de assay beïnvloeden. Afwijkingen van de voorgeschreven protocollen moeten door de gebruiker worden gevalideerd. Gebruikers die afwijken van de aanbevolen testprocedures moeten de verantwoordelijkheid aanvaarden voor de interpretatie van patiëntenresultaten verkregen onder deze omstandigheden. De protocoeltijden kunnen variëren wegens de fixatie en de verwerking.

#### 5 Benodigde materialen die bij het product worden meegeleverd

| Code nr.        | Beschrijving                                | Volume     |
|-----------------|---------------------------------------------|------------|
| <b>LK-095B</b>  | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI Counterstain) | 0,5 ml     |
| <b>LK-097B</b>  | Antifade (Counterstain verdunningsmiddel)   | 0,5 ml     |
| <b>LK-102B*</b> | 0,4 x SSC / 0,3% Igepal (Wash Buffer I)     | 250 ml     |
| <b>LK-103B*</b> | 2 x SSC / 0,1% Igepal (Wash Buffer II)      | 2 x 250 ml |
| <b>LK-105B</b>  | 2 x SSC / 0,5% Igepal                       | 250 ml     |

\*Merk op dat de producten LK-102 en LK-103 met hetzelfde nummer, maar een andere letter, identiek zijn, behalve het volume. A = 100 ml, B = 250 ml

#### 6 Benodigde materialen die niet bij het product worden meegeleverd

- Ethanol 100%, 85% en 70%
- Fixogum (LK-071A) of rubbercement
- Verwarmingsplaat met nauwkeurige temperatuurregeling tot maximaal 75 °C of ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Incubator met een nauwkeurig temperatuurbereik van 37 °C
- Waterbad met een nauwkeurig temperatuurbereik van 37-75 °C
- Kunststoffen en glazen Coplin-kleurpotjes
- Micropipetten van verschillende grootte (1-200 µl)
- Fluorescentiemicroscopie voorzien van passende filters (zie de aanbevelingen voor fluorescentiemicroscopie).

#### 7 Waarschuwing en voorzorgsmaatregelen

- Alle ernstige incidenten die zijn opgetreden ten aanzien van het hulpmiddel, dienen te worden gemeld aan de fabrikant en de bevoegde autoriteiten in de lidstaat waarin de gebruiker en/of de patiënt is gevestigd.
- Voor gebruik bij diagnose in vitro. Uitsluitend voor professioneel gebruik in laboratoria. Raadpleeg in noodgevallen het veiligheidsinformatieblad voor informatie ten aanzien van de veiligheid.
- De set is uitsluitend bedoeld voor gebruik voorafgaand aan en na dna-FISH op cellen in de metafase en interfase uit perifere-bloedcelculturen of directe preparaten die op basis van standaard cytogenetische methoden tot stand zijn gekomen.
- Uitsluitend voor niet-geautomatiseerde FISH-voorbehandeling en -hybridisering.
- Alle materialen dienen te worden afgevoerd in overeenstemming met de richtlijnen ten aanzien van de afvoer van ziekenhuisafval van uw instelling.
- Het wordt aangeraden om de KBI-60006 FISH Digestion Kit te gebruiken in het geval dat men oudere monsters, objectglasjes met een cytoplasmatische achtergrond of lastige monsters gebruikt of verwacht.
- Voor in paraffine ingebed weefsel wordt het gebruik van voorbehandelingssets KBI-60004 of KBI-60007 aangeraden.

Etikettering in overeenstemming met Verordening (EC) nr. 1272/2008

| Code nr.       | Beschrijving                                   | Signaalwoord | Pictogram                                                                          | Gevarenaanduidingen |
|----------------|------------------------------------------------|--------------|------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <b>LK-095B</b> | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml<br>(DAPI Counterstain) | Waarschuwing |  | H315, H319,<br>H335 |
| <b>LK-097B</b> | Antifade<br>(Counterstain verdunningsmiddel)   | Waarschuwing |  | H315, H319,<br>H335 |
| <b>LK-102B</b> | 0,4 x SSC / 0,3% Igepal<br>(Wash Buffer I)     | N.v.t.       | N.v.t.                                                                             | N.v.t.              |
| <b>LK-103B</b> | 2 x SSC / 0,1% Igepal<br>(Wash Buffer II)      | N.v.t.       | N.v.t.                                                                             | N.v.t.              |
| <b>LK-105B</b> | 2 x SSC / 0,5% Igepal                          | N.v.t.       | N.v.t.                                                                             | N.v.t.              |

#### Gevarenaanduiding(en)

H315 – Veroorzaakt huidirritatie.

H319 – Veroorzaakt ernstige oogirritatie.

H335 – Kan irritatie van de luchtwegen veroorzaken.

#### Voorzorgsaanduiding(en) Preventie

P271 – Alleen buiten of in een goed geventileerde ruimte gebruiken.

P261 – Inademing van stof/rook/gas/nevel/damp/spuitnevel vermijden.

P264 – Na het werken met het product alle blootgestelde externe delen van het lichaam grondig wassen.

P280 – Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen.

#### Voorzorgsaanduiding(en) Respons

P305 + P351 + P338 - INDIEN IN OGEN: Voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten. contactlenzen verwijderen, indien mogelijk. Blijven spoelen.

P312 – Bel onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of raadpleeg een arts of EHBO-medewerker indien u zich niet goed voelt.

P337 + P313 – Bij aanhoudende oogirritatie: Zoek medische hulp/advies.

P302 + P352 – BIJ CONTACT MET DE HUID: Wassen met ruime hoeveelheid water en zeep.

P304 + P340 – BIJ INADEMING: De persoon in de frisse lucht brengen en ervoor zorgen dat deze gemakkelijk kan ademen.

P332 + P313 – Bij huidirritatie: Zoek medische hulp/advies.

P362 + P364 – Verontreinigde kleding uittrekken en wassen alvorens deze opnieuw te gebruiken.

Aanvullende gevarenaanduidingen: geen

Voorbehouden aan professionele gebruikers in laboratoria

#### Verklaring van symbolen

|                                                                                     |                                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
|  | Bevat gevaarlijke stoffen             |
|  | Land waarin de fabrikant is gevestigd |

|                                                                                   |                                                |
|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
|  | Niet gebruiken als de verpakking beschadigd is |
|  | Raadpleeg de elektronische gebruiksaanwijzing  |

## 8 Opslag en hantering van het reagens

Bescherm DAPI/Antifade tegen sterk en rechtstreeks licht. Bewaar bij 2-8 °C. Onder deze omstandigheden is het product stabiel tot de vervaldatum die op het etiket van de flacon is vermeld.

Breng onverdund reagens na gebruik onmiddellijk terug tot 2-8 °C.

Na het openen zijn producten stabiel tot een periode van maximaal 18 maanden, maar nooit later dan de houdbaarheidsdatum. Na deze periode kan het gebruik van de oplossingen leiden tot suboptimale resultaten.

## 9 Technische ondersteuning

Technische ondersteuning is te vinden op [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) of via e-mail: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Indien de gewenste resultaten niet worden bereikt of er bij het gebruik van dit product onregelmatigheden optreden, kunt u contact met ons opnemen.

U kunt een papieren versie van de gebruiksaanwijzing aanvragen via e-mail, door contact op te nemen met: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



De elektronische gebruiksaanwijzing is beschikbaar in extra talen, die u kunt downloaden op [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Klantenservice

De probes van Kreatech kunnen worden besteld via de Klantenservice van Leica, telefoonnummer +31 20 6919181, of u kunt deze via e-mail bestellen: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

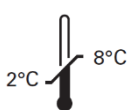
## 11 Geschiedenis

| Versie<br>gebruiksaanwijzing | Datum uitgave | Wijzigingen                                       |
|------------------------------|---------------|---------------------------------------------------|
| 2.4                          | 2016-SEP-27   | Verwijderen van de slogan 'The pathology Company' |
| 3.0                          | 2022- April   | Update volgens IVD-voorschriften                  |

## FISH Reagent Kit

**REF** KBI-60005

som inneholder tilstrekkelig volum for opptil 25 eller 5 x 5 tester



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
Nederland  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 Tiltentkt bruk / formål

Fluorescerende in situ-hybridisering (FISH) identifiserer eller merker genomiske målsekvenser slik at plasseringen deres kan studeres. DNA-sekvenser fra passende kromosomspekifikke prober merkes først med reportertermolekyler. Den merkede DNA-proben hybridiseres deretter til metafasekromosomene eller interfasekjernene på et objektglass. Etter vask blir prøvematerialet screenet for reportertermolekylene ved fluorescensmikroskopi.

For bruk på metafase- og interfaseceller fra perifere blodkulturer eller direkte preparater klargjort ved standard cytogenetiske metoder.

Dette forbehandlingssettet er spesielt utviklet for å oppnå optimale resultater på FERSKE klargjorte cytologiske prøver.

Dette produktet er beregnet for in vitro-diagnostisk bruk.

### 2 Produktbeskrivelse

Dette forbehandlingssettet er for ikke-automatiserte FISH-hybridiseringer spesielt utviklet for bruk for forbehandling og enzymnedbrytning av metafase- og interfaseceller fra perifere blodkulturer eller direkte preparater fremstilt ved standard cytogenetiske metoder før DNA FISH-hybridiseringsprosedyre. Dette settet er spesielt utviklet for å oppnå optimale resultater på FERSKE klargjorte cytologiske prøver. Bruk av settet vil reversere tverrbindingene i cellene, permeabilisere cellemembranen og bryte ned celleproteiner for å lette bindingen av FISH probes til det spesifikke celle-DNA-et.

### 3 Bruksanvisning

#### 3.1 Prøvematerialer

For bruk på metafase- og interfaseceller fra perifere blodkulturer eller direkte preparater klargjort ved standard cytogenetiske metoder.

Dette forbehandlingssettet er spesielt utviklet for å oppnå optimale resultater på FERSKE klargjorte cytologiske prøver.

Prøvematerialer før analyse: Foranalysen spiller en stor rolle for å oppnå en vellykket FISH. Prøvematerialet skal fikses på riktig måte, eldes og forbehandles i henhold til en veletablert protokoll. Overfiksering eller underfiksering eller dårlig forbehandling av prøven kan forårsake svikt i FISH-prosedyren eller i det minste lav reproducerbarhet / signalintensitet. Kreatech FISH probes har blitt testet på metafase- / interfasekjerner fra dyrket perifert blod og/eller benmarg. Objektglassene bør oppbevares i henhold til anbefalte oppbevarings- og håndteringsforhold for optimale resultater, se Leicas nettside.

#### 3.2 Forbehandling

Protokollen nedenfor er for bruk av 5 objektglass i en oppreist Coplin-krukke på 50 ml.

1. Forbehandle nylig klargjorte prøveobjektglass i 50 ml 2 x SSC / 0,5 % Igepal (LK-105B) ved 37 °C i 15 minutter (min).
2. Dehydrer i 70 %, 85 % og 100 % etanol i 1 minutt hver. Lufttørk. Fortsett med **klargjøring av probe**.

#### 3.3 Klargjøring av probe:

Kreatech™ FISH probes leveres klare til bruk (RtU). SE, ST og WC Kreatech™ FISH probes leveres 5 x konsentrerte og må fortynnes på følgende måte: 2 µl 5 x kons. probe i 8 µl FISH Hybridization Buffer (FHB eller WCB, leveres

med prober). Hvis du vil kombinere flere 5 x kons. sonder, erstatter du FISH Hybridization Buffer (FHB eller WCB) med 2 µl for hver probe som legges til.

### 3.4 Samdenaturering

Bruk 10 µl probe per 22 x 22 mm felt. Dekk til med dekkglass og forsegl med Fixogum eller gummisement. Denaturer prøve og probe på en ThermoBrite (TS-01/02) ved 75 ± 1 °C i 5–10 min. Fortsett med **hybridisering**.

### 3.5 Hybridisering:

Inkuber over natten ved 37 ± 1 °C i en ThermoBrite (TS-01/02) eller i et fuktet kammer.

### 3.6 Etterhybridiseringsvask:

1. Forvarm 50 ml Wash Buffer I (0,4 x SSC / 0,3 % Igepal) (LK-102) til 72 °C
2. Fjern gummisement.
3. Plasser objektglass i 50 ml Wash Buffer II (2 x SSC / 0,1 % Igepal) (LK-103), inkuber i 2 min. ved RT. Skyv av klemmene på dekslet. Gjenbruk vaskebufferen bare én gang for totalt 10 objektglass.
4. Plasser objektglassene i 50 ml forvarmet Wash Buffer I (0,4 x SSC / 0,3 % Igepal) (LK-102), inkuber i 2 minutter ved 72 °C (+ 1 °C) uten omrøring. Gjenbruk vaskebufferen bare én gang for totalt 10 objektglass.
5. Plasser objektglass i 50 ml fersk Wash Buffer II (2 x SSC / 0,1 % Igepal) (LK-103), inkuber i 1 min. ved RT uten omrøring. Gjenbruk vaskebufferen bare én gang for totalt 10 objektglass.
6. Dehydrer i fersk 70 %, 85 % og 100 % etanol, inkuber i 1 minutt hver ved RT. Lufttørk ved RT og fortsett til **kontrastfarging**.

### 3.7 Kontrastfarging:

Bruk 15 µl DAPI counterstain (DAPI/Antifade 0,1 µg/ml) (LK-095B) eller en fortynning av denne ved hjelp av fortynningsmiddel for kontrastfarge (LK097B) og bruk dekkglass. Fortsett med mikroskopi.

### 3.8 Prosedyreanbefalinger:

Optimalt klargjorte og forbehandlede cytologiske objektglass er nøkkelen til å oppnå et vellykket FISH-resultat. Under- eller overforbehandling påvirker ikke bare morfologien, men også signalstyrken (og dermed hvor enkel analysen er å utføre).

Temperatur og bufferkonsentrasjon (stringens) ved hybridisering og vask er viktig, da lavere stringens kan føre til uspesifikk binding av proben til andre sekvenser, og høyere stringens kan føre til mangel på signal. Ufullstendig denaturering av mål-DNA kan føre til mangel på signal.

### 3.9 anbefalinger for fluorescensmikroskopi

Bruk et godt vedlikeholdt og regelmessig kalibrert mikroskop utstyrt med en 100W kvikksølvlampe eller annen passende lyskilde for optimal visualisering (f.eks. Metal Halide Bulb (120W X-cite) eller LED-baserte lyskilder) og et 63x eller 100x fluorescensobjektiv. Trippelbåndpassfiltre (DAPI/FITC/Cy3 eller DAPI/FITC/TRITC) brukes til å vise flere farger, enkeltbåndpassfiltre brukes for individuell fargevisualisering. Se Leicas nettsted for anbefalinger om passende filtre for hvert mikroskopmerke: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Egnet eksiterings- og strålingsrekkevidde for Kreatech™-fluoroforer:

| Fluorofor           | Eksitering  | Stråling    |
|---------------------|-------------|-------------|
| DAPI                | 360 ± 20 nm | 460 ± 30 nm |
| PlatinumBright™ 415 | 429 ± 15 nm | 470 ± 15 nm |
| PlatinumBright™ 495 | 495 ± 10 nm | 517 ± 10 nm |
| PlatinumBright™ 550 | 550 ± 10 nm | 580 ± 10 nm |

Den viste båndbredden tilsvarer 80 % av maksimum eksitering/stråling av fluorofor)

## 4 Analysens ytelse

Ytelsen til FISH Reagent Kit er etablert ved å bruke prosedyrene beskrevet i denne bruksanvisningen. Endringer i disse prosedyrene kan endre ytelsen til analysen. Eventuelle avvik fra de instruerte protokollene må valideres av brukeren. Brukere som avviker fra de anbefalte testprosedyrene, må ta ansvaret for tolkningen av pasientresultatene under disse forholdene. Protokolltidene kan variere på grunn av variasjon i fiksering og behandling.

## 5 Materialer som kreves og leveres med produktet

| Kode #   | Beskrivelse                                       | Volum      |
|----------|---------------------------------------------------|------------|
| LK-095B  | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml<br>(DAPI Counterstain)    | 0,5 ml     |
| LK-097B  | Antifade<br>(Fortynningsmiddel til kontrastfarge) | 0,5 ml     |
| LK-102B* | 0,4 x SSC / 0,3 % Igepal<br>(Wash Buffer I)       | 250 ml     |
| LK-103B* | 2 x SSC / 0,1 % Igepal<br>(Wash Buffer II)        | 2 x 250 ml |
| LK-105B  | 2 x SSC / 0,5 % Igepal                            | 250 ml     |

\*Vær oppmerksom på at LK-102- og LK-103-produkter som inneholder samme nummer, men forskjellige bokstaver er identiske bortsett fra volum. A = 100 ml, B = 250 ml

## 6 Materialer som kreves og ikke leveres med produktet

- Etanol 100 %, 85 % og 70 %
- Fixogum (LK-071A) eller gummisement
- Varmeplate med nøyaktig temperaturkontroll opp til 75 °C eller ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Inkubator med nøyaktig temperaturområde på 37 °C
- Vannbad med nøyaktig temperaturområde på 37–75 °C
- Coplin-krukker i plast og glass
- Variable mikropipetter (1 µl – 200 µl)
- Fluorescensmikroskop utstyrt med egnede filtre (se anbefalinger for fluorescensmikroskopi).

## 7 ADVARSEL OG FORHOLDSREGLER

- Enhver alvorlig hendelse som har oppstått i forbindelse med enheten, skal rapporteres til produsenten og pågjøldende myndighet i landet der brukeren og / eller pasienten har fast tilholdssted.
- Til in vitro-diagnostisk bruk. Kun til profesjonell bruk på laboratorier. I nødstilfeller: sjekk SDS-arkene for sikkerhetsinformasjon.
- Settet er ment å kun brukes før og etter DNA FISH på metafase- og interfaseceller fra perifere blodkulturer eller direkte preparater fremstilt ved standard cytogenetiske metoder.
- Kun for ikke-automatisert FISH-forbehandling og -hybridisering.
- Alt materiale skal avhendes i henhold til institusjonens retningslinjer for avfallshåndtering på sykehus.
- Det anbefales å bruke KBI-60006 FISH Digestion kit hvis eldre prøver, objektglass med cytoplasmatiske bakgrunn eller vanskelige prøver brukes eller forventes.
- For parafininnstøpt vev anbefales det å bruke KBI-60004- eller KBI-60007-forbehandlingssett.

Merking med skilt i henhold til forordning (EF) nr. 1272/2008

| Kode #  | Beskrivelse                                       | Signalord | Piktogram                                                                            | Faresetninger    |
|---------|---------------------------------------------------|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| LK-095B | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml<br>(DAPI Counterstain)    | ADVARSEL  |  | H315, H319, H335 |
| LK-097B | Antifade<br>(Fortynningsmiddel til kontrastfarge) | ADVARSEL  |  | H315, H319, H335 |
| LK-102B | 0,4 x SSC / 0,3 % Igepal<br>(Wash Buffer I)       | N.A.      | N.A.                                                                                 | N.A.             |
| LK-103B | 2 x SSC / 0,1 % Igepal<br>(Wash Buffer II)        | N.A.      | N.A.                                                                                 | N.A.             |
| LK-105B | 2 x SSC / 0,5 % Igepal                            | N.A.      | N.A.                                                                                 | N.A.             |

Faresetning(er)  
H315 – Irriterer huden.

H319 – Gir alvorlig øyeirritasjon.  
H335 – Kan forårsake irritasjon av luftveiene

#### Sikkerhetssetning(er), forebygging

P271 – Skal kun brukes utendørs eller i et godt ventilert område.  
P261 – Unngå å puste inn tåke / damp / spray.  
P264 – Vask alle eksponerte utvendige områder på kroppen grundig etter håndtering.  
P280 – Bruk beskyttende hansker, verneklær, øyebeskyttelse og ansiktsbeskyttelse.

#### Sikkerhetssetning(er), respons

P305+P351+P338 – VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen.  
P312 – Kontakt GIFTINFORMASJONEN / lege / førstehjelp / hvis du kjenner deg uvel.  
P337+P313 – Ved vedvarende øyeirritasjon: Søk legehjelp.  
P302+P352 – VED HUDKONTAKT: Vask med rikelig med vann og såpe.  
P304+P340 – VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet.  
P332+P313 – Hvis det oppstår hudirritasjon: Søk legehjelp.  
P362+P364 – Tilsølte klær må fjernes og vaskes før de brukes på nytt.

Supplerende faresetninger: ingen

Begrenset til profesjonelle laboratoriebrukere

#### Forklaring av symboler

|                                                                                     |                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
|   | Inneholder farlige stoffer              |
|  | Produksjonsland                         |
|  | Må ikke brukes hvis pakningen er skadet |
|  | Se elektronisk bruksanvisning (eIFU)    |

## 8 Oppbevaring og håndtering av reagens

Beskytt DAPI / Antifade mot sterkt og direkte lys. Oppbevares ved 2–8 °C. Det uåpnede produktet er stabilt under disse forholdene frem til utløpsdatoen som er angitt på hetteglassets etikett.

Sett ufortynnede reagenser tilbake i 2–8 °C umiddelbart etter bruk.

Etter åpning er produktene stabile i opptil 18 måneder, men aldri lenger enn utløpsdatoen. Etter denne tidsperioden kan bruk av løsningene gi suboptimale resultater.

## 9 Teknisk støtte

Teknisk støtte er tilgjengelig på [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) eller via e-post: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Kontakt oss hvis ønskede resultater ikke oppnås eller det oppstår uregelmessigheter ved bruk av dette produktet.

En papirutskrevet kopi av bruksanvisningen kan etterspørres via e-post ved å kontakte: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



Den elektroniske bruksanvisningen (eIFU) er tilgjengelig på flere språk, og kan lastes ned fra:  
[www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Kundeservice

Kreatech probes kan bestilles gjennom Leicas kundeservice +31 20 6919181 eller bestilles via e-post:  
[purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

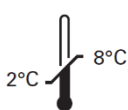
## 11 Historikk

| Versjon av<br>bruksanvisning | Utstedelsesdato | Endringer                                                      |
|------------------------------|-----------------|----------------------------------------------------------------|
| 2.4                          | 2016-SEP-27     | Fjern overskriften "The pathology Company" (Patologiselskapet) |
| 3.0                          | 2022– April     | Oppdater i henhold til IVD-forskrifter                         |

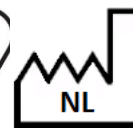
## Zestaw odczynników FISH

**REF** KBI-60005

Zawierający objętość wystarczającą do wykonania 25 lub 5 x 5 testów



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
Holandia  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 Przeznaczenie/zamierzony cel

Fluorescencyjna hybrydyzacja in situ (FISH) umożliwia identyfikację lub znakowanie docelowych sekwencji genomowych, dzięki czemu można zbadać ich lokalizację. Sekwencje DNA z odpowiednich sond specyficznych dla chromosomów są najpierw znakowane za pomocą cząsteczek reportera. Oznakowana sonda DNA jest następnie hybrydyzowana do chromosomów metafazowych lub jąder interfazowych na preparacie. Po przemyciu próbka jest badana pod mikroskopem fluorescencyjnym w poszukiwaniu cząsteczek reportera.

Do stosowania na komórkach metafazowych i interfazowych z hodowli krwi obwodowej lub bezpośrednich preparatach przygotowanych metodami cytogenetyki klasycznej.

Zestaw do obróbki wstępnej został opracowany specjalnie w celu uzyskania optymalnych wyników na świeżo przygotowanych próbkach cytologicznych.

Produkt służy do stosowania w diagnostyce in vitro.

### 2 Opis produktu

Zestaw do obróbki wstępnej służy do nieautomatycznych hybrydyzacji FISH i został opracowany specjalnie do wstępnej obróbki i trawienia enzymatycznego komórek metafazowych i interfazowych z hodowli krwi obwodowej lub preparatów bezpośrednich przygotowanych metodami cytogenetyki klasycznej przed procedurą hybrydyzacji DNA FISH. Zestaw został opracowany specjalnie w celu uzyskania optymalnych wyników na świeżo przygotowanych próbkach cytologicznych. Na skutek zastosowania zestawu dochodzi do odwrócenia wiązań krzyżowych w komórkach, permeabilizacji błony komórkowej i trawienia białek komórkowych, co ułatwia wiązanie sond FISH ze specyficznym DNA komórkowym.

### 3 Instrukcja stosowania

#### 3.1 Próbkę

Do stosowania na komórkach metafazowych i interfazowych z hodowli krwi obwodowej lub bezpośrednich preparatach przygotowanych metodami cytogenetyki klasycznej.

Zestaw do obróbki wstępnej został opracowany specjalnie w celu uzyskania optymalnych wyników na świeżo przygotowanych próbkach cytologicznych.

Analizy wstępne próbek: Ważną rolę w prawidłowym przeprowadzeniu FISH odgrywają analizy wstępne. Próbki powinny zostać prawidłowo utrwalone, poddane procesowi starzenia i obróbce wstępnej zgodnie z ustalonym protokołem. Nadmierne utrwalenie, niedostateczne utrwalanie lub nieprawidłowa obróbka wstępna mogą doprowadzić do niepowodzenia procedury FISH lub w najlepszym przypadku do niskiej odtwarzalności/intensywności sygnału. Sondy FISH Kreatech zostały przetestowane na jądrach metafazowych/międzyfazowych pochodzących z hodowli krwi obwodowej i/lub szpiku kostnego. Preparaty należy przechowywać zgodnie z zalecanymi warunkami przechowywania i przetwarzania. Patrz strona internetowa firmy Leica.

#### 3.2 Obróbka wstępna

Poniższy protokół dotyczy użycia 5 preparatów w barwiaczu pionowym Coplina o pojemności 50 ml.

1. Świeżo przygotowane preparaty poddać wstępnej obróbce w 50 ml 2 x SSC / 0,5% Igepal (LK-105B) w temperaturze 37°C przez 15 min.
2. Odwodnić przez zanurzenie po kolei w 70%, 85% i 100% etanolu na 1 minutę. Wysuszyć na powietrzu. Następnie przystąpić do **przygotowywania sondy**.

### 3.3 Przygotowywanie sondy:

Sondy FISH Kreatech™ są dostarczane w postaci gotowej do użycia. Sondy FISH SE, ST i WC Kreatech™ są dostarczane w postaci 5 x skoncentrowanej i należy je rozcieńczyć w następujący sposób: 2 µl 5 x stężonej sondy w 8 µl buforu do hybrydyzacji FISH (FHB lub WCB, dostarczany z sondami). Aby połączyć kilka sond stężonych pięciokrotnie, należy zastąpić bufor do hybrydyzacji FISH (FHB lub WCB) 2 µl na każdą dodaną sondę.

### 3.4 Jednoczesna denaturacja

Nanieść 10 µl sondy na pole o wymiarach 22 x 22 mm. Przykryć szkiełkiem nakrywkowym i uszczelnić za pomocą Fixogum lub kleju kauczukowego. Denaturować próbkę i sondę w urządzeniu ThermoBrite (TS-01/02) w temp. 75 ±1°C przez 5 -10 min. Następnie przeprowadzić **hybrydyzację**.

### 3.5 Hybrydyzacja:

Inkubować przez noc w temperaturze 37 ±1°C w urządzeniu ThermoBrite (TS-01/02) lub w nawilżanej komorze.

### 3.6 Przemycanie po hybrydyzacji:

1. Podgrzać 50 ml buforu do przemycania I (0,4 x SSC / 0,3% Igepal) (LK-102) do temp. 72°C.
2. Usunąć klej kauczukowy.
3. Umieścić preparaty w 50 ml buforu do przemycania II (2 x SSC / 0,1% Igepal) (LK-103), inkubować przez 2 min. w temperaturze pokojowej. Zsunąć szkiełka nakrywkowe. Buforu do przemycania można używać raz w sumie do obróbki 10 preparatów.
4. Umieścić preparaty w 50 ml podgrzanego wcześniej buforu do przemycania I (0,4 x SSC / 0,3% Igepal) (LK-102), inkubować przez 2 min. w temp. 72°C (+/- 1°C) bez mieszania. Buforu do przemycania można używać raz w sumie do obróbki 10 preparatów.
5. Umieścić preparaty w 50 ml świeżego buforu do przemycania II (2 x SSC / 0,1% Igepal) (LK-103), inkubować przez 1 min. w temperaturze pokojowej bez mieszania. Buforu do przemycania można używać raz w sumie do obróbki 10 preparatów.
6. Odwodnić w świeżym 70%, 85% i 100% etanolu, inkubować przez 1 min. w temperaturze pokojowej. Wysuszyć na powietrzu w temperaturze pokojowej i przystąpić do **barwienia kontrastowego**.

### 3.7 Barwienie kontrastowe:

Nanieść 15 µl barwnika kontrastowego DAPI (DAPI/Antifade 0,1 µg/ml) (LK-095B) lub jego rozcieńczenia otrzymanego przy użyciu rozcieńczalnika do barwników kontrastowych (LK097B) i nałożyć szkiełko nakrywkowe. Przystąpić do badania pod mikroskopem.

### 3.8 Zalecenia dotyczące procedury:

Optymalne przygotowanie i poddanie wstępnej obróbce preparatów cytologicznych ma kluczowe znaczenie dla uzyskania pomyślnego wyniku badania FISH. Niewystarczająca lub nadmierna obróbka wstępna ma wpływ nie tylko na morfologię, ale także na siłę sygnału (a tym samym na łatwość przeprowadzenia analizy).

Temperatura i stężenie buforu (rygorystyczność) hybrydyzacji i przemycania mają znaczenie, ponieważ niższa rygorystyczność może powodować niespecyficzne wiązanie sondy z innymi sekwencjami, a wyższa rygorystyczność może skutkować brakiem sygnału. Niepełna denaturacja docelowego DNA może skutkować brakiem sygnału.

### 3.9 Zalecenia dotyczące mikroskopii fluorescencyjnej

W celu uzyskania optymalnej wizualizacji należy używać dobrze utrzymanego i regularnie kalibrowanego mikroskopu wyposażonego w lampę rtęciową 100 W lub inne odpowiednie źródło światła (np. żarówkę metalohalogenową (120 W X-cite) lub źródła światła opartego na diodach LED) oraz obiektywu fluorescencyjnego 63x lub 100x. Filtry trójpasmowe (DAPI/FITC/Cy3 lub DAPI/FITC/TRITC) służą do wizualizacji wielu kolorów, a filtry jednopasmowe do wizualizacji pojedynczych kolorów. Zalecenia dotyczące odpowiednich filtrów dla poszczególnych marek mikroskopów można znaleźć na stronie internetowej firmy Leica: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Odpowiedni zakres wzbudzenia i emisji dla fluoroforów Kreatech™:

| Fluorofor           | Wzbudzenie | Emisja     |
|---------------------|------------|------------|
| DAPI                | 360 ±20 nm | 460 ±30 nm |
| PlatinumBright™ 415 | 429 ±15 nm | 470 ±15 nm |

|                            |            |            |
|----------------------------|------------|------------|
| <b>PlatinumBright™ 495</b> | 495 ±10 nm | 517 ±10 nm |
| <b>PlatinumBright™ 550</b> | 550 ±10 nm | 580 ±10 nm |

Przedstawiona szerokość pasma odpowiada 80% maksymalnego wzbudzenia/emisji fluoroforu)

#### 4 Wydajność analityczna

Wydajność zestawu odczynników FISH została określona przy użyciu procedur opisanych w niniejszej instrukcji użytkownika. Modyfikacje tych procedur mogą wpłynąć na wyniki badania. Wszelkie odstępstwa od zalecanych protokołów muszą zostać poddane walidacji przez użytkownika. W tych okolicznościach użytkownicy, którzy postępują niezgodnie z zalecanymi procedurami testowymi muszą wziąć odpowiedzialność za interpretację wyników chorego. Czasy protokołów mogą się różnić ze względu na różnice w utrwalaniu i obróbce.

#### 5 Materiały wymagane i znajdujące się w zestawie

| Kod #           | Opis                                                    | Objętość   |
|-----------------|---------------------------------------------------------|------------|
| <b>LK-095B</b>  | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml<br>(Barwnik kontrastowy DAPI)   | 0,5 ml     |
| <b>LK-097B</b>  | Antifade<br>(Rozcieńczalnik do barwników kontrastowych) | 0,5 ml     |
| <b>LK-102B*</b> | 0,4 x SSC / 0,3% Igepal<br>(Bufor do przemywania I)     | 250 ml     |
| <b>LK-103B*</b> | 2 x SSC / 0,1% Igepal<br>(Bufor do przemywania II)      | 2 x 250 ml |
| <b>LK-105B</b>  | 2 x SSC/0,5% Igepal                                     | 250 ml     |

\*Należy pamiętać, że produkty LK-102 i LK-103 mające ten sam numer, ale różne litery, są identyczne z wyjątkiem objętości. A= 100 ml, B=250 ml

#### 6 Materiały wymagane, które nie znajdują się w zestawie

- Etanol 100%, 85% i 70%.
- Fixogum (LK-071A) lub klej kauczukowy
- Płyta grzejna z dokładną kontrolą temperatury do 75 °C lub ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Inkubator z dokładnym zakresem temperatury 37°C
- Łaźnia wodna z dokładnym zakresem temperatur 37 - 75 °C
- Plastikowe i szklane barwiacze Coplina
- Mikropipety o różnej pojemności (1 µl - 200 µl)
- Mikroskop fluorescencyjny wyposażony w odpowiednie filtry (patrz zalecenia dotyczące mikroskopii fluorescencyjnej).

#### 7 Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Wszelkie poważne incydenty związane z wyrobem należy zgłaszać producentowi i właściwemu organowi państwa członkowskiego, w którym ma siedzibę użytkownik i/lub pacjent.
- Do diagnostyki in vitro. Tylko do profesjonalnego użytku laboratoryjnego. W nagłych przypadkach należy sprawdzić karty charakterystyki substancji niebezpiecznej w celu uzyskania informacji na temat zagrożenia.
- Zestaw należy stosować wyłącznie przed i po wykonaniu hybrydyzacji FISH DNA na komórkach metafazowych i interfazowych z hodowli krwi obwodowej lub bezpośrednich preparatów przygotowanych metodami cytogenetyki klasycznej.
- Wyłącznie do nieautomatycznej obróbki wstępnej i hybrydyzacji FISH.
- Wszystkie materiały należy utylizować zgodnie z wytycznymi dotyczącymi utylizacji odpadów szpitalnych obowiązującymi w danej instytucji.
- Gdy używane lub spodziewane są starsze próbki, preparaty z tłem cytoplazmatycznym lub trudne próbki, zaleca się stosowanie zestawu do trawienia FISH KBI-60006.
- W przypadku tkanek zatopionych w parafinie zaleca się stosowanie zestawów do wstępnej obróbki KBI-60004 lub KBI-60007.

Oznakowanie zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 1272/2008

| Kod #   | Opis                                                    | Słowa sygnalizujące | Piktogram                                                                           | Zwroty określające zagrożenie |
|---------|---------------------------------------------------------|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| LK-095B | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml<br>(Barwnik kontrastowy DAPI)   | Ostrzeżenie         |  | H315, H319, H335              |
| LK-097B | Antifade<br>(Rozcieńczalnik do barwników kontrastowych) | Ostrzeżenie         |  | H315, H319, H335              |
| LK-102B | 0,4 x SSC / 0,3% Igepal<br>(Bufor do przemycania I)     | nie dotyczy         | nie dotyczy                                                                         | nie dotyczy                   |
| LK-103B | 2 x SSC / 0,1% Igepal<br>(Bufor do przemycania II)      | nie dotyczy         | nie dotyczy                                                                         | nie dotyczy                   |
| LK-105B | 2 x SSC/0,5% Igepal                                     | nie dotyczy         | nie dotyczy                                                                         | nie dotyczy                   |

Zwrot(y) określający(-e) zagrożenie

H315 – Działa drażniąco na skórę.

H319 – Działa drażniąco na oczy.

H335 – Może powodować podrażnienie dróg oddechowych

Zwrot(y) wskazujący(-e) środki ostrożności Zapobieganie

P271 – Stosować wyłącznie na zewnątrz lub w dobrze wentylowanym pomieszczeniu

P261 – Unikać wdychania mgły/par/rozpylonej cieczy.

P264 – Po użyciu dokładnie umyć wszystkie narażone zewnętrzne części ciała.

P280 – Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu i ochronę twarzy.

Zwrot(y) wskazujący(-e) środki ostrożności Odpowiedź

P305 + P351 + P338 – W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut.

Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

P312 – W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem/osobą udzielającą pierwszej pomocy.

P337+P313 – W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady lekarza.

P302 + P352 – W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Przemyc dużą ilością wody z mydłem.

P304 + P340 – W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: Wyprowadzić lub wynieść osobę poszkodowaną na świeże powietrze i umieścić w pozycji umożliwiającej swobodne oddychanie.

P332+P313 – W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry: Zasięgnąć porady lekarza.

P362+P364 – Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem.

Uzupełniające zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia: brak

Wyłącznie do profesjonalnego użytku laboratoryjnego.

Objaśnienie symboli

|                                                                                     |                                              |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
|  | Zawiera substancje niebezpieczne             |
|  | Kraj produkcji                               |
|  | Nie używać, jeśli opakowanie jest uszkodzone |

|                                                                                   |                                                                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
|  | <p>Należy sprawdzić w elektronicznej instrukcji użytkowania (elfU).</p> |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|

## 8 Przechowywanie i postępowanie z odczynnikiem

Chronić DAPI/Antifade przed silnym i bezpośrednim światłem. Przechowywać w temperaturze 2- 8°C. Nieotwarty produkt jest stabilny w tych warunkach do upływu daty ważności podanej na etykiecie fiolki.

Niezwłocznie po użyciu nierozcieńczony odczynnik ponownie umieścić w temperaturze 2-8°C.

Po otwarciu produkty zachowują stabilność przez okres do 18 miesięcy, ale nigdy dłużej niż do upływu daty ważności. Po upływie tego okresu stosowanie roztworów może prowadzić do uzyskania nieoptymalnych wyników.

## 9 Wsparcie techniczne

Wsparcie techniczne jest dostępne na stronie [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) lub pod adresem e-mail: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Prosimy o kontakt w przypadku braku pożądanych rezultatów lub pojawienia się jakichkolwiek nieprawidłowości podczas stosowania produktu.

Aby otrzymać papierowy egzemplarz instrukcji użytkowania, należy wysłać e-mail na adres: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



Instrukcja użytkowania jest dostępna w dodatkowych wersjach językowych, które można pobrać ze strony: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Obsługa klienta

Sondy Kreatech można zamawiać za pośrednictwem Działu Obsługi Klienta Leica +31 20 6919181 lub pisząc na adres: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

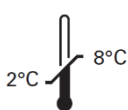
## 11 Historia

| Wersja instrukcji użytkowania | Data publikacji | Zmiany                                                                 |
|-------------------------------|-----------------|------------------------------------------------------------------------|
| 2,4                           | 2016-SEP-27     | Usunięcie sloganu „Firma zajmująca się badaniem zmian patologicznych”. |
| 3,0                           | Kwiecień 2022   | Aktualizacja zgodnie z przepisami dotyczącymi IVD                      |

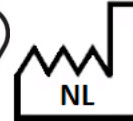
## Kit de reagentes FISH

**REF** KBI-60005

Contém volume suficiente até 25 ou 5x5 testes



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdão  
Países Baixos  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 Finalidade/utilização prevista

A hibridação fluorescente in situ (FISH) identifica ou marca sequências genômicas alvo para que a sua localização possa ser estudada. As sequências de ADN de sondas cromossômicas específicas apropriadas são marcadas em primeiro lugar com moléculas repórter. A sonda de ADN marcada é depois hibridizada para os cromossomas em metáfase ou núcleos em interfase numa lâmina. Após a lavagem, o espécime é rastreado para as moléculas repórter por microscopia de fluorescência.

Para utilização em células em metáfase e em interfase de culturas de sangue periférico ou preparações diretas preparadas por métodos citogenéticos padrão.

Este kit de pré-tratamento foi especificamente desenvolvido para obter resultados ótimos em amostras citológicas RECENTEMENTE preparadas.

Este produto destina-se à utilização em diagnóstico in vitro.

### 2 Descrição do produto

Este kit de pré-tratamento é para hibridações FISH não-automatizadas especificamente desenvolvidas para utilização em pré-tratamento e digestão enzimática de células em metáfase e interfase de culturas de sangue periférico ou preparações diretas preparadas por métodos citogenéticos padrão antes do procedimento de hibridação FISH de ADN. Este kit foi especificamente desenvolvido para obter resultados ótimos em amostras citológicas RECENTEMENTE preparadas. A utilização do kit irá inverter as ligações cruzadas nas células, permeabilizar a membrana celular e digerir as proteínas celulares para facilitar a ligação das sondas FISH ao ADN específico da célula.

### 3 Instruções de utilização

#### 3.1 Espécimes

Para utilização em células em metáfase e em interfase de culturas de sangue periférico ou preparações diretas preparadas por métodos citogenéticos padrão.

Este kit de pré-tratamento foi especificamente desenvolvido para obter resultados ótimos em amostras citológicas RECENTEMENTE preparadas.

Pré-análise de espécimes: Para obter um FISH realizado com êxito, a pré-análise desempenha um papel importante. O espécime deve ser corretamente fixado, envelhecido e pré-tratado de acordo com um protocolo devidamente estabelecido. A fixação em excesso, a fixação insuficiente ou o mau pré-tratamento do espécime pode causar a falha do procedimento FISH ou, pelo menos, a baixa reprodutibilidade/intensidade do sinal. As sondas Kreatech FISH foram testadas em núcleos de metáfase/interfase derivados de sangue periférico e/ou medula óssea cultivados. As lâminas devem ser armazenadas de acordo com as condições de armazenamento e manuseamento recomendadas para obter resultados ótimos; consulte o website da Leica.

#### 3.2 Pré-tratamento

O protocolo abaixo é para a utilização de 5 lâminas numa jarra de Coplin vertical de 50 ml.

1. Fazer o pré-tratamento das lâminas de amostras recentemente preparadas em 50 ml de 2 x SSC/0,5% Igepal (LK-105B) a 37 °C durante 15 minutos (mín.).
2. Desidratar em etanol a 70%, 85% e 100% durante 1 minuto cada. Secar ao ar. Prosseguir com a **preparação da sonda**.

### 3.3 Preparação da sonda:

As sondas Kreatech™ FISH são fornecidas prontas a utilizar (RtU). As sondas Kreatech™ FISH SE, ST, e WC são fornecidas 5 x concentradas e devem ser diluídas como se segue: 2 µl 5 x sonda conc. em tampão de hibridação FISH de 8 µl (FHB ou WCB, fornecido com sondas). Para combinar várias sondas conc. x 5, substituir o tampão de hibridação FISH (FHB ou WCB) por 2 µl para cada sonda adicionada.

### 3.4 Co-desnaturação

Aplicar 10 µl de sonda por campo de 22 x 22 mm. Tapar com lamela de vidro e vedar com Fixogum ou cimento de borracha. Desnaturar amostra e sonda num ThermoBrite (TS-01/02) a 75 ± 1 °C durante 5-10 minutos. Continuar com a **hibridação**.

### 3.5 Hibridação:

Incubar durante a noite a 37 ± 1 °C num ThermoBrite (TS-01/02) ou numa câmara humidificada.

### 3.6 Lavagem pós-hibridação:

1. Pré-aquecer 50 ml do tampão de lavagem I (0,4 x SSC/0,3% Igepal) (LK-102) a 72 °C
2. Retirar o cimento de borracha.
3. Colocar lâminas no tampão de lavagem II de 50 ml (2 x SSC/0,1% Igepal) (LK-103); incubar durante 2 minutos à RT. Fazer deslizar os cliques da tampa. Reutilizar o tampão de lavagem apenas uma vez para um total de 10 lâminas.
4. Colocar lâminas no tampão de lavagem I de 50 ml pré-aquecido (0,4 x SSC/0,3% Igepal) (LK-102); incubar durante 2 minutos a 72 °C (± 1 °C) sem agitar. Reutilizar o tampão de lavagem apenas uma vez para um total de 10 lâminas.
5. Colocar lâminas no tampão de lavagem II de 50 ml recente (2 x SSC/0,1% Igepal) (LK-103); incubar durante 1 minuto à RT sem agitar. Reutilizar o tampão de lavagem apenas uma vez para um total de 10 lâminas.
6. Desidratar em etanol recente a 70%, 85% e 100% durante 1 minuto cada à RT. Secar ao ar à RT e prosseguir para a **coloração de contraste**.

### 3.7 Coloração de contraste:

Aplicar 15 µl de coloração de contraste DAPI (DAPI/Antifade 0,1 µg/ml) (LK-095B) ou uma diluição deste utilizando diluente de coloração de contraste (LK097B) e aplicar a lamela de vidro. Prosseguir com a microscopia.

### 3.8 Recomendações de processo:

As lâminas citológicas corretamente preparadas e pré-tratadas são fundamentais para obter um resultado FISH com êxito. O pré-tratamento em excesso ou insuficiente não influencia apenas a morfologia, mas também a força do sinal (e, portanto, a facilidade de análise).

A temperatura e concentração do tampão (estringência) de hibridação e lavagem são importantes, pois uma estringência mais baixa pode resultar numa ligação não específica da sonda a outras sequências e um estringência mais alta pode resultar numa falta de sinal. A desnaturação incompleta do ADN alvo pode resultar na falta de sinal.

### 3.9 Recomendações para microscopia de fluorescência

Para uma visualização ótima, utilizar um microscópio bem conservado e regularmente calibrado, equipado com uma lâmpada de mercúrio de 100W ou outra fonte de luz apropriada (por exemplo, lâmpada de halogeneto metálico (120W de célula X) ou fontes de luz à base de LED) e uma objetiva de fluorescência de 63x ou 100x. Os filtros de passagem de banda triplos (DAPI/FITC/Cy3 ou DAPI/FITC/TRITC) são utilizados para ver várias cores; os filtros de passagem de banda simples são utilizados para uma visualização individual a cores. Consultar o website da Leica para obter recomendações sobre filtros apropriados para cada marca de microscópio: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Intervalo adequado de excitação e emissão para os fluoróforos Kreatech™:

| Fluoróforo          | Excitação   | Emissão     |
|---------------------|-------------|-------------|
| DAPI                | 360 ± 20 nm | 460 ± 30 nm |
| PlatinumBright™ 415 | 429 ± 15 nm | 470 ± 15 nm |

|                            |             |             |
|----------------------------|-------------|-------------|
| <b>PlatinumBright™ 495</b> | 495 ± 10 nm | 517 ± 10 nm |
| <b>PlatinumBright™ 550</b> | 550 ± 10 nm | 580 ± 10 nm |

A banda larga mostrada corresponde a 80% do máximo de excitação/emissão do fluoróforo)

#### 4 Desempenho analítico

O desempenho do kit de reagentes FISH foi estabelecido utilizando os procedimentos descritos neste manual de instruções para utilização. As modificações a estes procedimentos podem alterar a realização do ensaio. Quaisquer desvios aos protocolos instruídos devem ser validados pelo utilizador. Os utilizadores que se desviem dos procedimentos de teste recomendados devem assumir a responsabilidade pela interpretação dos resultados do paciente nestas circunstâncias. Os tempos de protocolo podem variar devido à variação na fixação e processamento.

#### 5 Materiais necessários e fornecidos com o produto

| Código n.º      | Descrição                                                | Volume     |
|-----------------|----------------------------------------------------------|------------|
| <b>LK-095B</b>  | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml<br>(Coloração de contraste DAPI) | 0,5 ml     |
| <b>LK-097B</b>  | Antifade<br>(Diluyente de coloração de contraste)        | 0,5 ml     |
| <b>LK-102B*</b> | 0,4 x SSC/0,3% Igepal<br>(Tampão de lavagem I)           | 250 ml     |
| <b>LK-103B*</b> | 2 x SSC/0,1% Igepal<br>(Tampão de lavagem II)            | 2 x 250 ml |
| <b>LK-105B</b>  | 2 x SSC/0,5% Igepal                                      | 250 ml     |

\*Tenha em conta que os produtos LK-102 e LK-103 que contêm o mesmo número, mas letras diferentes, são idênticos, exceto em relação ao volume. A=100 ml, B=250 ml

#### 6 Materiais necessários e não fornecidos com o produto

- Etanol a 100%, 85% e 70%
- Fixogum (LK-071A) ou cimento de borracha
- Placa quente com controlo preciso da temperatura até 75 °C ou ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Incubadora com intervalo preciso de temperatura de 37 °C
- Banho-maria com intervalo preciso de temperatura de 37 - 75 °C
- Jarras de Coplin de plástico e vidro
- Micropipetas variáveis (1 µl - 200 µl)
- Microscópio de fluorescência equipado com filtros adequados (consultar recomendações sobre microscopia de fluorescência).

#### 7 Advertências e precauções

- Qualquer incidente grave que tenha ocorrido em relação ao dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e à autoridade competente do Estado-membro em que o utilizador e/ou o paciente reside.
- Para uso em diagnóstico in vitro. Apenas para utilização profissional em laboratório. Em caso de emergência, verificar as fichas FDS para obter informações de segurança.
- O kit destina-se a utilizar apenas antes e depois do procedimento FISH de ADN em células em metáfase e interfase de culturas de sangue periférico ou preparações diretas preparadas por métodos citogenéticos padrão.
- Apenas para pré-tratamento e hibridação FISH não automatizados.
- Todos os materiais devem ser eliminados de acordo com as diretrizes da sua instituição quanto à eliminação de resíduos hospitalares.
- Recomenda-se a utilização do kit de digestão FISH KBI-60006 no caso de serem utilizadas ou esperadas amostras mais antigas, lâminas com fundo citoplasmático ou amostras difíceis.
- Para tecidos impregnados em parafina, recomenda-se a utilização dos kits de pré-tratamento KBI-60004 ou KBI-60007.

Etiquetagem de acordo com o Regulamento (CE) n.º 1272/2008

| Código n.º | Descrição | Palavra-sinal | Pictograma | Advertências de perigo |
|------------|-----------|---------------|------------|------------------------|
|------------|-----------|---------------|------------|------------------------|

|                |                                                          |             |                                                                                    |                     |
|----------------|----------------------------------------------------------|-------------|------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <b>LK-095B</b> | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml<br>(Coloração de contraste DAPI) | Advertência |  | H315, H319,<br>H335 |
| <b>LK-097B</b> | Antifade<br>(Diluyente de coloração de contraste)        | Advertência |  | H315, H319,<br>H335 |
| <b>LK-102B</b> | 0,4 x SSC/0,3% Igepal<br>(Tampão de lavagem I)           | N.D.        | N.D.                                                                               | N.D.                |
| <b>LK-103B</b> | 2 x SSC/0,1% Igepal<br>(Tampão de lavagem II)            | N.D.        | N.D.                                                                               | N.D.                |
| <b>LK-105B</b> | 2 x SSC/0,5% Igepal                                      | N.D.        | N.D.                                                                               | N.D.                |

#### Advertência(s) de perigo

H315 – Provoca irritação cutânea.

H319 – Provoca irritação ocular grave.

H335 – Pode provocar irritação das vias respiratórias.

#### Prevenção de acordo com as recomendações de prudência

P271 – Utilizar apenas ao ar livre ou em locais bem ventilados.

P261 – Evitar respirar névoas/vapores/aerossóis.

P264 – Lavar cuidadosamente todas as áreas externas do corpo que foram expostas após o manuseamento.

P280 - Utilizar luvas de proteção, vestuário de proteção, proteção ocular e proteção facial.

#### Resposta de acordo com as recomendações de prudência

P305+P351+P338 – SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Lavar cuidadosamente com água durante vários minutos. Retirar as lentes de contacto, se as usar e se for fácil. Continuar a passar os olhos por água.

P312 – Entrar em contacto com um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico/socorrista no caso de se sentir indisposto.

P337+P313 – Se a irritação ocular persistir: Consultar um médico.

P302+P352 – SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: Lavar abundantemente com água e sabão.

P304+P340 – EM CASO DE INALAÇÃO: Retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração.

P332+P313 – Em caso de irritação cutânea: Consultar um médico.

P362+P364 – Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.

#### Advertências de perigo suplementares: nenhuma

Limitado a utilizadores profissionais em laboratório

#### Explicação dos símbolos

|                                                                                     |                                                |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
|  | Contém substâncias perigosas                   |
|  | País de fabrico                                |
|  | Não utilizar se a embalagem estiver danificada |

|                                                                                   |                                   |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
|  | Consultar a IdU eletrónica (eldU) |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|

## 8 Armazenamento e manuseamento de reagentes

Proteger a solução DAPI/Antifade da luz forte e direta. Armazenar a 2 - 8 °C. O produto não aberto mantém-se estável nestas condições até à data de validade indicada na etiqueta do frasco.

Voltar a colocar o reagente não diluído a 2 - 8 °C imediatamente após a utilização.

Após a abertura, os produtos ficam estáveis até 18 meses, mas nunca além do prazo de validade. Após este período, a utilização das soluções pode resultar em resultados de qualidade reduzida.

## 9 Apoio técnico

O apoio técnico está disponível em [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) ou através do e-mail: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Contacte-nos caso não obtenha os resultados pretendidos ou se surgirem anomalias aquando da utilização deste produto.

Pode ser requerida uma cópia impressa em papel das IdU através de e-mail ao contactar: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



As eldU estão disponíveis noutras línguas que podem ser transferidas a partir de: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Serviço de apoio ao cliente

As sondas Kreatech podem ser encomendadas através do Serviço de apoio ao cliente da Leica, pelo número +31 20 6919181, ou encomendadas através do e-mail: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

## 11 Histórico

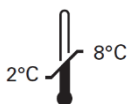
| Versão de IdU | Data de emissão | Alterações                                       |
|---------------|-----------------|--------------------------------------------------|
| 2,4           | 2016-SET-27     | Remover o lema "The pathology Company "          |
| 3,0           | Abril de 2022   | Atualização de acordo com os regulamentos de IVD |

RO

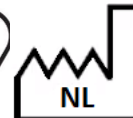
## FISH Reagent Kit

**REF** KBI-60005

Conține volum suficient pentru până la 25 sau 5 x 5 teste



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
Țările de Jos  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 Utilizare prevăzută/scop

Hibridizarea in situ a fluoresceinei (FISH) identifică sau etichetează secvențe genomice țintă, astfel încât locația acestora să poată fi studiată. Secvențele de ADN din probele corespunzătoare specifice cromozomilor sunt etichetate mai întâi cu molecule raportoare. Proba de ADN etichetată este apoi hibridizată la cromozomii metafazici sau la nucleole interfazice de pe o lamelă. După spălare, specimenul este verificat pentru prezența moleculelor raportoare, prin microscopie de fluorescență.

Pentru utilizare pe celulele metafazice și interfazice din culturi de sânge periferic sau preparate directe, obținute prin metode citogenetice standard.

Acest kit de pretratare este dezvoltat special pentru obținerea unor rezultate optime pe probe citologice PROASPĂT preparate.

Acest produs este destinat utilizării pentru diagnosticare in vitro.

### 2 Descrierea produsului

Acest kit de pretratare este dezvoltat special pentru hibridizări FISH manuale, pentru utilizare în pretratarea și digerarea enzimatică a celulelor metafazice și interfazice din culturi de sânge periferic sau preparate directe, obținute prin metode citogenetice standard înaintea procedurii de hibridizare FISH a ADN-ului. Acest kit este dezvoltat special pentru obținerea unor rezultate optime pe probe citologice PROASPĂT preparate. Utilizarea kitului va inversa fibrele reticulare din celule, va permeabiliza membrana celulară și va digera proteinele celulare pentru a facilita legarea probelor FISH cu ADN celular specific.

### 3 Instrucțiuni de utilizare

#### 3.1 Specimenele

Pentru utilizare pe celulele metafazice și interfazice din culturi de sânge periferic sau preparate directe, obținute prin metode citogenetice standard.

Acest kit de pretratare este dezvoltat special pentru obținerea unor rezultate optime pe probe citologice PROASPĂT preparate.

Analiza preliminară a specimenelor: Analiza preliminară a specimenelor joacă un rol principal în obținerea unei proceduri FISH reușite. Specimenul trebuie fixat, copt și pretrat corect, în conformitate cu un protocol bine stabilit. Fixarea excesivă, fixarea insuficientă sau pretratarea slabă a specimenului poate provoca eșecul procedurii FISH sau cel puțin reproductibilitate scăzută/intensitate scăzută a semnalului. Probele FISH Kreatech au fost testate pe nucleole metafazice/interfazice, derivate din sânge periferic în cultură și/sau măduvă osoasă. Pentru rezultate optime, lamelele trebuie depozitate în conformitate cu condițiile recomandate pentru depozitare și manipulare, consultați site-ul web Leica.

#### 3.2 Pretratarea

Protocolul următor este destinat utilizării a 5 lamele într-un borcan vertical Coplin de 50 ml.

1. Pretrați lamelele cu probe proaspăt preparate în 50 ml de 2 x SSC/0,5% Igepal (LK-105B) la 37 °C timp de 15 minute (min).

2. Deshidratați în etanol de 70 %, 85 % și 100 % timp de câte 1 minut. Uscați la aer. Treceți la **prepararea probelor**.

### 3.3 Prepararea probelor:

Probele FISH Kreatech™ sunt furnizate gata de utilizare (RtU). Probele FISH SE, ST și WC Kreatech™ sunt furnizate în concentrații 5x și trebuie diluate după cum urmează: 2  $\mu$ l conc. 5 x de probă în 8  $\mu$ l de FISH Hybridization Buffer (FHB sau WCB, furnizată împreună cu probele). Pentru combinarea mai multor probe cu conc. 5x, înlocuiți FISH Hybridization Buffer (FHB sau WCB) cu câte 2  $\mu$ l pentru fiecare probă adăugată.

### 3.4 Codenaturarea

Aplicați câte 10  $\mu$ l de probă per câmp de 22 x 22 mm. Acoperiți cu lamele de acoperire din sticlă și sigilați cu Fixogum sau ciment cauciucat. Denaturați proba și sonda pe un aparat ThermoBrite (TS-01/02) la  $75 \pm 1^\circ\text{C}$  timp de 5 - 10 min. Continuați cu **hibridizarea**.

### 3.5 Hibridizarea:

Incubați peste noapte la  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  într-un aparat ThermoBrite (TS-01/02) sau într-o cameră umidificată.

### 3.6 Spălarea post-hibridizare:

1. Preîncălziți 50 ml de Wash Buffer I (0,4 x SSC/0,3% Igepal) (LK-102) la  $72^\circ\text{C}$
2. Înlăturați cimentul cauciucat.
3. Amplasați lamelele în 50 ml de Wash Buffer II (2 x SSC/0,1 % Igepal) (LK-103), incubați timp de 2 min la TC. Înlăturați lamelele de acoperire. Utilizați soluția tampon de spălare o singură dată pentru 10 lamele în total.
4. Amplasați lamelele în 50 ml de Wash Buffer I (0,4 x SSC/0,3 % Igepal) (LK-102) preîncălzită, incubați timp de 2 min la  $72^\circ\text{C}$  ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) fără să agitați. Utilizați soluția tampon de spălare o singură dată pentru 10 lamele în total.
5. Amplasați lamelele în 50 ml de Wash Buffer II (2 x SSC/0,1 % Igepal) (LK-103) proaspătă, incubați timp de 1 min la TC, fără să agitați. Utilizați soluția tampon de spălare o singură dată pentru 10 lamele în total.
6. Deshidratați în etanol de 70 %, 85 % și 100 % proaspăt, incubați timp de câte 1 min la TC. Uscați la aer la TC și treceți la **contracolorație**.

### 3.7 Contracolorația:

Aplicați 15  $\mu$ l DAPI counterstain (DAPI/Antifade 0,1  $\mu$ g/ml) (LK-095B) sau o diluție a acestei substanțe, folosind Counterstain Diluent (LK097B) și aplicați lamela de acoperire din sticlă. Treceți la microscopie.

### 3.8 Recomandări procedurale:

Lamelele citologice preparate și pretratate în mod optim sunt esențiale pentru obținerea unui rezultat FISH reușit. Pretratarea insuficientă sau excesivă nu influențează doar morfologia, ci și puterea semnalului (și, astfel, gradul de dificultate al analizei).

Temperatura și concentrația soluției tampon (stringența) pentru hibridizare și spălare sunt importante, deoarece o stringență redusă poate avea drept rezultat legarea nespecifică a probei de alte secvențe, iar o stringență mai mare poate avea drept rezultat o lipsă a semnalului. Denaturarea incompletă a ADN-ului țintă poate avea drept rezultat lipsa semnalului.

### 3.9 Recomandări pentru microscopia de fluorescență

Pentru o vizualizare optimă utilizați un microscop bine întreținut și calibrat cu regularitate, echipat cu o lampă cu mercur de 100 W sau altă sursă de lumină corespunzătoare (de exemplu, bec cu halogenuri metalice (120W X-cite) sau surse de lumină pe bază de LED) și un obiectiv fluorescent de 63x sau 100x. Filtrele „trece-bandă” triple (DAPI/FITC/Cy3 sau DAPI/FITC/TRITC) sunt utilizate pentru vizualizarea mai multor culori, iar filtrele „trece-bandă” simple sunt utilizate pentru vizualizarea fiecărei culori în parte. Consultați site-ul web Leica pentru recomandări cu privire la filtrele adecvate pentru fiecare marcă de microscop: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Intervalul adecvat de excitație și emisii pentru fluoroforii Kreatech™:

| Fluorofor | Excitație       | Emisie          |
|-----------|-----------------|-----------------|
| DAPI      | 360 $\pm$ 20 nm | 460 $\pm$ 30 nm |

|                            |             |             |
|----------------------------|-------------|-------------|
| <b>PlatinumBright™ 415</b> | 429 ± 15 nm | 470 ± 15 nm |
| <b>PlatinumBright™ 495</b> | 495 ± 10 nm | 517 ± 10 nm |
| <b>PlatinumBright™ 550</b> | 550 ± 10 nm | 580 ± 10 nm |

Lăţimea de bandă afişată corespunde unui procent de 80 % din excitaţia/emisia maximă a fluoroforului)

#### 4 Performanţa analitică

Performanţa FISH Reagent Kit fost stabilită prin utilizarea procedurilor descrise în această instrucţiune de utilizare. Modificările aduse acestor proceduri pot afecta performanţa analizei. Orice abateri de la protocoalele prezentate în instrucţiuni trebuie să fie validate de utilizator. Utilizatorii care se abat de la procedurile de testare recomandate trebuie să accepte responsabilitatea pentru interpretarea rezultatelor pacientului în aceste circumstanţe. Duratale protocoalelor pot varia din cauza variaţiilor procedurilor de fixare şi procesare.

#### 5 Materiale necesare şi furnizate împreună cu produsul

| Nr. cod         | Descriere                                   | Volum      |
|-----------------|---------------------------------------------|------------|
| <b>LK-095B</b>  | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI Counterstain) | 0,5 ml     |
| <b>LK-097B</b>  | Antifade (Counterstain Diluent)             | 0,5 ml     |
| <b>LK-102B*</b> | 0,4 x SSC/0,3 % Igepal (Wash Buffer I)      | 250 ml     |
| <b>LK-103B*</b> | 2 x SSC/0,1 % Igepal (Wash Buffer II)       | 2 x 250 ml |
| <b>LK-105B</b>  | 2 x SSC/0,5 % Igepal                        | 250 ml     |

\*Reţineţi că produsele LK-102 şi LK-103 care conţin acelaşi număr, dar litere diferite, sunt identice, cu excepţia volumului. A = 100 ml, B = 250 ml

#### 6 Materiale necesare şi nefurnizate împreună cu produsul

- Etanol 100 %, 85 % şi 70 %
- Fixogum (LK-071A) sau ciment cauciucat
- Fierbător cu control de precizie al temperaturii de până la 75 °C sau ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Incubator cu temperatură de precizie, de 37 °C
- Baie de spălare cu interval de precizie al temperaturii, cuprins între 37 şi 75 °C
- Borcane din plastic şi sticlă Coplin
- Micropipete cu volum variabil (1 - 200 µl)
- Microscop de fluorescenţă echipat cu filtre adecvate (consultaţi recomandările pentru microscopia de fluorescenţă).

#### 7 Avertismente şi precauţii

- Orice incident grav survenit în legătură cu dispozitivul trebuie raportat producătorului şi autorităţii competente din statul membru în care utilizatorul şi/sau pacientul îşi are domiciliul.
- Pentru diagnosticare in vitro. Numai pentru utilizare profesională în laborator. În situaţii de urgenţă, consultaţi fişele cu date de securitate (SDS) pentru informaţii de siguranţă.
- Kitul este destinat utilizării exclusive înainte şi după procedura FISH a ADN-ului pe celule metafazice şi interfazice din culturi de sânge periferic sau preparate directe, obţinute prin metode citogenetice standard.
- Exclusiv pentru proceduri manuale de pretratare şi hibridizare FISH.
- Toate materialele trebuie eliminate la deşuri, în conformitate cu instrucţiunile instituţiei dvs. privind eliminarea deşeurilor spitaliceşti.
- Se recomandă utilizarea KBI-60006 FISH Digestion Kit în cazul probelor mai vechi, al lamelelor cu fundal citoplasmatic sau dacă se utilizează sau se preconizează utilizarea unor probe dificile.
- Pentru ţesuturile încorporate în parafină, se recomandă utilizarea kiturilor de pretratare KBI-60004 sau KBI-60007.

Etichetare în conformitate cu Regulamentul (CE) nr. 1272/2008

| Nr. cod | Descriere | Cuvânt semnal | Pictogramă | Fraze de pericol |
|---------|-----------|---------------|------------|------------------|
|---------|-----------|---------------|------------|------------------|

|                |                                                |               |                                                                                   |                     |
|----------------|------------------------------------------------|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <b>LK-095B</b> | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml<br>(DAPI Counterstain) | Avertisment   |  | H315, H319,<br>H335 |
| <b>LK-097B</b> | Antifade<br>(Counterstain Diluent)             | Avertisment   |  | H315, H319,<br>H335 |
| <b>LK-102B</b> | 0,4 x SSC/0,3 % Igepal<br>(Wash Buffer I)      | Nu se aplică. | Nu se aplică.                                                                     | Nu se aplică.       |
| <b>LK-103B</b> | 2 x SSC/0,1 % Igepal<br>(Wash Buffer II)       | Nu se aplică. | Nu se aplică.                                                                     | Nu se aplică.       |
| <b>LK-105B</b> | 2 x SSC/0,5 % Igepal                           | Nu se aplică. | Nu se aplică.                                                                     | Nu se aplică.       |

#### Frază(e) de pericol

H315 – Provoacă iritarea pielii.

H319 – Provoacă o iritare gravă a ochilor.

H335 – Poate provoca iritarea căilor respiratorii.

#### Frază(e) de precauție – prevenție

P271 – A se utiliza numai în aer liber sau în spații bine ventilate.

P261 – Evitați să inspirați ceața/vaporii/spray-ul.

P264 – Spălați-vă toate suprafețele exterioare expuse ale corpului bine după utilizare.

P280 – Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței.

#### Frază(e) de precauție – reacție

P305+P351+P338 – ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: Clătiți cu atenție cu apă, timp de mai multe minute.

Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți.

P312 – Sunați la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ/un medic/un prim respondent/dacă nu vă simțiți bine.

P337+P313 – Dacă iritarea ochilor persistă: Consultați medicul.

P302+P352 – ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA: Spălați cu multă apă/săpun.

P304+P340 – ÎN CAZ DE INHALARE: Transportați victima la aer liber și mențineți-o în stare de repaus, într-o poziție confortabilă pentru respirație.

P332+P313 – În caz de iritare a pielii: Consultați medicul.

P362+P364 – Scoateți îmbrăcăminte contaminată și spălați-o înainte de reutilizare.

Fraze de pericol suplimentare: nu există

Restricționat la utilizatori profesioniști din laborator

#### Explicarea simbolurilor

|                                                                                     |                                                |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
|  | Conține substanțe periculoase                  |
|  | Țara de fabricație                             |
|  | A nu se utiliza dacă ambalajul este deteriorat |

|                                                                                   |                                                                   |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
|  | Consultați instrucțiunile de utilizare în format electronic (eIU) |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|

## 8 Depozitarea și manipularea reactivilor

Protejați DAPI/Antifade împotriva luminii puternice și directe. A se depozita la 2–8 °C. Produsul nedeschis este stabil în aceste condiții până la data expirării indicată pe eticheta flaconului.

A se readuce reactivul nediluat la 2-8 °C imediat după utilizare.

După deschidere, produsele sunt stabile timp de maximum 18 luni, dar nu mai mult de data expirării. După această perioadă, utilizarea soluțiilor poate genera rezultate sub nivelul optim.

## 9 Asistență tehnică

Asistența tehnică este disponibilă la [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) sau prin e-mail: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Vă rugăm să ne contactați dacă nu obțineți rezultatele dorite sau dacă apar anomalii în utilizarea acestui produs.

Puteți solicita un exemplar tipărit pe hârtie al instrucțiunilor de utilizare, dacă trimiteți un e-mail la: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



Instrucțiunile de utilizare în format electronic (eIU) sunt disponibile și în alte limbi, care pot fi descărcate la adresa: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Serviciul pentru clienți

Probele Kreatech pot fi comandate prin intermediul Serviciului pentru clienți Leica, la +31 20 6919181 sau prin e-mail: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

## 11 Istoric

| Versiune IU | Data publicării | Modificări                                       |
|-------------|-----------------|--------------------------------------------------|
| 2,4         | 2016-SEP-27     | A fost eliminat sloganul „The pathology Company” |
| 3,0         | Aprilie 2022    | Actualizare în conformitate cu regulamentele IVD |

RU

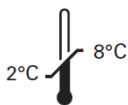
## Комплект реактивов «FISH Reagent Kit»

REF

KBI-60005

25 или 5x5 тестов

Содержит достаточный объем для проведения до



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
Нидерланды  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 Предусмотренное применение/назначение

Флуоресцентная гибридизация in situ (FISH) идентифицирует или маркирует целевые геномные последовательности для обеспечения возможности изучения их местоположения. Репортерные молекулы сначала отмечают последовательности ДНК из соответствующих хромосом-специфичных зондов. Затем меченый ДНК-зонд гибридизуют с метафазными хромосомами или интерфазными ядрами на предметном стекле. После промывания образец подвергают скринингу на репортерные молекулы с помощью флуоресцентной микроскопии.

Для использования на метафазных и интерфазных клетках из культур периферической крови или прямых препаратов, приготовленных традиционными цитогенетическими методами.

Данный комплект для предварительной обработки специально разработан для получения оптимальных результатов на СВЕЖЕПРИГОТОВЛЕННЫХ цитологических образцах.

Данный продукт предназначен для диагностики in vitro.

### 2 Описание продукта

Данный комплект для предварительной обработки предназначен для неавтоматической гибридизации FISH; он специально разработан для предварительной обработки и ферментативного расщепления метафазных и интерфазных клеток из культур периферической крови или прямых препаратов, приготовленных традиционными цитогенетическими методами перед процедурой гибридизации FISH ДНК. Данный комплект специально разработан для получения оптимальных результатов на СВЕЖЕПРИГОТОВЛЕННЫХ цитологических образцах. Использование комплекта изменит межмолекулярные поперечные сшивки в клетках, проницаемость клеточной мембраны и расщепление клеточных белков для облегчения связывания FISH-зондов со специфической клеточной ДНК.

### 3 Инструкция по применению

#### 3.1 Образцы

Для использования на метафазных и интерфазных клетках из культур периферической крови или прямых препаратов, приготовленных традиционными цитогенетическими методами.

Данный комплект для предварительной обработки специально разработан для получения оптимальных результатов на СВЕЖЕПРИГОТОВЛЕННЫХ цитологических образцах.

Подготовка образцов к анализу: Для получения успешной процедуры FISH важную роль играет подготовка к анализу. Образец необходимо правильно зафиксировать, состарить и предварительно обработать в соответствии с установленным протоколом. Чрезмерная фиксация, недостаточная фиксация или плохая предварительная обработка образца могут привести к ошибкам процедуры FISH или, как минимум, к низкой воспроизводимости/ интенсивности сигнала. Зонды Kreatech FISH были испытаны на метафазных/ интерфазных ядрах, полученных из культур периферической крови и/или костного мозга. Предметные стекла необходимо хранить в соответствии с рекомендуемыми условиями хранения и обращения для получения оптимальных результатов, см. веб-сайт Leica.

### 3.2 Предварительная обработка

Приведенный ниже протокол предназначен для использования 5 предметных стекол в вертикальной емкости Коплина объемом 50 мл.

1. Предварительно обработайте предметные стекла для свежеприготовленных образцов в 50 мл 2 x SSC/0,5 % Igepal (LK-105B) при 37 °C в течение 15 минут (мин).
2. Дегидратируйте в 70 %, 85 % и 100 % этаноле по 1 минуте каждый. Высушите на воздухе. Перейдите к **подготовке зонда**.

### 3.3 Подготовка зонда:

Зонды Kreatech™ FISH поставляются готовыми к применению (RtU). FISH-зоны SE, ST, и WC Kreatech™ поставляются в 5-кратной концентрации, их необходимо развести следующим образом: 2 мкл 5 x конц. Зонд в 8 мкл буфера для гибридизации FISH (FHB или WCB, поставляется с зондами). Чтобы совместить несколько 5 x конц. зондов, замените буфер для гибридизации FISH (FHB или WCB) на 2 мкл для каждого добавленного зонда.

### 3.4 Совместная денатурация

Нанесите 10 мкл зонда на поле размером 22x22 мм. Накройте покровным стеклом и заклейте Fixogum или резиновым клеем. Выполните денатурацию образца и зонда на ThermoBrite (TS-01/02) при 75±1 °C в течение 5-10 минут. Перейдите к **гибридизации**.

### 3.5 Гибридизация:

Инкубируйте всю ночь при 37±1 °C в ThermoBrite (TS-01/02) или во влажной камере.

### 3.6 Промывка после гибридизации:

1. Предварительно нагрейте 50 мл буферного раствора для промывки I (0,4 x SSC/0,3 % Igepal) (LK-102) до 72 °C
2. Удалите резиновый клей.
3. Поместите предметные стекла в 50 мл буферного раствора для промывки II (2 x SSC/0,1 % Igepal) (LK-103), инкубируйте в течение 2 минут при комнатной температуре. Сдвиньте зажимы. Повторно используйте буферный раствор для промывки только один раз, всего 10 предметных стекол.
4. Поместите предметные стекла в 50 мл предварительно нагретый буферный раствор для промывки I (0,4 x SSC/0,3 % Igepal) (LK-102), инкубируйте в течение 2 минут при 72 °C (+/- 1 °C) без возбуждения. Повторно используйте буферный раствор для промывки только один раз, всего 10 предметных стекол.
5. Поместите предметные стекла в 50 мл свежеприготовленный буферного раствора для промывки II (2 x SSC/0,1 % Igepal) (LK-103), инкубируйте в течение 1 минуты при комнатной температуре без возбуждения. Повторно используйте буферный раствор для промывки только один раз, всего 10 предметных стекол.
6. Дегидратируйте в свежеприготовленном 70 %, 85 % и 100 % этаноле, инкубируйте по 1 минуте при комнатной температуре. Высушите на воздухе при комнатной температуре и перейдите к **контрастному окрашиванию**.

### 3.7 Контрастное окрашивание:

Нанесите 15 мкл контрастного красителя DAPI (DAPI/Antifade 0,1 мкг/мл) (LK-095B) или разбавьте его с помощью разбавителя для контрастного красителя (LK097B) и установите покровное стекло. Перейдите к микроскопии.

### 3.8 Рекомендации по проведению процедуры:

Оптимально подготовленные и предварительно обработанные цитологические предметные стекла являются ключом к получению успешного результата FISH. Недостаточная или чрезмерная предварительная обработка влияет не только на морфологию, но и на мощность сигнала (и, следовательно, на простоту проведения анализа).

Температура и концентрация буфера (жесткость) гибридизации и промывки важны, поскольку низкая жесткость может привести к неспецифическому связыванию зонда с другими последовательностями,

а высокая жесткость может привести к отсутствию сигнала. Неполная денатурация ДНК-мишени может привести к отсутствию сигнала.

### 3.9 Рекомендации по флуоресцентной микроскопии

Для оптимальной визуализации используйте хорошо обслуживаемый и регулярно калибруемый микроскоп, оснащенный ртутной лампой мощностью 100 Вт или другим соответствующим источником света (например, металлогалогенной лампой (120 Вт X-cite) или источниками света на основе светодиодов) и флуоресцентным объективом с увеличением 63x или 100x. Тройные фильтры пропуска диапазона (DAPI/FITC/Cy3 или DAPI/FITC/TRITC) используют для просмотра нескольких цветов, одинарные фильтры пропуска диапазона используют для визуализации отдельных цветов. Для получения рекомендаций по соответствующим фильтрам для каждой марки микроскопа см. веб-сайт компании Leica: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Подходящий диапазон возбуждения и эмиссии для флуорофоров Kreatech™:

| Флуорофор           | Возбуждение | Эмиссия   |
|---------------------|-------------|-----------|
| DAPI                | 360±20 нм   | 460±30 нм |
| PlatinumBright™ 415 | 429±15 нм   | 470±15 нм |
| PlatinumBright™ 495 | 495±10 нм   | 517±10 нм |
| PlatinumBright™ 550 | 550±10 нм   | 580±10 нм |

Показанная ширина зоны соответствует 80 % максимального возбуждения/ эмиссии флуорофора)

## 4 Аналитические характеристики

Эффективность комплекта реактивов «FISH Reagent Kit» была установлена с использованием процедур, описанных в данной инструкции по использованию. Модификации этих процедур могут повлиять на эффективность проведения анализа. Любые отклонения от указанных в инструкциях протоколов должны быть валидированы пользователем. Пользователи, отклоняющиеся от рекомендованных процедур анализа, должны брать на себя ответственность за интерпретацию результатов исследований пациентов, выполненных в таких условиях. Продолжительность выполнения протокола может варьировать ввиду разнообразия способов обработки и фиксации.

## 5 Необходимые материалы, поставляемые с продуктом

| Код №    | Описание                                                    | Объем      |
|----------|-------------------------------------------------------------|------------|
| LK-095B  | DAPI/Antifade 0,1 мкг/мл<br>(Контрастный краситель DAPI)    | 0,5 мл     |
| LK-097B  | Antifade<br>(Разбавитель для контрастного красителя)        | 0,5 мл     |
| LK-102B* | 0,4 x SSC/0,3 % Igepal<br>(Буферный раствор для промывки I) | 250 мл     |
| LK-103B* | 2 x SSC/0,1% Igepal<br>(Буферный раствор для промывки II)   | 2 x 250 мл |
| LK-105B  | 2 x SSC/0,5 % Igepal                                        | 250 мл     |

\*Обратите внимание, что продукты LK-102 и LK-103, содержащие один и тот же номер, но разные буквы, идентичны, за исключением объема. A=100 мл, B=250 мл

## 6 Необходимые материалы, не поставляемые с продуктом

- Этанол 100 %, 85 % и 70 %
- Fixogum (LK-071A) или резиновый клей
- Нагревательная плита с точным контролем температуры до 75 °C или ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Инкубатор с точным диапазоном температур 37 °C
- Водяная баня с точным диапазоном температур 37-75 °C
- Пластиковые и стеклянные емкости Коплина
- Различные микропипетки (1-200 мкл)
- Флуоресцентный микроскоп с соответствующими фильтрами (см. рекомендации по флуоресцентной микроскопии).

## 7 Предупреждения и меры предосторожности

- В случае какого-либо серьезного инцидента с устройством, пользователь должен сообщить об инциденте производителю и компетентному органу государства-члена ЕС, в котором зарегистрирован пользователь и/или пациент.
- Для диагностики *in vitro*. Только для профессионального использования в лаборатории. В случае возникновения чрезвычайных ситуаций см. паспорт безопасности материала (SDS) для получения информации о технике безопасности.
- Комплект предназначен для использования только до и после FISH ДНК на метафазных и интерфазных клетках из культур периферической крови или прямых препаратов, приготовленных традиционными цитогенетическими методами.
- Только для неавтоматической предварительной обработки и гибридизации FISH.
- Все материалы следует утилизировать в соответствии с инструкциями вашего учреждения по утилизации медицинских отходов.
- Рекомендуется использовать комплект реактивов KBI-60006 «FISH Digestion kit» в случае, если используются или возможно используются старые образцы, предметные стекла с цитоплазматическим фоном или сложные образцы.
- Для тканей, залитых в парафин, рекомендуется использовать комплекты для предварительной обработки KBI-60004 или KBI-60007.

Маркировка в соответствии с Регламентом (ЕС) № 1272/2008

| Код №   | Описание                                                    | Сигнальное слово | Пиктограмма                                                                           | Характеристики опасностей |
|---------|-------------------------------------------------------------|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| LK-095B | DAPI/Antifade 0,1 мкг/мл<br>(Контрастный краситель DAPI)    | Осторожно!       |   | H315, H319, H335          |
| LK-097B | Antifade<br>(Разбавитель для контрастного красителя)        | осторожно!       |  | H315, H319, H335          |
| LK-102B | 0,4 x SSC/0,3 % Igepal<br>(Буферный раствор для промывки I) | н.д.             | н.д.                                                                                  | н.д.                      |
| LK-103B | 2 x SSC/0,1% Igepal<br>(Буферный раствор для промывки II)   | н.д.             | н.д.                                                                                  | н.д.                      |
| LK-105B | 2 x SSC/0,5 % Igepal                                        | н.д.             | н.д.                                                                                  | н.д.                      |

### Характеристики опасностей

H315 — Вызывает раздражение кожи.

H319 — Вызывает серьезное раздражение глаз.

H335 — Может вызывать раздражение дыхательных путей

### Меры по предупреждению опасности:

P271 — Использовать только на открытом воздухе или в хорошо проветриваемом помещении.

P261 — Избегать вдыхания тумана/паров/аэрозоля.

P264 — После работы тщательно вымойте все открытые внешние участки тела.

P280 — Используйте защитные перчатки, защитную одежду, защиту глаз и лица.

### Меры по предупреждению опасности:

P305+P351+P338 — ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: В течение нескольких минут тщательно промойте водой. Если вы носите контактные линзы, по возможности снимите их. Продолжайте промывать глаза водой.

P312 — При недомогании немедленно обратитесь в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР/к врачу/в службу скорой помощи за медицинской помощью.

P337+P313 — Если раздражение глаз не проходит: обратитесь за медицинской помощью.

P302+P352 — ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промойте большим количеством воды с мылом.

R304+P340 — ПРИ ВДЫХАНИИ: Переместите пострадавшего на свежий воздух и обеспечьте комфортные условия для дыхания.  
 R332+P313 — В случае возникновения раздражения кожи: обратитесь за медицинской помощью.  
 R362-P364 — Снимите загрязненную одежду и выстирайте перед повторным использованием.

Дополнительные характеристики опасностей: нет  
 Только для профессиональных пользователей лаборатории

#### Объяснение символов

|                                                                                    |                                          |
|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
|   | Содержит опасные вещества                |
|   | Страна производства                      |
|   | Не используйте, если упаковка повреждена |
|  | См. электронный документ IfU (elfU)      |

## 8 Хранение реактивов и обращение с ними

Следует защищать DAPI/Antifade от яркого и прямого света. Хранить при температуре 2-8 °С. В этих условиях закрытая продукция остается стабильной до истечения срока годности, который указан на этикетке флакона.

Оставшиеся неразбавленные реактивы следует немедленно вернуть на хранение при температуре 2-8 °С.

После открытия продукты стабильны в течение до 18 месяцев, но не дольше срока годности. По истечении этого периода использование растворов может привести к не оптимальным результатам.

## 9 Техническая поддержка

Техническая поддержка доступна по адресу [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) или эл. почте: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Свяжитесь с нами, если вы не получили желаемые результаты или вы столкнулись с какими-либо аномалиями при использовании этого продукта.

Печатную копию IfU можно запросить по электронной почте, обратившись по адресу: [LBSAMS-IfU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IfU@leicabiosystems.com)



Документ elfU доступен на дополнительных языках, его можно загрузить с: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Служба работы с покупателями

Зонды Kreatech можно заказать через службу работы с покупателями компании Leica по телефону +31 20 6919181 или по эл. почте: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

## 11 История изменений

| Версия IfU | Дата выпуска        | Изменения                                                       |
|------------|---------------------|-----------------------------------------------------------------|
| 2.4        | 27 сентября 2016 г. | Удалить слоган «Поставщик решений для лабораторной диагностики» |

**3.0**

апрель  
2022 г.

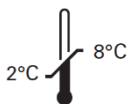
Обновить в соответствии с требованиями к диагностике in-vitro

SK

## Súprava FISH Reagent Kit

**REF** KBI-60005

Obsah postačuje na 25 alebo 5 x 5 testov



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
Holandsko  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 Zamýšľané použitie/účel

Fluorescenčná in situ hybridizácia (FISH) identifikuje alebo označuje cieľové genómové sekvencie, aby bolo možné skúmať ich umiestnenie. DNA sekvencie z príslušných chromozómov špecifických sond sa najprv označia reportérovými molekulami. Označená sonda DNA sa potom hybridizuje na metafázové chromozómy alebo interfázové jadrá na sklíčku. Po premytí sa pomocou fluorescenčnej mikroskopie skontroluje vo vzorke prítomnosť reportérových molekúl.

Na použitie na metafázových a interfázových bunkách z kultúr periférnej krvi alebo priamych preparátov pripravených štandardnými cytogenetickými metódami.

Táto súprava na predprípravu je špeciálne vyvinutá na získanie optimálnych výsledkov z ČERSTVO pripravených cytologických vzoriek.

Tento produkt je určený na diagnostické použitie in vitro.

### 2 Opis produktu

Táto súprava na predprípravu pre neautomatizované FISH hybridizácie je špeciálne vyvinutá na použitie na predprípravu a enzýmové štiepenie metafázových a interfázových buniek z kultúr periférnej krvi alebo priamych preparátov pripravených štandardnými cytogenetickými metódami pred postupom DNA FISH hybridizácie. Táto súprava je špeciálne vyvinutá na získanie optimálnych výsledkov z ČERSTVO pripravených cytologických vzoriek. Použitím súpravy sa zvrátia krížové väzby v bunkách, permeabilizuje sa bunková membrána a naštiepia sa bunkové proteíny, aby sa uľahčila väzba FISH sond so špecifickou bunkovou DNA.

### 3 Návod na použitie

#### 3.1 Vzorky

Na použitie na metafázových a interfázových bunkách z kultúr periférnej krvi alebo priamych preparátov pripravených štandardnými cytogenetickými metódami.

Táto súprava na predprípravu je špeciálne vyvinutá na získanie optimálnych výsledkov z ČERSTVO pripravených cytologických vzoriek.

Vzorky pred analýzou: Pre úspešnú FISH zohráva dôležitú úlohu príprava pred analýzou. Vzorka sa má podľa osvedčeného protokolu správne fixovať, dozrieť a predpraviť. Nadmerná fixácia, nedostatočná fixácia alebo nedostatočná predpríprava vzorky môže mať za následok neúspešný postup FISH alebo prinajmenšom nízku reprodukovateľnosť/intenzitu signálu. FISH sondy Kreatech boli testované na metafázových/interfázových jadrách získaných z kultivovanej periférnej krvi a/alebo kostnej drene. Na dosiahnutie optimálnych výsledkov sa majú sklíčka skladovať podľa odporúčaných podmienok skladovania a manipulácie, pozrite si webovú lokalitu spoločnosti Leica.

#### 3.2 Predpríprava

Nižšie uvedený protokol sa vzťahuje na použitie 5 sklíčok vo vertikálnej sklenej nádobe typu Coplin s objemom 50 ml.

1. Predprípravte čerstvo pripravené sklíčka so vzorkou v 50 ml 2 x SSC/0,5 % Igepal (LK-105B) pri 37 °C počas 15 minút (min).
2. Dehydratujte v 70 %, 85 % a 100 % etanole, zakaždým na 1 minútu. Vysušte na vzduchu. Prejdite na časť **Príprava sondy**.

### 3.3 Príprava sondy:

FISH sondy Kreatech™ sa dodávajú pripravené na použitie (RtU). FISH sondy SE, ST a WC Kreatech™ sa dodávajú 5x koncentrované a musia sa riediť takto: 2 µl 5x koncentrovanej sondy v 8 µl FISH hybridizačného pufru (FHB alebo WCB, dodávané so sondami). Ak chcete skombinovať viacero 5x koncentrovaných sond, nahraďte FISH hybridizačný pufer (FHB alebo WCB) za 2 µl pre každú pridanú sondu.

### 3.4 Spoločná denaturácia

Aplikujte 10 µl sondy na pole 22 x 22 mm. Zakryte skleneným krycím sklíčkom a utesnite prípravkom Fixogum alebo gumovým cementom. Vzorku a sondu denaturujte v zariadení ThermoBrite (TS-01/02) pri teplote 75 ±1 °C počas 5 – 10 min. Prejdite na časť **Hybridizácia**.

### 3.5 Hybridizácia:

Inkubujte cez noc pri teplote 37 ±1 °C v zariadení ThermoBrite (TS-01/02) alebo vo zvlhčenej komore.

### 3.6 Premývanie po hybridizácii:

1. Zohrejte 50 ml premývacieho pufru I (0,4 x SSC/0,3 % Igepal) (LK-102) na 72 °C.
2. Odstráňte gumový cement.
3. Vložte sklíčka do 50 ml premývacieho pufru II (2 x SSC/0,1 % Igepal) (LK-103) a 2 min inkubujte pri RT. Odstráňte krycie sklíčka. Premývací pufer použite opakovane len raz na celkovo 10 sklíčok.
4. Vložte sklíčka do 50 ml vopred zohriateho premývacieho pufru I (0,4 x SSC/0,3 % Igepal) (LK-102) a 2 min inkubujte pri 72 °C (+1 °C) bez miešania. Premývací pufer použite opakovane len raz na celkovo 10 sklíčok.
5. Vložte sklíčka do 50 ml čerstvého premývacieho pufru II (2 x SSC/0,1 % Igepal) (LK-103) a 1 min inkubujte pri RT bez miešania. Premývací pufer použite opakovane len raz na celkovo 10 sklíčok.
6. Dehydratujte v čerstvom 70 %, 85 % a 100 % etanole, zakaždým na 1 min pri RT. Vysušte na vzduchu pri RT a prejdite na časť **Kontrastné farbenie**.

### 3.7 Kontrastné farbenie:

Aplikujte 15 µl kontrastného farbiva DAPI (DAPI/Antifade 0,1 µg/ml) (LK-095B) alebo jeho roztoku zriedeného pomocou riediaceho roztoku kontrastného farbiva (LK097B) a priložte sklenené krycie sklíčko. Preparát vyšetrite pod mikroskopom.

### 3.8 Odporúčania týkajúce sa postupu:

Kľúčom k získaniu úspešného výsledku FISH sú optimálne pripravené a vopred ošetrované cytologické preparáty. Nedostatočná alebo nadmerná predpríprava ovplyvňuje nielen morfológiu, ale aj silu signálu (a tým aj jednoduchosť analýzy).

Dôležité sú teplota a koncentrácia pufru (stringentnosť) hybridizácie a premývania, pretože nižšia stringentnosť môže mať za následok nešpecifickú väzbu sondy na iné sekvencie a vyššia stringentnosť môže mať za následok nedostatočný signál. Neúplná denaturácia cieľovej DNA môže mať za následok nedostatočný signál.

### 3.9 Odporúčania týkajúce sa fluorescenčnej mikroskopie

Na optimálnu vizualizáciu použite dobre udržiavaný a pravidelne kalibrovaný mikroskop vybavený 100 W ortuťovou lampou alebo iným vhodným zdrojom svetla (napr. halogenidovou žiarovkou (120 W X-cite) alebo zdrojom svetla na báze LED) a fluorescenčným objektívom so 63x alebo 100x zväčšením. Na zobrazenie viacerých farieb sa používajú trojpásmové filtre (DAPI/FITC/Cy3 alebo DAPI/FITC/TRITC), na vizualizáciu jednotlivých farieb sa používajú jednopásmové filtre. Odporúčania týkajúce sa vhodných filtrov pre jednotlivé značky mikroskopov nájdete na webovej lokalite spoločnosti Leica: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>.

Vhodný rozsah excitácie a emisie pre fluorofóry Kreatech™:

| Fluorofór           | Excitácia  | Emisia     |
|---------------------|------------|------------|
| DAPI                | 360 ±20 nm | 460 ±30 nm |
| PlatinumBright™ 415 | 429 ±15 nm | 470 ±15 nm |
| PlatinumBright™ 495 | 495 ±10 nm | 517 ±10 nm |
| PlatinumBright™ 550 | 550 ±10 nm | 580 ±10 nm |

Zobrazená šírka pásma zodpovedá 80 % maximálnej hodnoty excitácie/emisie fluorofóru)

#### 4 Analytický výkon

Výkon súpravy FISH Reagent Kit sa stanovil pomocou postupov opísaných v tomto návode na použitie. Úpravy týchto postupov môžu zmeniť výkon testu. Akékoľvek odchýlky od uvedených postupov musí overiť používateľ. Používatelia, ktorí sa odchýlia od odporúčaných testovacích postupov, musia akceptovať zodpovednosť za interpretáciu výsledkov pacienta za týchto okolností. Časy podľa protokolov sa môžu líšiť z dôvodu odlišností vo fixácii a spracovaní.

#### 5 Požadované materiály, ktoré sa dodávajú s produktom

| Č. kódu: | Opis                                              | Objem      |
|----------|---------------------------------------------------|------------|
| LK-095B  | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (kontrastné farbivo DAPI) | 0,5 ml     |
| LK-097B  | Antifade (riediaci roztok kontrastného farbiva)   | 0,5 ml     |
| LK-102B* | 0,4 x SSC/0,3 % Igepal (premývací pufer I)        | 250 ml     |
| LK-103B* | 2 x SSC/0,1 % Igepal (premývací pufer II)         | 2 x 250 ml |
| LK-105B  | 2 x SSC/0,5 % Igepal                              | 250 ml     |

\*Upozorňujeme, že výrobky LK-102 a LK-103 obsahujúce rovnaké číslo, ale rôzne písmená, sú okrem objemu identické. A = 100 ml, B = 250 ml

#### 6 Požadované materiály, ktoré sa nedodávajú s produktom

- 100 %, 85 % a 70 % etanol
- Fixogum (LK-071A) alebo gumový cement
- Horúca platnička s presnou reguláciou teploty do 75 °C alebo zariadenie ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Inkubátor s presným rozsahom teploty 37 °C
- Vodný kúpeľ s presným rozsahom teploty 37 – 75 °C
- Plastové a sklenené nádoby typu Coplin
- Rôzne mikropipety (1 µl – 200 µl)
- Fluorescenčný mikroskop vybavený vhodnými filtrami (pozrite si odporúčania týkajúce sa fluorescenčnej mikroskopie).

#### 7 Varovania a bezpečnostné opatrenia

- Každá vážna nehoda, ktorá sa vyskytne v súvislosti s pomôckou, sa nahlási výrobcovi a príslušnému orgánu členského štátu, v ktorom používateľ a/alebo pacient sídli.
- Na diagnostické použitie in vitro. Len na profesionálne laboratórne použitie. V prípade mimoriadnych udalostí si pozrite bezpečnostné informácie v kartách bezpečnostných údajov.
- Súprava je určená na použitie len pred vykonaním a po vykonaní DNA FISH na metafázových a interfázových bunkách z kultúr periférnej krvi alebo priamych preparátov pripravených štandardnými cytogenetickými metódami.
- Len na neautomatizovanú FISH predprípravu a hybridizáciu.
- Všetky materiály sa majú likvidovať v súlade s pokynmi vašej inštitúcie na likvidáciu nemocničného odpadu.
- V prípade, že sa používajú alebo sa predpokladá, že sa použijú staršie vzorky, preparáty s cytoplazmatickým pozadím alebo náročné vzorky, odporúča sa používať súpravu KBI-60006 FISH Digestion Kit.
- V prípade tkanív zaliatych do parafínu sa odporúča použiť súpravu na predprípravu KBI-60004 alebo KBI-60007.

Označovanie podľa nariadenia (ES) č. 1272/2008

| Č. kódu: | Opis | Signálne slovo | Piktogram | Výstražné upozornenia |
|----------|------|----------------|-----------|-----------------------|
|----------|------|----------------|-----------|-----------------------|

|                |                                                      |                |                                                                                    |                    |
|----------------|------------------------------------------------------|----------------|------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| <b>LK-095B</b> | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml<br>(kontrastné farbivo DAPI) | Varovanie      |  | H315, H319<br>H335 |
| <b>LK-097B</b> | Antifade<br>(riediaci roztok kontrastného farbiva)   | Varovanie      |  | H315, H319<br>H335 |
| <b>LK-102B</b> | 0,4 x SSC/0,3 % Igepal<br>(premývací pufer I)        | neuplatňuje sa | neuplatňuje sa                                                                     | neuplatňuje sa     |
| <b>LK-103B</b> | 2 x SSC/0,1 % Igepal<br>(premývací pufer II)         | neuplatňuje sa | neuplatňuje sa                                                                     | neuplatňuje sa     |
| <b>LK-105B</b> | 2 x SSC/0,5 % Igepal                                 | neuplatňuje sa | neuplatňuje sa                                                                     | neuplatňuje sa     |

#### Výstražné upozornenia

H315 – Dráždi kožu.

H319 – Spôsobuje vážne podráždenie očí.

H335 – Môže spôsobiť podráždenie dýchacích ciest.

#### Preventívne bezpečnostné upozornenia

P271 – Používajte iba na voľnom priestranstve alebo v dobre vetranom priestore.

P261 – Zabráňte vdychovaniu hmly/pár/aerosólov.

P264 – Po manipulácii starostlivo umyte všetky odkryté vonkajšie časti tela.

P280 – Noste ochranné rukavice, ochranný odev, ochranné okuliare a ochranu tváre.

#### Bezpečnostné upozornenia pri účinku

P305 + P351 + P338 – PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Opatrne niekoľko minút oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.

P312 – Pri zdravotných problémoch volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára/poskytovateľa prvej pomoci.

P337 + P313: Ak podráždenie očí pretrváva: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

P302 + P352 – PRI KONTAKTE S POKOŽKOU: Umyte veľkým množstvom vody a mydla.

P304 + P340 – PRI VDÝCHNUTÍ: Presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať.

P332 + P313: Ak sa prejaví podráždenie pokožky: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

P362 + P364 – Kontaminovaný odev vyzlečte a pred ďalším použitím vyperte.

Doplňkové výstražné upozornenia: žiadne

Určené iba pre laboratórnych odborníkov

#### Vysvetlenie symbolov

|                                                                                     |                                    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
|  | Obsahuje nebezpečné látky          |
|  | Krajina výroby                     |
|  | Nepoužívajte, ak je obal poškodený |

|                                                                                   |                                                             |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
|  | <p>Preštudujte si elektronický návod na použitie (elfU)</p> |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|

## 8 Uskladnenie činidiel a manipulácia s nimi

Chráňte DAPI/Antifade pred silným a priamym svetlom. Skladujte pri teplote 2 – 8 °C. Za týchto podmienok nedôjde k významnej strate účinnosti neotvoreného produktu do dátumu expirácie, ktorý sa uvádza na štítku fľaštičky.

Okamžite po použití vráťte nezriedené činidlo do teploty 2 – 8 °C.

Po otvorení sú produkty stabilné až 18 mesiacov, ale nikdy nie dlhšie ako do dátumu expirácie. Po uplynutí tejto doby môže mať použitie roztokov za následok suboptimálne výsledky.

## 9 Technická pomoc

Technická pomoc je k dispozícii na stránke [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) alebo prostredníctvom e-mailu: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Ak sa pri používaní tohto produktu nedosiahnu požadované výsledky alebo sa objavia akékoľvek anomálie, kontaktujte nás.

Papierovú vytlačenú kópiu IfU si môžete vyžiadať e-mailom na adrese: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



Elektronická verzia IfU je k dispozícii v ďalších jazykoch a môžete si ju stiahnuť na stránke: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Zákaznícky servis

Sondy Kreatech si môžete objednať prostredníctvom zákazníckeho servisu Leica +31 20 6919181 alebo e-mailom: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

## 11 História

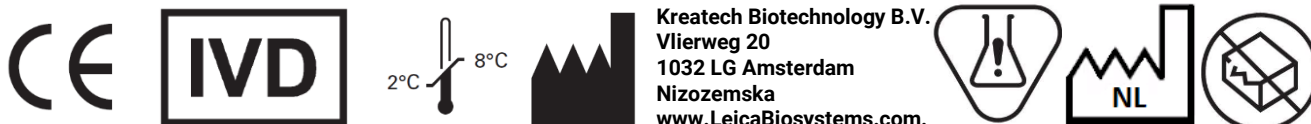
| Verzia IfU | Dátum vydania | Zmeny                                        |
|------------|---------------|----------------------------------------------|
| 2,4        | 2016-SEP-27   | Odstránenie sloganu „Patologická spoločnosť“ |
| 3,0        | Apríla 2022   | Aktualizácia v súlade s IVD nariadeniami     |

SL

## FISH Reagent Kit

**REF** KBI-60005

Vsebuje zadostno količino za do 25 oziroma 5x5 testov



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
Nizozemska  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

### 1 Predvidena uporaba/namen

Fluorescenčna in situ hibridizacija (FISH) določa ali označuje ciljne genomske sekvence, da je možno proučevati njihovo lokacijo. Poročevalske molekule najprej označijo zaporedja DNK iz ustreznih sond, specifičnih za kromosome. Označena sonda z DNK je nato hibridizirana v metafazne kromosome ali interfazna jedra na preparatu. Po čiščenju se primerek preseja s fluorescenčno mikroskopijo za poročevalske molekule.

Za uporabo metafaznih in interfaznih celic iz kultur periferne krvi oziroma na direktnih preparatih, ki se pripravijo s standardnimi citogenetskimi metodami.

Ta komplet za predhodno obdelavo je posebej razvit za optimalne rezultate na SVEŽE pripravljenih citoloških vzorcih.

Ta izdelek je namenjen za diagnostično uporabo in vitro.

### 2 Opis izdelka

Ta komplet za predhodno obdelavo je namenjen neavtomatiziranim FISH hibridizacijam, in je posebej razvit za predhodno obdelavo in prebavo encimov metafaznih in interfaznih celic iz kultur periferne krvi oziroma direktnih preparatov, ki so pripravljeni s standardnimi citogenetskimi metodami pred postopkom DNK FISH hibridizacije. Ta komplet je posebej razvit za optimalne rezultate na SVEŽE pripravljenih citoloških vzorcih. Uporaba kompleta bo obrnila prečne povezave v celicah, membrana celice bo postala permeabilna in proteini v celicah se bodo razgradili in tako olajšali vezi sond FISH s specifičnimi celicami DNK.

### 3 Navodila za uporabo

#### 3.1 Primerki

Za uporabo metafaznih in interfaznih celic iz kultur periferne krvi oziroma na direktnih preparatih, ki se pripravijo s standardnimi citogenetskimi metodami.

Ta komplet za predhodno obdelavo je posebej razvit za optimalne rezultate na SVEŽE pripravljenih citoloških vzorcih.

Predhodna analitika primerkov: Predhodna analitika ima pomembno vlogo pri uspešnem pridobivanju FISH. Primerjek mora biti ustrezno pritrjen, staran in predhodno obdelan v skladu z dobro uveljavljenim protokolom. Prekomerno, preslabo pritrjevanje ali neustrezna predhodna obdelava primerka lahko povzroči napako pri postopku FISH ali vsaj nizko reproduktivnost/intenziteto signala. Sonde Kreatech FISH so testirane na metafaznih/interfaznih jedrih, pridobljenih iz kultivirane periferne krvi in/ali kostnega mozga. Predmetna stekla morajo biti za optimalne rezultate shranjena v skladu s priporočenimi pogoji glede hranjenja in ravnanja; oglejte si spletno stran Leica.

#### 3.2 Predhodna obdelava

Spodaj naveden protokol je namenjen uporabi 5 ploščic v 50 ml pokončni posodi coplin.

1. Predhodno obdelajte sveže pripravljena predmetna stekla v 50 ml 2 x SSC / 0,5% Igepal (LK-105B) pri 37 °C za 15 minut (min).
2. Dehidrirajte tako, da namočite v 70%, 85% in 100% etanol, in sicer 1 min v vsakega. Posušite na zraku. Nadaljujte s **Pripravo sond**.

### 3.3 Priprava sond:

Sonde FISH Kreatech™ so dobavljene in pripravljene na uporabo (RtU). Sonde SE, ST, in WC Kreatech™ FISH so dobavljene 5x koncentrirane in morajo biti razredčene po naslednjem postopku: 2 µl 5 x konc. Sonde v 8 µl FISH pufru za hibridizacijo (FHB ali WCB, dobavljen s sondami). Za združitev več 5x konc. sond FISH pufer za hibridizacijo (FHB ali WCB) zamenjajte z 2 µl za vsako dodano sondo.

### 3.4 Ko-denaturacija

Uporabite 10 µl sonde na polje 22 x 22 mm. Pokrijte s krovnim steklom in zatesnite z izdelkom Fixogum ali s tekočim lepilom. Uporabite denaturacijo za vzorec in sondo na izdelku ThermoBrite (TS-01/02) pri 75 ± 1 °C za 5-10 min. Nadaljujte s **Hibridizacijo**.

### 3.5 Hibridizacija:

Inkubirajte čez noč pri 37 ± 1 °C v izdelku ThermoBrite (TS-01/02) ali v vlažni komori.

### 3.6 Pranje po hibridizaciji:

1. Vnaprej ogrejte 50 ml izdelka Wash Buffer I (0,4 x SSC / 0,3 % Igepal) (LK-102) na 72 °C
2. Odstranite tekoče lepilo.
3. Ploščice vstavite v 50 ml Wash Buffer II (2 x SSC / 0,1 % Igepal) (LK-103), inkubirajte 2 min pri ST. Odstranite krovna stekla. Samo enkrat ponovno uporabite pufer za čiščenje za skupno 10 predmetnih stekel.
4. Ploščice vstavite v 50 ml predhodno ogretega Wash Buffer II (0,4 x SSC / 0,3% Igepal) (LK-102), inkubirajte 2 min pri 72 °C (+/- 1 °C) brez mešanja. Samo enkrat ponovno uporabite pufer za čiščenje za skupno 10 predmetnih stekel.
5. Ploščice vstavite v 50 ml svežega Wash Buffer II (2 x SSC / 0,1 % Igepal) (LK-103), inkubirajte 1 min pri ST brez mešanja. Samo enkrat ponovno uporabite pufer za čiščenje za skupno 10 predmetnih stekel.
6. Dehidrirajte v svežem 70%, 85% in 100% etanolu, inkubirajte 1 min v vsakem pri ST. Posušite na zraku pri ST in nadaljujte na **nasprotno barvanje (counterstaining)**.

### 3.7 Counterstaining

Nanesite 15 µl kontrastnega barvila DAPI (DAPI/Antifade 0,1 µg/ml) (LK-095B) ali razredčino tega z uporabo redčila za kontrastno barvilo (LK097B) ter namestite krovno steklo. Nadaljujte z mikroskopijo.

### 3.8 Priporočila za postopek:

Optimalno pripravljena in predhodno obdelana predmetna stekla so ključna za pridobivanje uspešnega rezultata FISH. Preslaba ali prekomerna predhodna obdelava ne vpliva samo na morfologijo, temveč tudi na jakost signala (in posledično na enostavnost analize).

Temperatura in koncentracija pufru (strogost) pri hibridizaciji in pranju sta pomembna, saj lahko slabša doslednost privede do nespecifičnih vezi sonde na druga zaporedja, višja strogost pa lahko privede do pomanjkanja signala. Nepopolna denaturacija ciljne DNK lahko privede do pomanjkanja signala.

### 3.9 Priporočila za fluorescenčno mikroskopijo

Za optimalno vizualizacijo uporabljajte dobro vzdrževan mikroskop, ki se redno nastavlja in je opremljen s 100W svetilko iz živega srebra ali drug ustrezen vir svetlobe (npr. metalhalogenidne žarnice (120 W X-cite) ali svetlobne vire na osnovi tehnologije LED) ter 63x ali 100x fluorescenčni objektiv. Trojni pasovno prepustni filtri (DAPI/FITC/Cy3 ali DAPI/FITC/TRITC) se uporabljajo za ogled več barv, enojni pasovno prepustni filtri se uporabljajo za vizualizacijo posameznih barv. Glede priporočil o ustreznih filtrih za vsako blagovno znamko mikroskopa si oglejte spletno stran Leica: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Ustrezen razpon vzbujanja in emisij za fluorofore Kreatech™:

| Fluorofor | Vzbujanje   | Emisija     |
|-----------|-------------|-------------|
| DAPI      | 360 ± 20 nm | 460 ± 30 nm |

|                            |             |             |
|----------------------------|-------------|-------------|
| <b>PlatinumBright™ 415</b> | 429 ± 15 nm | 470 ± 15 nm |
| <b>PlatinumBright™ 495</b> | 495 ± 10 nm | 517 ± 10 nm |
| <b>PlatinumBright™ 550</b> | 550 ± 10 nm | 580 ± 10 nm |

Prikazana pasovna širina ustreza 80 % največjega dovoljenega vzbujanja/emisij fluoroforescence

#### 4 Analitično delovanje

Delovanje izdelka FISH Reagent Kit je bilo določeno z uporabo postopkov, opisanih v teh Navodilih za uporabo. Spremembe teh postopkov lahko spremenijo delovanje preizkusa. Morebitne spremembe protokolov mora odobriti uporabnik. Uporabniki, ki odstopijo od priporočenih preizkusnih postopkov, morajo prevzeti odgovornost za razlago bolnikovih rezultatov pod temi pogoji. Trajanje protokola se lahko spremeni glede na fiksacijo in obdelavo.

#### 5 Potrebni materiali, ki so dobavljeni z izdelkom

| Koda #          | Opis                                        | Količina   |
|-----------------|---------------------------------------------|------------|
| <b>LK-095B</b>  | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI Counterstain) | 0,5 ml     |
| <b>LK-097B</b>  | Antifade (Redčilo Counterstain)             | 0,5 ml     |
| <b>LK-102B*</b> | 0,4 x SSC / 0,3% Igepal (Wash Buffer I)     | 250 ml     |
| <b>LK-103B*</b> | 2 x SSC / 0,1% Igepal (Wash Buffer II)      | 2 x 250 ml |
| <b>LK-105B</b>  | 2 x SSC/0,5% Igepal                         | 250 ml     |

\*Izdelka LK-102 in LK-103 imata isto številko, a drugačne črke, in sta identična z izjemo količine. A=100 ml, B=250 ml

#### 6 Potrebni materiali, ki niso dobavljeni z izdelkom

- Etanol 100 %, 85 % in 70 %
- Fixogum (LK-071A) ali tekoče lepilo
- Grelna plošča z natančnim nadzorom temperature do 75 °C ali ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Inkubator z natančnim razponom temperature 37 °C
- Vodna kopel z natančnim razponom temperature med 37 in 75 °C
- Plastične in steklene posode coplin
- Variabilne mikropipete (1 µl - 200 µl)
- Fluorescenčni mikroskop s primernimi filtri (glejte priporočila za fluorescenčno mikroskopijo).

#### 7 Opozorila in previdnostni ukrepi

- Vsak resen incident, ki se pripeti v zvezi z napravo, je treba sporočiti proizvajalcu in pristojnim organom države članice, v kateri deluje uporabnik in/ali pacient.
- Za diagnostično uporabo in vitro. Samo za profesionalno uporabo v laboratorijih. V nujnih primerih glede varnostnih informacij preverite dokumentacijo SDS.
- Komplet je namenjen uporabi samo pred in po DNK FISH na metafaznih in interfaznih celicah iz kultur periferne krvi ali na direktnih preparatih, ki so pripravljene po standardnih citogenetskih metodah.
- Samo za neavtomatizirano predhodno obdelavo in hibridizacijo FISH.
- Ves material je potrebno odstraniti v skladu s smernicami vaše ustanove glede odstranjevanje bolnišničnih odpadkov.
- Če boste uporabili ali pričakujete starejše vzorce, predmetna stekla s citoplazemskim ozadjem ali zahtevne vzorce, svetujemo uporabo kompleta KBI-60006 FISH Digestion.
- Za tkiva, vdelana v parafin, priporočamo uporabo kompletov za predobdelavo KBI-60004 ali KBI-60007.

Označevanje v skladu z Uredbo (ES) št. 1272/2008

| Koda #         | Opis                                        | Signalna beseda | Piktogram                                                                           | Stavki o nevarnosti |
|----------------|---------------------------------------------|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <b>LK-095B</b> | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI Counterstain) | Opozorilo       |  | H315, H319, H335    |

|                |                                            |           |                                                                                   |                     |
|----------------|--------------------------------------------|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <b>LK-097B</b> | Antifade<br>(Redčilo Counterstain)         | Opozorilo |  | H315, H319,<br>H335 |
| <b>LK-102B</b> | 0,4 x SSC / 0,3% Igepal<br>(Wash Buffer I) | N.P.      | N.P.                                                                              | N.P.                |
| <b>LK-103B</b> | 2 x SSC / 0,1% Igepal<br>(Wash Buffer II)  | N.P.      | N.P.                                                                              | N.P.                |
| <b>LK-105B</b> | 2 x SSC/0,5% Igepal                        | N.P.      | N.P.                                                                              | N.P.                |

#### Stavki o nevarnosti

H315 – Povzroča draženje kože.

H319 – Povzroča hudo draženje oči.

H335 – Lahko povzroča draženje dihal

#### Varnostne izjave Preventiva

P271 – Uporabljajte samo na odprtem ali v dobro prezračevanih prostorih.

P261 – Izogibajte se vdihavanju meglice/hlapov/aerosolu.

P264 – Po uporabi temeljito umijte vsa izpostavljena območja telesa.

P280 – Uporabite zaščitne rokavice, zaščitno obleko, zaščito za oči in zaščito za obraz.

#### Varnostne izjave Odziv

P305+P351+P338 – PRI STIKU Z OČMI: Previdno izpirati z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem.

P312 – Ob slabem počutju pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE/zdravnika/reševalca.

P337+P313 – Če draženje oči ne preneha: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.

P302+P352 – PRI STIKU S KOŽO: Umiti z veliko vode in mila.

P304+P340 – PRI VDIHAVANJU: Prenesti osebo na svež zrak in jo pustiti v udobnem položaju, ki olajša dihanje.

P332+P313 – Če se pojavi draženje kože: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.

P362+P364 – Slecite kontaminirana oblačila in jih oprati pred ponovno uporabo.

Dodatni stavki o nevarnosti: brez

Omejeno na strokovne uporabnike v laboratorijih

#### Razlaga simbolov

|                                                                                     |                                                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
|  | Vsebuje nevarne snovi                                     |
|  | Država proizvajalka                                       |
|  | Ne uporabljajte, če je paket poškodovan                   |
|  | Preverite navodila za uporabo v elektronski obliki (elfU) |

## 8 Shranjevanje in ravnanje z reagentom

Zaščitite DAPI/Antifade pred močno in neposredno svetlobo. Hranite pri temperaturi 2-8 °C. Neodprt izdelek je stabilen pod temi pogoji do datuma izteka roka uporabnosti, ki je naveden na oznaki stekleničke.

Nerazredčene reagente takoj po uporabi ohladite na temperaturo 2-8 °C.

Izdelki so po odprtju stabilni do 18 mesecev, a nikoli dlje od datuma izteka roka uporabnosti. Uporaba po tem roku lahko privede do suboptimalnih rezultatov.

## 9 Tehnična podpora

Tehnična podpora je na voljo na spletni strani [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) ali na e-poštnem naslovu: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Obrnite se na nas, če ne morete doseči zelenih rezultatov oziroma pri pojavu anomalij pri uporabi tega izdelka.

Natisnjen izvod IfU lahko zahtevate tako, da pošljete e-poštno sporočilo na: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



V dodatnih jezikih je IfU na voljo za prenos na: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Služba za pomoč uporabnikom

Sonde Kreatech je možno naročiti prek Službe za pomoč uporabnikom na telefonski številki +31 20 6919181 ali preko e-pošte: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

## 11 Zgodovina

| Različica IfU | Datum izdaje | Spremembe                                 |
|---------------|--------------|-------------------------------------------|
| 2,4           | 2016-SEP-27  | Odstranite geslo »Podjetje za patologijo« |
| 3,0           | 2022- aprila | Posodobite v skladu z uredbami IVD        |

SV

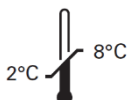
## FISH-reagenskit

REF

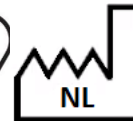
KBI-60005

tester

Innehåller tillräcklig volym för upp till 25 eller 5x5



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
Nederländerna  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 Avsedd användning/ändamål

Fluorescens in situ hybridisering (FISH) identifierar eller etiketterar målgenomsekvenser så att deras placering kan studeras. DNA-sekvenser från lämpliga kromosomspecifika sonder etiketteras först med reportermolekyler. Den märkta DNA-sonden hybridiseras sedan till kromosomerna i metafas eller kärnorna i interfase på ett objektglas. Efter tvättning undersöks provexemplet med hjälp av fluorescensmikroskopi för att hitta rapportermolekylerna.

För användning på metafas- och interfasceller från perifera blodkulturer eller direkta preparat som framställts med cytogenetiska standardmetoder.

Detta förbehandlingskit är särskilt utvecklat för att få optimala resultat på FÄRSKA cytologiska prover.

Produkten är avsedd för in vitro-diagnostik.

### 2 Produktbeskrivning

Detta förbehandlingskit är avsett för icke-automatiserade FISH-hybridiseringar och är särskilt utvecklat för att användas för förbehandling och enzymnedbrytning av metafas- och interfasceller från perifera blodkulturer eller direkta preparat som framställts med standardcytogenetiska metoder före DNA FISH-hybridiseringsproceduren. Detta kit är särskilt utvecklat för att få optimala resultat på FÄRSKA cytologiska prover. Användningen av kitet kommer att omvända tvärbindingarna i cellerna, permeabilisera cellmembranet och smälta cellproteiner för att underlätta bindningen av FISH-sonderna med det specifika cell-DNA:t.

### 3 Bruksanvisning

#### 3.1 Provexempel

För användning på metafas- och interfasceller från perifera blodkulturer eller direkta preparat som framställts med cytogenetiska standardmetoder.

Detta förbehandlingskit är särskilt utvecklat för att få optimala resultat på FÄRSKA cytologiska prover.

Föranalyser av provexempel: Föranalysen en viktig roll för att få en lyckad FISH. Provexemplet ska fixeras, åldras och förbehandlas korrekt enligt ett väletablerat protokoll. Överfixering, underfixering eller dålig förbehandling av provexemplet kan leda till att FISH-förfarandet misslyckas eller åtminstone till låg reproducerbarhet/signalintensitet. Kreatech FISH-sonder har testats på metafas-/interfaskärnor från odlat perifert blod och/eller benmärg. Objektglasen ska förvaras enligt de rekommenderade förvarings- och hanteringsförhållandena för optimala resultat. Se Leicas webbplats.

#### 3.2 Förbehandling

Protokollet nedan avser 5 objektglas i en 50 ml stort stående Coplin-kärl.

1. Förbehandla nypreparerade objektglas i 50 ml 2 x SSC/0,5 % Igepal (LK-105B) vid 37 °C i 15 minuter (min).
2. Dehydratisera i 70, 85 och 100 % etanol i 1 minut vardera. Lufttorka. Fortsätt med **sondberedning**.

#### 3.3 Sondberedning:

Kreatech™ FISH-sonderna levereras färdiga att använda (RtU). SE-, ST- och WC Kreatech™ FISH-sonderna levereras 5 x koncentrerade och måste spädas enligt följande: 2 µl 5 x konc. sond i 8 µl FISH-hybridiseringsbuffert

(FHB eller WCB, levereras med sonder). Kombinera flera 5 x konc. sonder genom att ersätta FISH-hybridiseringsbuffert (FHB eller WCB) med 2 µl för varje sond som läggs till.

### 3.4 Samdenaturering

Applicera 10 µl sond per 22 x 22 mm stort fält. Täck över med en glasskyddsfolie och försegla med Fixogum eller gummicement. Denaturera prov och sond på en ThermoBrite (TS-01/02) vid 75 ± 1 °C i 5–10 minuter. Fortsätt med **hybridisering**.

### 3.5 Hybridisering:

Inkubera över natten vid 37 ± 1 °C i en ThermoBrite (TS-01/02) eller i en fuktig kammare.

### 3.6 Tvätt efter hybridisering:

1. Värm 50 ml tvättbuffert I (0,4 x SSC / 0,3 % Igepal) (LK-102) till 72 °C
2. Ta bort gummicementet.
3. Placera objektglaset i 50 ml tvättbuffert II (2 x SSC / 0,1 % Igepal) (LK-103), inkubera i 2 minuter vid RT. Skjut av täckglaset. Återanvänd tvättbufferten endast en gång för totalt 10 objektglas.
4. Placera objektglaset i 50 ml förvärmad tvättbuffert I (0,4 x SSC / 0,3 % Igepal) (LK-102), inkubera i 2 minuter vid 72 °C (+ 1 °C) utan att röra på sig. Återanvänd tvättbufferten endast en gång för totalt 10 objektglas.
5. Placera objektglaset i 50 ml färsk tvättbuffert II (2 x SSC / 0,1 % Igepal) (LK-103), inkubera i 1 minut vid RT utan omrörning. Återanvänd tvättbufferten endast en gång för totalt 10 objektglas.
6. Dehydratisera i färsk 70, 85 och 100 % etanol, inkubera i 1 minut vardera vid RT. Lufttorka vid RT och fortsätt med **motfärgning**.

### 3.7 Motfärgning:

Applicera 15 µl DAPI-motfärgning (DAPI/Antifade 0,1 µg/ml) (LK-095B) eller en utspädning av detta med hjälp av motfärgningsutspädningsmedel (LK097B) och applicera glasskydd. Fortsätt med mikroskopi.

### 3.8 Rekommendationer vid förfarandet:

Optimalt förberedda och förbehandlade cytologiska objektglas är nyckeln till ett lyckat FISH-resultat. En för låg eller för hög förbehandling påverkar inte bara morfologin utan även signalstyrkan (och därmed hur lätt det är att analysera).

Temperatur och buffertkoncentration (stringens) vid hybridisering och tvättning är viktiga, eftersom lägre stringens kan leda till ospecifik bindning av sonden till andra sekvenser, och högre stringens kan leda till att signalen uteblir. Ofullständig denaturering av mål-DNA kan leda till att signalen uteblir.

### 3.9 Rekommendationer för fluorescensmikroskopi

För optimal visualisering ska du använda ett väl underhållet och regelbundet kalibrerat mikroskop utrustat med en 100 W kvicksilverlampa eller annan lämplig ljuskälla (t.ex. metallhalogenlampor (120 W X-cite) eller LED-baserade ljuskällor) och ett 63x eller 100x fluorescensobjektiv. Trippelbandpassfilter (DAPI/FITC/Cy3 eller DAPI/FITC/TRITC) används för att visa flera färger, medan enkelbandpassfilter används för visualisering av enskilda färger. Se Leicas webbplats för rekommendationer om lämpliga filter för varje mikroskopmärke: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Lämpligt excitations- och emissionsområde för Kreatech™-fluoroforer:

| Fluorofor           | Excitation  | Utsläpp     |
|---------------------|-------------|-------------|
| DAPI                | 360 ± 20 nm | 460 ± 30 nm |
| PlatinumBright™ 415 | 429 ± 15 nm | 470 ± 15 nm |
| PlatinumBright™ 495 | 495 ± 10 nm | 517 ± 10 nm |
| PlatinumBright™ 550 | 550 ± 10 nm | 580 ± 10 nm |

Den visade bandbredden motsvarar 80 % av den maximala fluoroforns excitation/emission)

## 4 Analytiska prestanda

FISH-reagenskitets prestanda har fastställts med hjälp av de förfaranden som beskrivs i denna bruksanvisning. Ändringar i procedurerna kan ändra analysens prestanda. Alla avvikelser från de anvisade protokollen måste

godkännas av användaren. Användare som avviker från rekommenderade testprocedurer måste ta ansvar för tolkningen av patientens resultat under sådana omständigheter. Protokolltiderna kan variera på grund av variationer i fixering och bearbetning.

## 5 Material som krävs och levereras med produkten

| Kodnr    | Beskrivning                                | Volym      |
|----------|--------------------------------------------|------------|
| LK-095B  | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI-motfärgning) | 0,5 ml     |
| LK-097B  | Antifade (Spädningsmedel för motfärgning)  | 0,5 ml     |
| LK-102B* | 0,4 x SSC / 0,3 % Igepal (Tvättbuffert I)  | 250 ml     |
| LK-103B* | 2 x SSC / 0,1 % Igepal (Tvättbuffert II)   | 2 x 250 ml |
| LK-105B  | 2 x SSC/0,5 % Igepal                       | 250 ml     |

\*Observera att LK-102- och LK-103-produkter som innehåller samma nummer, men olika bokstäver är identiska med undantag för volym. A= 100 ml, B=250 ml

## 6 Material som krävs och som inte levereras med produkten

- Etanol 100 %, 85 % och 70 %
- Fixogum (LK-071A) eller gummicement
- Värmeplatta med noggrann temperaturkontroll upp till 75 °C eller ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- Inkubator med ett exakt temperaturintervall på 37 °C
- Vattenbad med ett exakt temperaturområde på 37–75 °C
- Coplin-kärl av plast och glas
- Variabla mikropipetter (1–200 µl)
- Fluorescensmikroskop utrustat med lämpliga filter (se rekommendationer för fluorescensmikroskopi).

## 7 Varningar och försiktighet

- Alla allvarliga incidenter som har inträffat i samband med produkten ska rapporteras till tillverkaren och den behöriga myndigheten i den medlemsstat där användaren och/eller patienten är etablerad.
- För in vitro-diagnostik. Endast för yrkesmässigt bruk i laboratorier. I nödsituationer kan du kontrollera SDS-bladen för säkerhetsinformation.
- Kitet är avsett att användas endast före och efter DNA FISH på metafase- och interfasceller från perifera blododlingar eller direkta preparat som framställts med cytogenetiska standardmetoder.
- Endast för icke-automatiserad FISH-förbehandling och hybridisering.
- Alla material ska bortskaffas enligt din institutions riktlinjer för bortskaffande av sjukhusavfall.
- Vi rekommenderar att du använder KBI-60006 FISH-spjälkningskitet om äldre prover, objektglas med cytoplasmatisk bakgrund eller svåra prover används eller förväntas användas.
- För paraffininbäddade vävnader rekommenderas förbehandlingskit KBI-60004 eller KBI-60007.

Märkning enligt förordning (EG) nr 1272/2008

| Kodnr   | Beskrivning                                | Signalord       | Piktogram                                                                            | Faroangivelser   |
|---------|--------------------------------------------|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| LK-095B | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI-motfärgning) | Varning         |  | H315, H319, H335 |
| LK-097B | Antifade (Spädningsmedel för motfärgning)  | Varning         |  | H315, H319, H335 |
| LK-102B | 0,4 x SSC / 0,3 % Igepal (Tvättbuffert I)  | EJ TILLÄMPLIGT. | EJ TILLÄMPLIGT.                                                                      | EJ TILLÄMPLIGT.  |
| LK-103B | 2 x SSC / 0,1 % Igepal (Tvättbuffert II)   | EJ TILLÄMPLIGT. | EJ TILLÄMPLIGT.                                                                      | EJ TILLÄMPLIGT.  |

|                |                      |                 |                 |                 |
|----------------|----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| <b>LK-105B</b> | 2 x SSC/0,5 % Igepal | EJ TILLÄMPLIGT. | EJ TILLÄMPLIGT. | EJ TILLÄMPLIGT. |
|----------------|----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|

#### Faroangivelse(r)

H315 – Orsakar hudirritation.

H319 – Orsakar allvarlig ögonirritation.

H335 – Kan orsaka irritation i luftvägarna

#### Förebyggande försiktighetsförklaring(ar)

P271 – Används endast utomhus eller i väl ventilerade utrymmen.

P261 – Undvik att andas in dimmor/ångor/sprej.

P264 – Tvätta alla exponerade yttre områden på kroppen noggrant efter hantering.

P280 – Använd skyddshandskar, skyddskläder, ögonskydd och ansiktsskydd.

#### Svar på försiktighetsförklaring(ar)

P305+P351+P338 – VID ÖGONKONTAKT: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt att göra. Fortsätt att skölja.

P312 – Kontakta GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare/första hjälpen om du mår dåligt.

P337+P313 – Vid bestående ögonirritation: Sök medicinsk rådgivning/vård.

P302+P352 – VID HUDKONTAKT: Tvätta med mycket vatten och tvål.

P304+P340 – VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas.

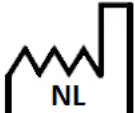
P332+P313 – Vid hudirritation: Sök medicinsk rådgivning/vård.

P362+P364 – Ta av nedstänkta kläder och tvätta dem innan de används igen.

Kompletterande faroangivelser: inga

Begränsad till professionella laboratorieanvändare

#### Förklaring av symboler

|                                                                                     |                                              |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
|  | Innehåller farliga ämnen                     |
|  | Tillverkningsland                            |
|  | Får inte användas om förpackningen är skadad |
|  | Se elektronisk bruksanvisning (elfU)         |

## 8 Förvaring och hantering av reagens

Skydda DAPI/Antifade från starkt och direkt ljus. Förvaras vid 2–8 °C. Den öppnade produkten är stabil under dessa förhållanden fram till det utgångsdatum som anges på flaskans etikett.

Återställ den utspädda reagensen till 2–8 °C omedelbart efter användning.

Efter öppning är produkterna stabila i upp till 18 månader, men aldrig längre än utgångsdatumet. Efter denna tidsperiod kan användningen av lösningarna leda till suboptimala resultat.

## 9 Teknisk support

Teknisk support finns tillgänglig på [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) eller via e-post: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Kontakta oss om du inte uppnår önskat resultat eller om det uppstår några avvikelser när du använder den här produkten.

En papperskopia av bruksanvisningen kan beställas via e-post genom att kontakta: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



Den elektroniska bruksanvisningen finns på ytterligare språk som kan laddas ner från: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Kundtjänst

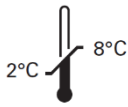
Kreatech-sonderna kan beställas via Leicas kundtjänst +31 20 6919181 eller via e-post: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

## 11 Historik

| IFU-version | Utgivningsdatum | Ändringar                                     |
|-------------|-----------------|-----------------------------------------------|
| 2,4         | 2016-SEP-27     | Ta bort taglinen "The pathology Company"      |
| 3,0         | 2022- april     | Uppdatering i enlighet med IVD-bestämmelserna |

**FISH Reaktif Kiti****REF** KBI-60005

25 veya 5x5 teste kadar yeterli hacim içerir



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Amsterdam  
Hollanda  
www.LeicaBiosystems.com

**1 Kullanım amacı**

Floresan in situ hibridizasyon (FISH), hedef genomik dizileri tanımlar veya etiketler, böylece dizilerin konumları incelenebilir. Uygun kromozom spesifik problemlerden DNA dizileri ilk olarak raportör moleküller ile etiketlenir. Etiketlenen DNA probu daha sonra bir lam üzerindeki metafaz kromozomlarına veya ara faz çekirdeklerine hibridize edilir. Örnek, yıkamadan sonra floresan mikroskopisi ile raportör molekülleri için taranır.

Periferik kan kültürlerinden gelen metafaz ve ara faz hücrelerinde veya standart sitogenetik yöntemlerle hazırlanan doğrudan preparatlarda kullanım içindir.

Bu ön işlem kiti özellikle YENİ HAZIRLANMIŞ sitolojik numunelerde optimal sonuçlar elde etmek için geliştirilmiştir.

Bu ürün, İn Vitro Diagnostik Kullanım içindir.

**2 Ürün Tanımı**

Bu ön işlem kiti, DNA FISH hibridizasyon prosedüründen önce standart sitogenetik yöntemlerle hazırlanan doğrudan preparatlar veya periferik kan kültürlerinden metafaz ve ara faz hücrelerinin ön işlem ve enzim sindirimi için kullanılmak üzere özel olarak geliştirilmiş otomatik olmayan FISH hibridizasyonları içindir. Bu kit özellikle YENİ HAZIRLANMIŞ sitolojik numunelerde optimal sonuçlar elde etmek için geliştirilmiştir. Kitin kullanımı, FISH problemlerinin spesifik hücre DNA'sı ile bağlanmasını kolaylaştırmak için hücrelerdeki çapraz bağlantıları tersine çevirecek, hücre zarını geçirgenleştirecek ve hücre proteinlerini sindirecektir.

**3 Kullanım talimatları****3.1 Örnekler**

Periferik kan kültürlerinden gelen metafaz ve ara faz hücrelerinde veya standart sitogenetik yöntemlerle hazırlanan doğrudan preparatlarda kullanım içindir.

Bu ön işlem kiti özellikle YENİ HAZIRLANMIŞ sitolojik numunelerde optimal sonuçlar elde etmek için geliştirilmiştir.

Örneklerin ön analizleri: Başarılı bir FISH prosedürü elde edilmesinde ön analizler önemli bir rol oynar. Örnek doğru bir şekilde fikse edilmeli, bekletilmeli ve iyi belirlenmiş bir protokole göre ön işlemden geçirilmelidir. Aşırı fiksasyon, yetersiz fiksasyon veya örneğin kötü ön işlem görmesi, FISH prosedürünün başarısız olmasına veya en azından düşük tekrarlanabilirliğe/sinyal yoğunluğuna neden olabilir. Kreatech FISH problemleri, kültürlenen periferik kan ve/veya kemik iliğinden türetilen metafaz/ara faz çekirdeği üzerinde test edilmiştir. Lamalar, optimum sonuçlar için önerilen saklama ve taşıma koşullarına göre saklanmalıdır, bkz. Leica web sitesi.

**3.2 Ön işlem**

Aşağıdaki protokol, 50 ml'lik dik bir coplin şalede 5 lam kullanılması için tasarlanmıştır.

1. Taze hazırlanmış numune lamalarını 50 ml 2 x SSC/%0,5 Igepal (LK-105B) içinde 37 °C'de 15 dakika (dk.) bekletin.
2. Her birinde 1 dakika olmak üzere %70, %85 ve %100 etanol içinde dehidrate edin. Havada kurutun. **Prob Hazırlığı** ile devam edin.

**3.3 Prob hazırlığı:**

Kreatech™ FISH problemleri Kullanıma Hazır (RtU) olarak temin edilir. SE, ST ve WC Kreatech™ FISH problemleri 5 x konsantre olarak sağlanır ve aşağıdaki gibi seyreltilmelidir: 2 µl 5 x kons. Prob, 8 µl FISH Hibridizasyon

Tamponunda (FHB veya WCB, problemlerle birlikte verilir). Birkaç 5 x kons. probu birleştirmek amacıyla eklenen her prob için FISH Hibridizasyon Tamponunu (FHB veya WCB) 2 µl ile değiştirin.

### 3.4 Ko-denatürasyon

22 x 22 mm alan başına 10 µl prob uygulayın. Cam lamel ile kapatın ve Fixogum veya lastik solüsyon ile mühürleyin. Numuneyi ve probu 75±1 °C'de 5-10 dakika boyunca bir ThermoBrite (TS-01/02) üzerinde denatüre edin. **Hibridizasyon** ile devam edin.

### 3.5 Hibridizasyon:

37±1 °C'de bir ThermoBrite (TS-01/02) veya nemlendirme haznesinde gece boyunca inkübe edin.

### 3.6 Hibridizasyon Sonrası Yıkama:

1. 50 ml Yıkama Tamponu I'i (0,4 x SSC/%0,3 Igepal) (LK-102) 72 °C'ye kadar ısıtın.
2. Lastik solüsyonu çıkarın.
3. Lamları 50 ml Yıkama Tamponu II (2 x SSC /%0,1 Igepal) (LK-103) içine yerleştirin, oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edin. Lamelleri kaydırarak çıkarın. Yıkama tamponunu toplam 10 lam için yalnızca bir kez yeniden kullanın.
4. Lamları 50 ml önceden ısıtılmış Yıkama Tamponu I (0,4 x SSC /%0,3 Igepal) (LK-102) içine yerleştirin, karıştırmadan 72 °C'de (±1 °C) 2 dakika inkübe edin. Yıkama tamponunu toplam 10 lam için yalnızca bir kez yeniden kullanın.
5. Lamları 50 ml taze Yıkama Tamponu II (2 x SSC /%0,1 Igepal) (LK-103) içine yerleştirin, karıştırmadan oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edin. Yıkama tamponunu toplam 10 lam için yalnızca bir kez yeniden kullanın.
6. Taze %70, %85 ve %100 etanol içinde dehidrate edin, oda sıcaklığında birer dakika inkübe edin. Oda sıcaklığında havada kurutun ve **Karşıt Boyama** işlemi ile devam edin.

### 3.7 Karşıt boyama:

15 µl DAPI karşıt boyayı (DAPI/Antifade 0,1 µg/ml) (LK-095B) veya karşıt boya seyreltici (LK097B) ile seyreltilmiş halini uygulayın ve cam lamel uygulayın. Mikroskopiyle devam edin.

### 3.8 Prosedürle ilgili öneriler:

En iyi şekilde hazırlanmış ve önceden işlenmiş sitolojik lamlar, başarılı bir FISH sonucu elde etmek için çok önemlidir. Yetersiz veya aşırı ön işlem uygulanması sadece morfolojiyi değil, aynı zamanda sinyal gücünü (ve dolayısıyla analiz kolaylığını) da etkiler.

Hibridizasyon ve yıkamanın sıcaklık ve tampon konsantrasyonu (sıklığı) önemlidir, çünkü daha düşük sıklık probun diğer dizilere spesifik olmayan bağlanmasına neden olabilir ve daha yüksek sıklık, sinyal eksikliğine neden olabilir. Hedef DNA'nın eksik denatürasyonu sinyal eksikliğine neden olabilir.

### 3.9 Floresan mikroskopisi için öneriler

Optimum görselleştirme için 100W cıva lambası veya diğer uygun ışık kaynağı (örneğin Metal Halide Ampul (120W X-cite) veya LED tabanlı ışık kaynakları) ve 63x veya 100x floresan objektif ile donatılmış iyi bakımlı ve düzenli olarak kalibre edilmiş bir mikroskop kullanın. Çoklu renkleri görüntülemek için üçlü bant geçiren filtreler (DAPI/FITC/Cy3 veya DAPI/FITC/TRITC), ayrı ayrı renk görselleştirmesi için tekli bant geçiren filtreler kullanılır. Her mikroskop markası için uygun filtrelerle ilgili öneriler için Leica web sitesine bakın: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>

Kreatech™ floroforları için uygun uyarım ve emisyon aralığı:

| Flofor              | Uyarım    | Emisyon   |
|---------------------|-----------|-----------|
| DAPI                | 360±20 nm | 460±30 nm |
| PlatinumBright™ 415 | 429±15 nm | 470±15 nm |
| PlatinumBright™ 495 | 495±10 nm | 517±10 nm |
| PlatinumBright™ 550 | 550±10 nm | 580±10 nm |

(Gösterilen bant genişliği floroforun maksimum uyarım/emisyonunun %80'ine karşılık gelir)

#### 4 Analitik Performans

FISH Reaktif Kiti'nin performansı, bu kullanım talimatlarında açıklanan prosedürler kullanılarak belirlenmiştir. Bu prosedürlerde yapılan değişiklikler miktar tayininin performansını değiştirebilir. Talimatta verilen protokollerden sapmalar kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır. Önerilen test prosedürlerinden sapan kullanıcılar bu şartlar altında hasta sonuçlarının yorumlanmasının sorumluluğunu almalıdır. Protokol süreleri, fiksasyon ve işleme aşamalarındaki farklılıklardan ötürü değişkenlik gösterebilir.

#### 5 Gerekli olan ve ürünle birlikte verilen malzemeler

| Kod #    | Tanım                                         | Hacim      |
|----------|-----------------------------------------------|------------|
| LK-095B  | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml<br>(DAPI Karşıt boya) | 0,5 ml     |
| LK-097B  | Antifade<br>(Karşıt boya seyreltici)          | 0,5 ml     |
| LK-102B* | 0,4 x SSC/%0,3 Igepal<br>(Yıkama Tamponu I)   | 250 ml     |
| LK-103B* | 2 x SSC/%0,1 Igepal<br>(Yıkama Tamponu II)    | 2 x 250 ml |
| LK-105B  | 2 x SSC/%0,5 Igepal                           | 250 ml     |

\*LK-102 ve LK-103 ürünlerinin aynı numarayı içerdiğini ancak hacim hariç farklı harflerin aynı olduğunu lütfen unutmayın. A= 100 ml, B=250 ml

#### 6 Gerekli olan ve ürünle birlikte verilmeyen malzemeler

- Etanol %100, %85 ve %70
- Fixogum (LK-071A) veya lastik solüsyon
- 75 °C'ye kadar doğru sıcaklık kontrollü sıcak plaka veya ThermoBrite™ (TS01/TS02)
- 37 °C'lik doğru sıcaklık aralığına sahip inkübatör
- 37-75 °C'lik doğru sıcaklık aralığına sahip su banyosu
- Plastik ve cam coplin şaleleri
- Değişken mikropipetler (1 µl-200 µl)
- Uygun filtrelerle donatılmış floresan mikroskop (bkz. Floresan Mikroskopisi için öneriler).

#### 7 Uyarılar ve önlemler

- Cihaz ile ilgili olarak meydana gelen tüm ciddi olaylar, üreticiye ve kullanıcının ve/veya hastanın bulunduğu Üye Devletin yetkili makamına rapor edilecektir.
- İn vitro diagnostik kullanım içindir. Sadece laboratuvarında profesyonel kullanım amaçlıdır. Acil durumlarda, güvenlik bilgileri için SDS formlarını kontrol edin.
- Kitin sadece periferik kan kültürlerinden gelen metafaz ve ara faz hücrelerinde veya standart sitogenetik yöntemlerle hazırlanan doğrudan preparatlarda DNA FISH öncesinde ve sonrasında kullanılması amaçlanmıştır.
- Sadece otomatik olmayan FISH ön işlemi ve hibridizasyon için.
- Tüm malzemeler, kurumunuzun hastane atıklarının atılmasına yönelik yönergelerine göre atılmalıdır.
- Daha eski numunelerin, sitoplazmik arka planlı lamaların veya zor numunelerin kullanılması veya beklenmesi durumunda KBI-60006 FISH Sindirim kitinin kullanılması önerilir.
- Parafine gömülmüş dokular için KBI-60004 veya KBI-60007 ön işlem kitlerinin kullanılması önerilir.

Avrupa Komisyonu'nun 1272/2008 numaralı Yönetmeliğine göre etiketleme

| Kod #   | Tanım                                         | İkaz İfadesi | Piktogram                                                                           | Tehlike Bildirimleri |
|---------|-----------------------------------------------|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| LK-095B | DAPI/Antifade 0,1 µg/ml<br>(DAPI Karşıt boya) | Uyarı        |  | H315, H319, H335     |
| LK-097B | Antifade<br>(Karşıt boya seyreltici)          | Uyarı        |  | H315, H319, H335     |
| LK-102B | 0,4 x SSC/%0,3 Igepal<br>(Yıkama Tamponu I)   | Uygulanamaz  | Uygulanamaz                                                                         | Uygulanamaz          |

|                |                                            |             |             |             |
|----------------|--------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>LK-103B</b> | 2 x SSC/%0,1 Igepal<br>(Yıkama Tamponu II) | Uygulanamaz | Uygulanamaz | Uygulanamaz |
| <b>LK-105B</b> | 2 x SSC/%0,5 Igepal                        | Uygulanamaz | Uygulanamaz | Uygulanamaz |

#### Tehlike Bildirimi/Bildirimleri

H315 – Cilt tahrişine neden olur.

H319 – Şiddetli göz tahrişine neden olur.

H335 – Solunum yolu tahrişine yol açabilir.

#### Önlem amaçlı bildirimler - Önleme

P271 – Sadece açık alanda veya iyi havalandırılmış bir alanda kullanın.

P261 – Tozunu/dumanını/gazını/sisini/buharını/spreyini solumaktan kaçının.

P264 – Kullandıktan sonra maruz kalan tüm dış vücut bölgelerini iyice yıkayın.

P280 – Koruyucu eldiven/koruyucu kıyafet/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.

#### Önlem amaçlı bildirimler - Yanıt

P305+P351+P338 – GÖZLE TEMASI HALİNDE: Birkaç dakika boyunca dikkatli bir şekilde suyla yıkayın. Varsa ve çıkarması kolaysa, kontak lenslerinizi çıkarın. Yıkamaya devam edin.

P312 – Kendinizi iyi hissetmiyorsanız bir ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİ/doktoru/hekimi/ilk yardım görevlisini arayın.

P337+P313 – Göz tahrişi devam ederse: Tıbbi öneri/yardım alın.

P302+P352 – CİLDİN TEMASI HALİNDE: Bol sabun ve su ile yıkayın.

P304+P340 – SOLUNMASI HALİNDE: Kişiyi temiz havaya çıkarın ve nefes alması için rahat hale getirin.

P332+P313 – Cilt tahrişi oluşması halinde: Tıbbi öneri/yardım alın.

P362+P364 – Kirlenmiş giysilerinizi çıkarın ve yeniden kullanmadan önce yıkayın.

#### Ek Tehlike Bildirimleri: yok

Sadece profesyonel laboratuvar kullanıcıları tarafından kullanıma uygundur

#### Sembollerin açıklaması

|                                                                                     |                                   |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
|  | Tehlikeli maddeler içerir         |
|  | Üretildiği ülke                   |
|  | Ambalaj hasarlıysa kullanmayın    |
|  | Elektronik IfU'ya başvurun (elfU) |

## 8 Reaktifin Saklanması ve Taşınması

DAPI/Antifade'i güçlü ve doğrudan ışıktan koruyun. 2-8 °C'de saklayın. Açılmamış ürün, şişe etiketinde belirtilen son kullanma tarihine kadar bu koşullar altında stabildir.

Seyreltilmemiş reaktif kullandıktan hemen sonra 2-8 °C'deki ortama geri koyun.

Açıldıktan sonra ürünler 18 aya kadar stabildir ancak bu süre son kullanma tarihinden uzun değildir. Bu süreden sonra solüsyonların kullanımı uygun olmayan sonuçlara neden olabilir.

## 9 Teknik Destek

Teknik desteğe [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) adresinden veya e-posta yoluyla ulaşılabilir: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Bu ürünü kullanırken istenen sonuçlar alınmazsa veya herhangi bir anormallik ortaya çıkarsa lütfen bizimle iletişime geçin.

IfU'nun basılı bir kopyası e-posta yoluyla şu adresten talep edilebilir: [LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com)



elIfU ek dillerde mevcuttur ve şu adresten indirilebilir: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Müşteri Hizmetleri

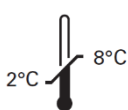
Kreatech problemleri, Leica Müşteri Hizmetleri +31 20 6919181 aracılığıyla veya e-posta yoluyla sipariş edilebilir: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

## 11 Geçmiş

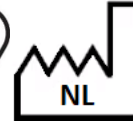
| IfU Sürümü | Yayınlama tarihi | Değişiklikler                             |
|------------|------------------|-------------------------------------------|
| 2,4        | 2016-SEP-27      | "Patoloji Şirketi" sloganı kaldırılmıştır |
| 3,0        | 2022- Nisan      | IVD düzenlemelerine göre güncellenmiştir  |

## FISH Reagent Kit (Набір реагентів для проведення FISH)

**REF KBI-60005** Містить достатній обсяг для проведення до 25 або 5x5 тестів



Kreatech Biotechnology B.V.  
Vlierweg 20  
1032 LG Амстердам  
Нідерланди  
[www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)



### 1 Призначення / мета

Флуоресцентна гібридизація in situ (FISH) ідентифікує або позначає цільові геномні послідовності, щоб можна було визначити їх розташування. Послідовності ДНК з відповідних хромосомно-специфічних зондів спочатку позначаються репортерними молекулами. Потім мічена зондом ДНК гібридується з метафазними хромосомами або інтерфазними ядрами на предметному склі. Після промивання зразок перевіряється на наявність репортерних молекул за допомогою флуоресцентної мікроскопії.

Для використання на метафазних та інтерфазних клітинах із культур периферичної крові або безпосередніх препаратів, приготовлених стандартними цитогенетичними методами.

Цей набір спеціально розроблений для отримання оптимальних результатів на СБІЖИХ цитологічних зразках.

Даний продукт призначений для використання в екстракорпоральній діагностиці (in Vitro).

### 2 Опис продукту

Цей набір для попередньої обробки призначений для неавтоматизованих FISH гібридизацій, спеціально розроблений для попередньої обробки та ферментного розщеплення метафазних та інтерфазних клітин з культур периферичної крові або безпосередніх препаратів, приготованих стандартними цитогенетичними методами, перед процедурою FISH гібридизації ДНК. Цей набір спеціально розроблений для отримання оптимальних результатів на СБІЖИХ цитологічних зразках. Використання набору дозволяє усунути перехресні зшивки у клітинах, підвищити проникність клітинних мембран та розщепити клітинні білки для полегшення зв'язування FISH-зондів зі специфічною клітинною ДНК.

### 3 Інструкції по застосуванню

#### 3.1 Зразки

Для використання на метафазних та інтерфазних клітинах із культур периферичної крові або безпосередніх препаратів, приготовлених стандартними цитогенетичними методами.

Цей набір спеціально розроблений для отримання оптимальних результатів на СБІЖИХ цитологічних зразках.

Попередня підготовка зразків до аналізу: Для отримання успішного FISH велику роль відіграє попередня підготовка. Зразок повинен бути правильно зафіксований, витриманий і попередньо оброблений відповідно до встановленого протоколу. Надмірна чи недостатня фіксація, або погана попередня обробка можуть призвести до невдачі процедури FISH або, принаймні, до низької відтворюваності/інтенсивності сигналу. FISH-зонди Kreatech були протестовані на метафазних/інтерфазних ядрах, отриманих з культивованої периферичної крові та кісткового мозку бика. Для отримання оптимальних результатів предметні стекла слід зберігати відповідно до рекомендованих умов зберігання і обробки, див.сайт Leica.

#### 3.2 Попередня обробка

Наведений нижче протокол розрахований на використання 5 предметних стекол у вертикальній банці Копліна об'ємом 50 мл.

1. Попередньо обробіть предметне скло із свіжоприготовленими зразками в 50 мл 2 x SSC/ 0,5% Igepal (LK-105B) при 37°C протягом 15 хвилин (хв.).
2. Зневодняйте у 70%, 85% та 100% етанолі по 1 хв. в кожному розчині. Висушіть на повітрі. Приступайте до **підготовки зондів**.

### 3.3 Підготовка зондів:

Зонди Kreatech™ FISH постачаються готовими до використання (RtU). Зонди SE, ST і WC Kreatech™ FISH поставляються в 5 х концентрації і повинні бути розведені таким чином: 2 мкл 5 х концентрованого зонда у 8 мкл буфера для гібридизації FISH (FHB або WCB, що поставляється з зондами). Для поєднання кількох зондів 5 х конц. замініть буфер для гібридизації FISH (FHB або WCB) на 2 мкл для кожного доданого зонда.

### 3.4 Спільна денатурація

Нанесіть 10 мкл зонда на область розміром 22 x 22 мм. Накрийте скляним покривним склом і запечатайте Fixogum або гумовим клеєм. Денатуруйте зразок і зонд на гібридизаторі ThermoBrite (TS-01/02) при температурі  $75 \pm 1$  °C протягом 5 – 10 хв. Продовжіть гібридизацію.

### 3.5 Гібридизація:

Інкубуйте протягом ночі при  $37 \pm 1$  °C в ThermoBrite (TS-01/02) або в зволоженій камері.

### 3.6 Промивання після гібридизації:

1. Підігрійте 50 мл промивного буфера I (0,4 x SSC / 0,3% Igepal) (LK-102) до 72 °C.
2. Видаліть гумовий цемент.
3. Помістіть предметні стекла в 50 мл промивного буфера II (2 x SSC / 0,1% Igepal) (L K-103), інкубуйте протягом 2 хв. при кімнатній температурі. Зніміть покривне скло. Повторно використовуйте промивний буфер тільки один раз для 10 предметних стекел.
4. Помістіть предметні стекла в 50 мл попередньо прогрітого промивного буфера I (0,4 x SSC / 0,3% Igepal) (LK-102), інкубуйте 2 хв. при 72 °C ( $\pm 1$  °C) без перемішування. Повторно використовуйте промивний буфер тільки один раз для 10 предметних стекел.
5. Помістіть предметні стекла в 50 мл свіжого промивного буфера II (2 x SSC / 0,1% Igepal) (L K-103), інкубуйте протягом 1 хв. при RT без перемішування. Повторно використовуйте промивний буфер тільки один раз для 10 предметних стекел.
6. Дегідратуйте в свіжому 70%, 85% і 100% етанолі, інкубуйте по 1 хв. при RT в кожному розчині. Висушіть на повітрі при RT і перейдіть до контрастування.

### 3.7 Контрастування:

Нанесіть 15 мл контрасту DALI (DALI / Antifade 1 мкг / мл) (LK-096b) або розведеного контрасту за допомогою розріджувача (LK097B) і накладіть покривне скло. Приступайте до мікроскопії.

### 3.8 Рекомендації по процедурі:

Оптимально підготовлені та попередньо оброблені цитологічні предметні стекла є ключем до отримання успішного результату FISH. Недостатня чи надмірна попередня обробка впливає не тільки на морфологію, але й на силу сигналу (і, отже, на простоту аналізу).

Температура і концентрація буфера (точне дотримання) при гібридизації і промиванні дуже важливі, так як зниження точності дотримання умов може привести до неспецифічного зв'язування зонда з іншими послідовностями, а її підвищення - до відсутності сигналу. Неповна денатурація цільової ДНК може призвести до відсутності сигналу.

### 3.9 Рекомендації щодо флуоресцентної мікроскопії

Для оптимальної візуалізації використовуйте мікроскоп, який добре обслуговується і регулярно калібрується, оснащений ртутною лампою потужністю 100 Вт або іншим відповідним джерелом світла (наприклад, металогалогеновою лампою (120 Вт X-cite) або світлодіодними джерелами світла) і флуоресцентним об'єктивом 63x або 100x. Трисмугові фільтри (DAPI/FITC/Cy3 або DAPI/FITC/TRITC) використовуються для перегляду декількох кольорів, односмугові фільтри використовуються для візуалізації окремих кольорів. Рекомендації щодо відповідних фільтрів для кожної марки мікроскопа див. на сайті Leica: <http://www.leicabiosystems.com/ihc-ish/kreatech-fish-probes/>.

Відповідний діапазон збудження та емісії для флуорофорів Kreatech™:

| Флуорофор           | Збудження  | Емісія     |
|---------------------|------------|------------|
| DAPI                | 360 ±20 нм | 460 ±30 нм |
| PlatinumBright™ 415 | 429 ±15 нм | 470 ±15 нм |
| PlatinumBright™ 495 | 495 ±10 нм | 517 ±10 нм |
| PlatinumBright™ 550 | 550 ±10 нм | 580 ±10 нм |

Зазначена смуга пропускання відповідає 80% від максимуму збудження / емісії флуорофора)

#### 4 Аналітичні характеристики

Характеристики набору FISH Reagent Kit були встановлені з використанням процедур, описаних в даній інструкції по застосуванню. Внесення змін до цих процедур може призвести до зміни результатів аналізу. Будь-які відхилення від рекомендованих протоколів повинні бути підтверджені Користувачем. Користувачі, які відхиляються від рекомендованих процедур тестування, за таких обставин повинні взяти на себе відповідальність за інтерпретацію результатів тестування зразків, отриманих від пацієнтів. Час протоколу може змінюватись через відмінності в фіксації і обробці.

#### 5 Необхідні матеріали, що поставляються з продуктом

| Код     | Опис                                                                       | Обсяг      |
|---------|----------------------------------------------------------------------------|------------|
| LK-095B | DAPI / Antifade 0,1 мкг / мл<br>(DAPI барвник для контрастного фарбування) | 0,5 мл     |
| LK-097B | Antifade (Антифейд)<br>(розріджувач для контрастування)                    | 0,5 мл     |
| LK-102B | 0,4 x SSC / 0,3% Igepal<br>(промивний буфер I)                             | 250 мл     |
| LK-103B | 2 x SSC / 0,1% Igepal<br>(промивний буфер II)                              | 2 x 250 мл |
| LK-105B | 2 x SSC / 0,5% Igepal                                                      | 250 мл     |

\*\* Зверніть увагу, що продукти LK-102 і L K-103, що мають однаковий номер, але різні букви, ідентичні, за винятком об'єму. A= 100 мл, B=250 мл

#### 6 Необхідні матеріали, що не поставляються з продуктом

- Етанол 100%, 85% і 70%
- Фіксогум (LK-071A) або гумовий цемент
- Лабораторна термоплита з точним контролем температури до 75 °C або гібридайзер ThermoBrite™ (TS01 / TS02)
- Інкубатор з точним температурним діапазоном від 37 °C
- Водяна баня з точним діапазоном температур 37 - 75 °C
- Пластикові та скляні ємності Копліна для фарбування препаратів
- Мікропіпетки зі змінним об'ємом (1 мкл-200 мкл)
- Флуоресцентний мікроскоп, оснащений відповідними фільтрами(див. рекомендації щодо флуоресцентної мікроскопії).

#### 7 Попередження та запобіжні заходи

- Про будь-який серйозний інцидент, що стався з приладом, необхідно повідомити виробнику і компетентному органу держави-члена ЄС, в якому мешкає користувач і/або пацієнт.
- Для використання в діагностиці in vitro. Тільки для професійного лабораторного використання. У разі виникнення надзвичайних ситуацій ознайомтеся з інформацією про безпеку в SDS листах.
- Набір призначений для використання тільки до і після проведення FISH ДНК на метафазних та інтерфазних клітинах із культур периферичної крові або безпосередніх препаратах, приготовлених стандартними цитогенетичними методами.
- Тільки для неавтоматизованої попередньої FISH обробки і гібридизації.
- Всі матеріали повинні бути утилізовані відповідно до правил вашої установи з утилізації лікарняних відходів.
- Рекомендується використовувати набір KBI-60006 FISH Digestion у разі використання старих зразків, предметного скла з цитоплазматичним фоном або, можливо, складних зразків.
- Для парафінованих тканин рекомендується використовувати набори для обробки KBI-60004 або KBI-60007.

Маркування відповідно до Постанови (ЄС) № 1272/2008

| Код     | Опис                                                                    | Сигнальне слово      | Піктограма                                                                          | Повідомлення про небезпеку |
|---------|-------------------------------------------------------------------------|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| LK-095B | DAPI / Antifade 0,1 мкг / мл (DAPI барвник для контрастного фарбування) | Попередження         |  | H315 H319 H335             |
| LK-097B | Antifade (Антифейд) (розріджувач для контрастування)                    | Попередження         |  | H315 H319 H335             |
| LK-102B | 0,4 x SSC / 0,3% Igepal (промивний буфер I)                             | не можна застосувати | не можна застосувати                                                                | не можна застосувати       |
| LK-103B | 2 x SSC / 0,1% Igepal (промивний буфер II)                              | не можна застосувати | не можна застосувати                                                                | не можна застосувати       |
| LK-105B | 2 x SSC / 0,5% Igepal                                                   | не можна застосувати | не можна застосувати                                                                | не можна застосувати       |

#### Повідомлення про небезпеку

H315-викликає подразнення шкіри.

H319-викликає серйозне подразнення очей.

H335 - може викликати подразнення дихальних шляхів

#### Попереджувальні повідомлення Профілактика

P271-використовувати тільки на відкритому повітрі або в добре провітрюваному приміщенні.

P261-уникати вдихання туману / парів / розпилення.

P264-ретельно вимити всі відкриті зовнішні ділянки тіла після роботи.

P280 - одягайте захисні рукавички, захисний одяг, засоби захисту очей та обличчя.

#### Попереджувальні повідомлення Реакція

P305 + P351 + P338 - ПРИ ПОПАДАННІ В ОЧІ: Обережно промити водою протягом декількох хвилин.

Зняти контактні лінзи, якщо вони є і легко знімаються. Продовжуйте Промивання.

P312 - якщо ви відчуваєте себе погано, зателефонуйте до центру боротьби з отрутою / лікаря / медика / лікаря швидкої допомоги.

P337 + P313 - якщо подразнення очей не проходить: Отримайте медичну консультацію/допомогу.

P302 + P352 - ПРИ ПОПАДАННІ НА ШКІРУ: Промийте великою кількістю води з милом.

P304 + P340 - ПРИ ВДИХАННІ: Виведіть людину на свіже повітря і забезпечте комфортне дихання.

P332 + P313 - при виникненні подразнення шкіри: Отримайте медичну консультацію/допомогу.

P362 + P364-зняти забруднений одяг і випрати його перед повторним використанням.

#### Додаткові повідомлення про небезпеку: немає

Обмежено для професійних користувачів лабораторії

#### Пояснення до символів

|                                                                                     |                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
|  | Містить небезпечні речовини |
|  | Країна-виробник             |

|                                                                                   |                                              |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
|  | Не використовувати, якщо упаковка пошкоджена |
|  | Проконсультуйтеся з електронним IfU (elfU)   |

## 8 Зберігання та поводження з реагентами

Захищайте DAPI/ Antifade (Антифейд) від сильного і прямого світла. Зберігати при температурі 2 - 8 °C. Нерозкритий продукт стабільний при цих умовах до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці флакона.

Нерозведені і розведені реагенти відразу після використання поверніть в 2 - 8 °C.

Після розкриття реагенти стабільні протягом 18 місяців, але не довше терміну придатності. Після закінчення цього терміну використання розчинів може привести до неоптимальних результатів.

## 9 Технічна підтримка

Технічна підтримка доступна за адресою [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com) або електронною поштою: [Kreatech.Support@Leicabiosystems.com](mailto:Kreatech.Support@Leicabiosystems.com). Зв'яжіться з нами, якщо бажані результати не отримані або з'явилися будь-які аномалії при використанні даного продукту.

Друковану копію IfU можна запросити електронною поштою, звернувшись за адресою: [LBSAMS-IfU@leicabiosystems.com](mailto:LBSAMS-IfU@leicabiosystems.com)



Електронна версія IfU доступна на додаткових мовах, які можна завантажити за адресою: [www.leicabiosystems.com](http://www.leicabiosystems.com)

## 10 Обслуговування клієнтів

Зонди Kreatech можна замовити через службу підтримки клієнтів Leica +31 20 69181 або електронною поштою: [purchase.orders@leica-microsystems.com](mailto:purchase.orders@leica-microsystems.com).

## 11 Історія

| Версія IfU | Дата випуску | Зміни                                     |
|------------|--------------|-------------------------------------------|
| 2,4        | 2016-SEP-27  | Видалить теглайн "The pathology Company " |
| 3,0        | Квітень 2022 | Оновлення відповідно до правил IVD        |