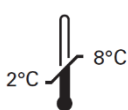


FISH Digestion Kit

REF KBI-60006

Containing sufficient volume for up to 25 or 5x5 tests



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdam
The Netherlands
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 in case older samples, slides with cytoplasmic background, or difficult samples are used or expected.

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 OLDER 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 in case older samples, slides with cytoplasmic background, or difficult samples are used or expected.

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 dry sample slide in 50 ml 2 x SSC (LK-104B), at 37°C for 2 minutes (min).
2. Drop approximately 200 µl of Pepsin Solution (LK-101B) on the cells and incubate at room temperature (RT) the slides 30 seconds - 10 min (depending on sample material, fixation time and storage conditions).
3. Wash slide for 3 min in 1 x PBS at RT.
4. Post-fix in 1% buffered formaldehyde in 1x PBS / 20 mM MgCl₂ for 10 min at RT.
5. Wash slide for 3 min in 1 x PBS at RT.
6. Dehydrate in 70%, 85% and 100% ethanol for 1 min each. Air-dry. 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 coverslips. 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 Digestion 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. In addition, pepsin incubation time may require optimization depending on processing and fixation conditions.

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-101B	Pepsin Solution	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-104B	2 x SSC	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 pretreatment and hybridization only.
- All materials should be disposed of according to your institution's guidelines for hospital waste disposal.
- It is advised to use KBI-60005 FISH reagent kit in case freshly prepared cytological samples are used.
- 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-101B	Pepsin Solution	N.A.	N.A.	N.A.
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-104B	2 x SSC	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 and diluted reagents 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 or via e-mail: 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



The elfU is available in additional languages that can be downloaded from: 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.

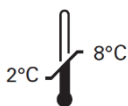
11 History

IfU Version	Date of issue	Changes
2.5	2016-SEP-27	Remove the tagline "The pathology Company"
3.0	2022-April	Update according to IVD regulations

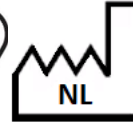
Комплект за дигестия на FISH

REF KBI-60006
теста

Съдържа достатъчно количество за до 25 или 5x5



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdam
Нидерландия
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 хибридува 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, в случай че се използват или очакват по-стари проби, предметни стъкла с цитоплазмен фон или трудни 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 ПО-СТАРИ 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, в случай че се използват или очакват по-стари проби, предметни стъкла с цитоплазмен фон или трудни 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 сухо предметно стъкло с проба в 50 ml 2 x SSC (LK-104B) при 37°C за 2 минути (мин.).
2. Капнете около 200 µl Pepsin Solution (LK-101B) върху клетките и инкубирайте при стайна температура (СТ) предметните стъкла за 30 секунди – 10 минути (в зависимост от материала на пробата, времето на фиксация и условията на съхранение).
3. Промийте предметното стъкло за 3 минути в 1 x PBS при стайна температура.
4. След това фиксирайте в 1% буфериран формалдеhid в 1x PBS/20 mM MgCl₂ за 10 минути при стайна температура.
5. Промийте предметното стъкло за 3 минути в 1 x PBS при стайна температура.
6. Дехидратирайте 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 покривните стъкла. 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. Дехидратирайте 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 за дигестия на 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. В допълнение инкубационното време на пепсина може да изисква оптимизация в зависимост от типа тъкан, условията за обработка и фиксация.

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-101B	Pepsin Solution	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-104B	2 x SSC	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-60005 Комплект с реагент за FISH, ако се използват пряно подготвени цитологични 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-101B	Pepsin Solution	Не е приложимо	Не е приложимо	Не е приложимо
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-104B	2 x SSC	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.

IfU Published: 2022 April

Page 9 of 132

IfU Doc name: IfU-KBI-60006_version3.0

P302+P352 – ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА: Измийте обилно със сапун и вода.

P304+P340 – ПРИ ВДИШВАНЕ: Изведете лицето на чист въздух и го поставете в позиция, улесняваща дишането.

P332+P313 – При поява на кожно дразнене: Потърсете медицински съвет/помощ.

P362+P364 – 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.

Разредените и 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 или чрез имейл: 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



Можете да изтеглите еИЗУ на различни езици от: 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.

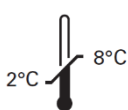
11 Хронология

Версия на ИЗУ	Дата на издаване	Промени
2,5	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 Digestion Kit

REF KBI-60006

Obsahuje dostatečný objem až pro 25 nebo 5x5 testů



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdam
Nizozemsko
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 získání optimálních výsledků v případě, že se používají nebo očekávají starší vzorky, preparáty s cytoplazmatickým pozadím nebo obtížné vzorky.

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 STARŠÍCH 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 získání optimálních výsledků v případě, že se používají nebo očekávají starší vzorky, preparáty s cytoplazmatickým pozadím nebo obtížné vzorky.

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. Sonden 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. Suchá sklíčka se vzorky se předem upraví v 50 ml 2 x SSC(LK-104B), při 37°C po dobu 2 minut (min).
2. Na buňky kápněte přibližně 200 µl roztoku pepsinu (LK-101B) a inkubujte při pokojové teplotě (room temperature, RT) sklíčka 30 sekund – 10 minut (v závislosti na materiálu vzorku, době fixace a podmínkách skladování).
3. Promývejte sklíčko 3 minuty v 1 x PBS při RT.
4. Postfixujte v 1% pufrovaném formaldehydu v 1 x PBS / 20mM MgCl₂ po dobu 10 min při RT.

5. Promývejte sklíčko 3 minuty v 1 x PBS při RT.
6. Odvodněte ponořením do 70%, 85% a 100% etanolu vždy na 1 min. 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 ředícího 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 Digestion 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. Dále může být nutné optimalizovat dobu inkubace pepsinu v závislosti na zpracování a podmínkách fixace.

5 Materiály, které jsou nezbytné a jsou dodávány s produktem

Kód č.	Popis	Objem
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (Kontrastní barvivo DAPI)	0,5 ml
LK-097B	Antifade (Ředící roztok kontrastního barviva)	0,5 ml
LK-101B	Roztok pepsinu	5 ml
LK-102B*	0,4 x SSC / 0,3% Igepal (Promývací pufr I)	250 ml
LK-103B*	2 x SSC / 0,1% Igepal (Promývací pufr II)	2 x 250 ml
LK-104B	2 x SSC	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 použití čerstvě připravených cytologických vzorků se doporučuje použít reagenční soupravu KBI-60005 FISH.

- Pro tkáně 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 (Kontrastní barvivo DAPI)	Varování		H315, H319, H335
LK-097B	Antifade (Ředící roztok kontrastního barviva)	Varování		H315, H319, H335
LK-101B	Roztok pepsinu	Neuvádí se	Neuvádí se	Neuvádí se
LK-102B	0,4 x SSC / 0,3% Igepal (Promývací pufr I)	Neuvádí se	Neuvádí se	Neuvádí se
LK-103B	2 x SSC / 0,1% Igepal (Promývací pufr II)	Neuvádí se	Neuvádí se	Neuvádí se
LK-104B	2 x SSC	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

Pokyny 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 KŮŽÍ: 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 (elfU)

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 i nařazené reagenty 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 nebo prostřednictvím e-mailu: 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



elfU je k dispozici v dalších jazycích, které si můžete stáhnout ze stránek: 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.

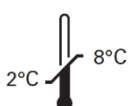
11 Historie dokumentu

Verze IfU	Datum vydání	Změny
2,5	2016-SEP-27	Odstranění sloganu „Společnost pro patologie“
3,0	duben 2022	Aktualizace podle předpisů pro IVD

FISH Digestion Kit

REF KBI-60006
tests

Indeholder tilstrækkelig volumen til op til 25 eller 5x5



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdam
Holland
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 hvis der anvendes eller forventes ældre prøver, objektglas med cytoplasmatisk baggrund eller vanskelige 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 ÆLDRE 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 hvis der anvendes eller forventes ældre prøver, objektglas med cytoplasmatisk baggrund eller vanskelige 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 tørre prøveobjektglas i 50 ml 2 x SSC (LK-104B) ved 37 °C i 2 minutter (min.).
2. Dryp ca. 200 µl pepsinopløsning (LK-101B) på cellerne, og inkubér objektglassene ved rumtemperatur i 30 sekunder til 10 minutter (afhængigt af prøvemateriale, fikseringstid og opbevaringsbetingelser).
3. Vask objektglasset i 3 minutter i 1 x PBS ved rumtemperatur.
4. Efterfiksér i 1 % bufret formaldehyd i 1x PBS/20 mM MgCl₂ i 10 min ved rumtemperatur.
5. Vask objektglasset i 3 minutter i 1 x PBS ved rumtemperatur.
6. 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. sonde.

3.4 Co-denaturering

Påfør 10 µl sonde pr. 22 x 22 mm felt. Dæk med glasdæksel og forsegl med Fixogum eller gummiment. 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 gummiment.
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 båndpasfiltre 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 Digestion Kit 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. Derudover kan pepsin-inkubationstid kræve optimering afhængigt af behandlings- og fikseringsbetingelser.

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-101B	Pepsinopløsning	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-104B	2 x SSC	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 tilrådes at bruge KBI-60005 FISH-reagenskit, hvis der anvendes friskt fremstillede cytologiske 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-101B	Pepsinopløsning	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant

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-104B	2 x SSC	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 vejtrækningen lettes.

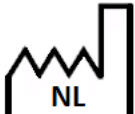
P332+P313 – Ved hudirritation: Søg lægehjælp/-behandling.

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 ufordyndede og fordyndede reagenser 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 eller via e-mail: 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



Den elektroniske brugsanvisning er tilgængelig på yderligere sprog, der kan downloades fra: 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.

11 Historik

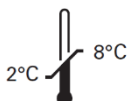
Brugsanvisningsversion	Udstedelsesdato	Ændringer
2,5	2016-SEP-27	Fjern sloganet "The pathology Company"
3,0	April 2022	Opdatering i henhold til IVD-regler

DE

FISH Digestion Kit

REF KBI-60006

Volumen ausreichend für bis zu 25 oder 5 x 5 Tests



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdam
Niederlande
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 zu erhalten, wenn ältere Proben, Objektträger mit zytoplasmatischem Hintergrund oder schwierige Proben verwendet oder erwartet werden.

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 NICHT 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 zu erhalten, wenn ältere Proben, Objektträger mit zytoplasmatischem Hintergrund oder schwierige Proben verwendet oder erwartet werden.

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. Die trockenen Proben-Objektträger 2 Minuten (Min.) lang bei 37 °C in 50 ml 2 x SSC (LK-104B) vorbehandeln.
2. Ungefähr 200 µl Pepsinlösung (LK-101B) auf die Zellen tropfen und die Objektträger dann 30 Sekunden bis 10 Min. lang (je nach Probenmaterial, Fixierungszeit und Lagerungsbedingungen) bei Raumtemperatur (RT) inkubieren.
3. Die Objektträger 3 Min. lang bei RT in 1 x PBS waschen.
4. Dann 10 Min. lang bei RT in 1 % gepuffertem Formaldehyd in 1 x PBS/20 mM MgCl₂ postfixieren.
5. Die Objektträger 3 Min. lang bei RT in 1 x PBS waschen.
6. 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 ± 1 °C in einem ThermoBrite (TS-01/02) denaturieren. Mit der **Hybridisierung** fortfahren.

3.5 Hybridisierung

Über Nacht bei 37 ± 1 °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 °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 °C (+/- 1 °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 ± 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

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

4 Analytische Leistung

Die Leistung des FISH Digestion 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. Zudem kann abhängig von den Verarbeitungs- und Fixierungsbedingungen eine Optimierung der Pepsin-Inkubationszeit erforderlich sein.

5 Erforderliche und im Lieferumfang des Produkts enthaltene Materialien

Code-Nr.	Beschreibung	Volumen
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI Gegenfärbemittel)	0,5 ml
LK-097B	Antifade (Gegenfärbemittel-Verdünner)	0,5 ml
LK-101B	Pepsinlösung	5 ml
LK-102B*	0,4 x SSC/0,3 % Igepal (Waschpuffer I)	250 ml
LK-103B*	2 x SSC/0,1 % Igepal (Waschpuffer II)	2 x 250 ml
LK-104B	2 x SSC	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 frisch vorbereitete zytologische Proben verwendet werden, wird die Verwendung des KBI-60005 FISH Reagent 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)
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI Gegenfärbemittel)	Achtung		H315, H319, H335
LK-097B	Antifade (Gegenfärbemittel-Verdünner)	Achtung		H315, H319, H335
LK-101B	Pepsinlösung	N.A.	N.A.	N.A.
LK-102B	0,4 x SSC/0,3 % Igepal (Waschpuffer I)	N.A.	N.A.	N.A.
LK-103B	2 x SSC/0,1 % Igepal (Waschpuffer II)	N.A.	N.A.	N.A.
LK-104B	2 x SSC	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. Verdünnte und 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 oder per E-Mail an 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.



Die elektronische Gebrauchsanweisung kann in unterschiedlichen Sprachen unter www.leicabiosystems.com heruntergeladen werden.

10 Kundendienst

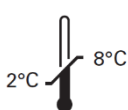
Kreatech Sonden können beim Leica-Kundendienst unter +31 20 6919181 oder per E-Mail an purchase.orders@leica-microsystems.com bestellt werden.

11 Historie

Version der Gebrauchsanweisung	Ausgabedatum	Änderungen
2,5	27. SEP. 2016	Entfernung der Tagline „The pathology Company“
3,0	April 2022	Aktualisierung in Übereinstimmung mit den IVD-Verordnungen

Κιτ πέψης FISH**REF** KBI-60006

Περιέχει επαρκή όγκο για έως και 25 ή 5x5 δοκιμές



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdam
Ολλανδία
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 περίπτωση που χρησιμοποιούνται ή αναμένονται παλαιά δείγματα, αντικειμενοφόροι πλάκες με κυτταροπλασματικό υπόβαθρο ή δύσκολα 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 ΠΑΛΑΙΑ 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 περίπτωση που χρησιμοποιούνται ή αναμένονται παλαιά δείγματα, αντικειμενοφόροι πλάκες με κυτταροπλασματικό υπόβαθρο ή δύσκολα 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 καλλιεργημένο 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 coplin των 50 ml.

IfU Published: 2022 April

Page 27 of 132

IfU Doc name: IfU-KBI-60006_version3.0

1. Προεπεξεργαστείτε την στεγνή αντικειμενοφόρο πλάκα δείγματος σε 50 ml 2 x SSC (LK-104B), στους 37°C για 2 λεπτά (min).
2. Ρίξτε περίπου 200 μl διαλύματος πεψίνης (LK-101B) στα κύτταρα και επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου (RT) τις αντικειμενοφόρους πλάκες για 30 δευτερόλεπτα - 10 λεπτά (ανάλογα με το υλικό του δείγματος, το χρόνο στερέωσης και τις συνθήκες αποθήκευσης).
3. Εκπλύνετε την αντικειμενοφόρο πλάκα για 3 λεπτά σε 1 x PBS σε θερμοκρασία δωματίου.
4. Στη συνέχεια, σταθεροποιήστε σε 1% ρυθμισμένη φορμαλδεΐδη σε 1x PBS / 20 mM MgCl₂ για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.
5. Εκπλύνετε την αντικειμενοφόρο πλάκα για 3 λεπτά σε 1 x PBS σε θερμοκρασία δωματίου.
6. Αφυδατώστε σε αιθανόλη 70%, 85% και 100% για 1 min 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:

Επωάστε 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), επωάστε για 2 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου RT. Αφαιρέστε τις καλυπτρίδες. 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), επωάστε 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), επωάστε 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%, επωάστε για 1 λεπτό το καθένα σε RT. Στεγνώστε με αέρα σε θερμοκρασία δωματίου και προχωρήστε σε **Αντιχρωματισμό**.

3.7 Αντιχρωματισμός:

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 πέψης 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. Επιπλέον, ο χρόνος επώασης της πεψίνης μπορεί να απαιτεί βελτιστοποίηση ανάλογα με τις συνθήκες επεξεργασίας και στερέωσης.

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-101B	Διάλυμα πεψίνης	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-104B	2 x SSC	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 αντιδραστηρίου KBI-60005 FISH σε περίπτωση που χρησιμοποιούνται πρόσφατα παρασκευασμένα κυτταρολογικά 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
LK-095B	DAPI/Αντιξεθωριαστικό 0,1 µg/ml (Αντίχρωμα DAPI)	Προειδοποίηση		H315, H319, H335
LK-097B	Αντιξεθωριαστικό (Αραιωτικό αντιχρωματισμού)	Προειδοποίηση		H315, H319, H335
LK-101B	Διάλυμα πεψίνης	M.Δ.	M.Δ.	M.Δ.
LK-102B	0.4 x SSC / 0.3% Igepal (Ρυθμιστικό διάλυμα I)	M.Δ.	M.Δ.	M.Δ.
LK-103B	2 x SSC / 0.1% Igepal (Ρυθμιστικό διάλυμα II)	M.Δ.	M.Δ.	M.Δ.
LK-104B	2 x SSC	M.Δ.	M.Δ.	M.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.

Αμέσως μετά τη χρήση, επιστρέψτε τα μη αραιωμένα και τα αραιωμένα αντιδραστήρια στους 2-8 °C.

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 ή μέσω ηλεκτρονικού ταχυδρομείου: 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



Το elfU είναι διαθέσιμο σε επιπλέον γλώσσες, τις οποίες μπορείτε να κατεβάσετε από τη διεύθυνση: 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.

11 Ιστορικό

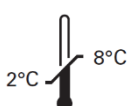
Έκδοση IfU	Ημερομηνία έκδοσης	Αλλαγές
2,5	2016-SEP-27	Αφαιρέστε το λογότυπο "The pathology Company".
3,0	Απρίλιος -2022	Ενημέρωση σύμφωνα με τους κανονισμούς IVD

ES

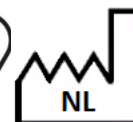
FISH Digestion Kit

REF KBI-60006
tests

Con un volumen suficiente para hasta 25 o 5X5



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdam
Países Bajos
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 estándar.

Este kit de pretratamiento está específicamente desarrollado para obtener unos resultados óptimos en caso de utilizar o esperar muestras más antiguas, portaobjetos con origen citoplasmático o muestras difíciles.

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 estándar previos al procedimiento de hibridación FISH de ADN. Este kit está específicamente desarrollado para obtener unos resultados óptimos en muestras citológicas preparadas MÁS ANTIGUAS. 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 estándar.

Este kit de pretratamiento está específicamente desarrollado para obtener unos resultados óptimos en caso de utilizar o esperar muestras más antiguas, portaobjetos con origen citoplasmático o muestras difíciles.

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.

IfU Published: 2022 April

IfU Doc name: IfU-KBI-60006_version3.0

Page 32 of 132

1. Pretrate el portaobjetos con la muestra seca en 50 ml 2 x SSC (LK-104B), a 37 °C durante 2 minutos (mínimo).
2. Vierta aproximadamente 200 µl de solución de pepsina (LK-101B) en las células e incube los portaobjetos a temperatura ambiente de 30 segundos a 10 minutos (según el material de la muestra, el tiempo de fijación y las condiciones de almacenamiento).
3. Lave el portaobjetos durante 3 minutos en 1 x PBS a temperatura ambiente.
4. Realice la fijación posterior en 1 % de formaldehído tamponado en 1x PBS / 20 mM MgCl₂ durante 10 minutos a temperatura ambiente.
5. Lave el portaobjetos durante 3 minutos en 1 x PBS a temperatura ambiente.
6. 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 los cubreobjetos. 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
PlatinumBright™ 550	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 Digestion 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. Además, el tiempo de incubación de la pepsina puede requerir la optimización dependiendo del el procesamiento y las condiciones de fijación.

5 Materiales necesarios y facilitados con el producto

N.º de código	Descripción	positivo
LK-095B	DAPI/Antifade - 0,1 µg/ml (Contratinción DAPI)	0,5 ml.
LK-097B	Antifade (Diluyente para contratinción)	0,5 ml.
LK-101B	Solución de pepsina	5 ml.
LK-102B*	0,4 x SSC / 0,3% de Igepal (Tampón de lavado I)	250 ml.
LK-103B*	2 x SSC / 0,1% de Igepal (Tampón de lavado II)	2 x 25 ml
LK-104B	2 x SSC	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 estándar.
- 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 reactivos FISH KBI-60005 si se utilizan muestras citológicas recién preparadas.
- 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
LK-095B	DAPI/Antifade - 0,1 µg/ml (Contratinción DAPI)	Advertencia		H315, H319, H335
LK-097B	Antifade (Diluyente para contratinción)	Advertencia		H315, H319, H335
LK-101B	Solución de pepsina	N.A.	N.A.	N.A.
LK-102B	0,4 x SSC / 0,3% de Igepal (Tampón de lavado I)	N.A.	N.A.	N.A.
LK-103B	2 x SSC / 0,1% de Igepal (Tampón de lavado II)	N.A.	N.A.	N.A.
LK-104B	2 x SSC	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 (eIfU)

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 diluidos y no diluidos a 2-8 °C inmediatamente después de su uso.

Una vez abiertos, los productos son estables durante un máximo de 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 o por correo electrónico: 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



Las instrucciones de uso electrónicas están disponibles en más idiomas y se puede descargar desde: 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.

11 Historia

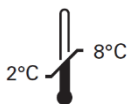
Versión de las instrucciones de uso	Fecha de emisión	Cambios
2,5	2016-SEP-27	Elimine el eslogan «La empresa centrada en la patología»
3,0	Abril de 2022	Actualización conforme a las normativas IVD.

ET

FISH seedimise komplekt

REF KBI-60006

Sisaldab piisavat mahtu kuni 25 või 5 × 5 testi jaoks



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdam
Madalmaad
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 reportermolekulidega. Seejärel hübridiseeritakse etiketeeritud DNA sond slaidil olevate metafaasi kromosoomide või interfaasi tuumadega. Pärast pesemist skriinitakse proovi reportermolekulide suhtes fluorestsentsmikroskoopia abil.

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

See eeltöötlemise komplekt on spetsiifiliselt välja töötatud optimaalsete tulemuste saamiseks vanemate proovide ja tsütoplasmaatilise taustaga slaidide korral või juhul, kui on kasutatud või eeldatud keerulisi proove.

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 VANEMATE 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 otsestest preparatsioonidel, mis on prepareeritud standardsete tsütogeneetiliste meetoditega.

See eeltöötlemise komplekt on spetsiifiliselt välja töötatud optimaalsete tulemuste saamiseks vanemate proovide ja tsütoplasmaatilise taustaga slaidide korral või juhul, kui on kasutatud või eeldatud keerulisi proove.

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 perifeerselt verest ja/või luuüdist saadud metafaasi/interfaasi tuumadega. Slaide 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 kuiva proovislaidi 50 ml 2 × SSC sees (LK-104B), 37 °C juures 2 minuti (min) jooksul.
2. Tilgutage ligikaudu 200 µl pepsiini lahust (LK-101B) rakkudele ja inkubeerige slaide toatemperatuuril (RT) 30 sekundit – 10 min (sõltuvalt proovi materjalist, fikseerimisajast ja säilitamistingimustest).
3. Peske slaidi 3 min jooksul 1 × PBS sees toatemperatuuril (RT).

4. Järelfikseerige 1% puhverdatud formaldehüüdis 1 × PBS / 20 mM MgCl₂ sees 10 min jooksul toatemperatuuril (RT).
5. Peske slaidi 3 min jooksul 1 × PBS sees toatemperatuuril (RT).
6. Dehüdreerige, leotades neid 70%, 85% ja 100% etanoolis, igaühes 1 min jooksul. Kuivatage õhuga. Jätkake **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 katteklaasid 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 soovituste 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
PlatinumBright™ 550	550 ±10 nm	580 ±10 nm

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

4 Analüütiline toimivus

FISH seedimise komplekti toimivus on kindlaks tehtud käesolevas kasutusjuhises kirjeldatud protseduuride abil. Nende protseduuride modifitseerimised võivad analüüsi toimivust muuta. Mistahes kõrvalekalde 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. Lisaks võib pepsiini inkubatsiooniaeg vajada optimeerimist sõltuvalt töötlemise ja fikseerimise tingimustest.

5 Vajalikud ja koos tootega tarnitud materjalid

Kood #	Kirjeldus	Maht
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI kontrastvärv)	0,5 ml
LK-097B	Antifade (Kontrastvärvi lahjendi)	0,5 ml
LK-101B	Pepsiini lahus	5 ml
LK-102B*	0,4 × SSC / 0,3% Igepali (Pesupuhver I)	250 ml
LK-103B*	2 × SSC / 0,1% Igepali (Pesupuhver II)	2 × 250 ml
LK-104B	2 × SSC	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 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 prepareeritud standardsete tsütogeneetiliste meetoditega.
- Ainult mitteautomaatse FISH eeltöötlemise ja hübriidisatsiooni jaoks.
- Kõik materjalid tuleb kõrvaldada vastavalt teie asutuse haiglahäätmete kõrvaldamise juhistele.

- Juhul kui kasutatakse värskelt prepareeritud tsütoloogilisi proove, soovitatakse kasutada KBI-60005 FISH-reaktiivikomplekti.
- 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
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI kontrastvärv)	Hoiatus		H315, H319, H335
LK-097B	Antifade (Kontrastvärvi lahjendi)	Hoiatus		H315, H319, H335
LK-101B	Pepsiini lahus	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata
LK-102B	0,4 × SSC / 0,3% Igepali (Pesupuhver I)	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata
LK-103B	2 × SSC / 0,1% Igepali (Pesupuhver II)	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata
LK-104B	2 × SSC	Ei kohaldata	Ei kohaldata	Ei kohaldata

Ohulaused(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 hoolega 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 kasutusjuhisega (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 ja lahjendatud reaktiivid 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 või e-posti teel: 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



Elektrooniline kasutusjuhise (elfU) on saadaval täiendavates keeltes, mida saab alla laadida aadressilt: 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.

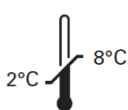
11 Ajalugu

Kasutusjuhise (IfU) versioon	Väljaandmise kuupäev	Muudatused
2.5	2016-SEP-27	Eemaldatakse tunnuslause „Patoloogia ettevõtte“
3.0	April 2022	Värskendus kooskõlas in vitro diagnostika (IVD) määrustega

Kit de digestion FISH

REF KBI-60006

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



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdam
Pays-Bas
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 au cas où des échantillons plus anciens, des lames avec un fond cytoplasmique ou des échantillons difficiles sont utilisés ou attendus.

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 d'ANCIENS échantillons cytologiques 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 au cas où des échantillons plus anciens, des lames avec un fond cytoplasmique ou des échantillons difficiles sont utilisés ou attendus.

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 la lame de prélèvement sèche dans 50 ml 2 x SSC (LK-104B), à 37 °C pendant 2 minutes (min).

2. Déposer une solution de pepsine d'environ 200 µl (LK-101B) sur les cellules et incuber les lames à la température ambiante (TA) 30 secondes - 10 min (en fonction du matériau de l'échantillon, du temps de fixation et des conditions de stockage).
3. Laver la lame pendant 3 min dans 1 x PBS à la TA.
4. Postfixer dans 1% de formaldéhyde dilué dans 1x PBS / 20 mM MgCl₂ pendant 10 min à la TA.
5. Laver la lame pendant 3 min dans 1 x PBS à la TA.
6. Déshydrater dans de l'éthanol à 70%, à 85% et à 100% pendant 1 min 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 couvre-lames. 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 digestion 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. Par ailleurs, la durée d'incubation de la pepsine devra éventuellement être optimisée selon le traitement et les conditions de fixation.

5 Matériel nécessaire et fourni avec le produit

Référence #	Description	Volume
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (Contre-coloration au DAPI)	0,5 ml
LK-097B	Antifade (Diluent de contre-coloration)	0,5 ml
LK-101B	Solution de pepsine	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-104B	2 x SSC	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 réactif FISH KBI-60005 au cas où des échantillons cytologiques frais préparés sont utilisés.
- 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 (Contre-coloration au DAPI)	Avertissement		H315, H319, H335
LK-097B	Antifade (Diluent de contre-coloration)	Avertissement		H315, H319, H335
LK-101B	Solution de pepsine	S.O.	S.O.	S.O.
LK-102B	0,4 x SSC / 0,3% Igepal (Wash Buffer I)	S.O.	S.O.	S.O.
LK-103B	2 x SSC / 0,1% Igepal (Wash Buffer II)	S.O.	S.O.	S.O.
LK-104B	2 x SSC	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 et 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 ou par e-mail : 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



Le eME est disponible dans d'autres langues et peut être téléchargé à partir de : 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.

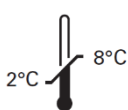
11 Historique

Version du ME	Date de publication	Modifications
2,5	2016-SEP-27	Supprimer le tagline « The pathology Company »
3,0	Avril- 2022	Mise à jour conformément à la réglementation IVD

FISH Pribor za digestiju

REF KBI-60006

Sadrži dovoljan volumen za do 25 ili 5 x 5 testova



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdam
Nizozemska
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 u slučaju da se koriste ili očekuju stariji uzorci, stakalca s citoplazmatskom pozadinom ili teški uzorci.

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 STARIJIM 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 u slučaju da se koriste ili očekuju stariji uzorci, stakalca s citoplazmatskom pozadinom ili teški uzorci.

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. Predobradite suho stakalce s uzorkom u 50 ml 2 x SSC (LK-104B), na 37 °C tijekom 2 minute (min.).
2. Nakapajte približno 200 µl otopine pepsina (LK-101B) na stanice i stakalca inkubirajte na sobnoj temperaturi 30 sekundi – 10 minuta (ovisno o materijalu uzorka, vremenu fiksacije i uvjetima skladištenja).
3. Stakalce ispirati 3 minute u 1 x PBS na sobnoj temperaturi.
4. Postfiksirati u 1 % puferiranom formaldehidu u 1x PBS / 20 mM MgCl₂ tijekom 10 minuta na sobnoj temperaturi.

5. Stakalce ispirati 3 minute u 1 x PBS na sobnoj temperaturi.
6. 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 pokrovno staklo. 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™ fluorofore:

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 fluoroforma).

4 Analitička učinkovitost

Učinkovitost FISH Pribora za digestiju 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. Osim toga, vrijeme inkubacije pepsina može zahtijevati optimizaciju ovisno o uvjetima obrade i fiksacije.

5 Potrebni materijali koji se isporučuju s proizvodom

Šifra #	Opis	Volumen
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI protuboja)	0,5 ml
LK-097B	Antifade (Razrjeđivač protuboje)	0,5 ml
LK-101B	Otopina pepsina	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-104B	2 x SSC	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
- Grijača 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 pripravaka 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-60005 FISH kompleta reagensa u slučaju da se koriste svježe pripremljeni citološki 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 protuboja)	Upozorenje:		H315, H319, H335
LK-097B	Antifade (Razrjeđivač protuboje)	Upozorenje:		H315, H319, H335
LK-101B	Otopina pepsina	Nije primjenjivo.	Nije primjenjivo.	Nije primjenjivo.
LK-102B	0,4 x SSC / 0,3 % Igepal (Pufer za ispiranje I)	Nije primjenjivo.	Nije primjenjivo.	Nije primjenjivo.
LK-103B	2 x SSC / 0,1 % Igepal (Pufer za ispiranje II)	Nije primjenjivo.	Nije primjenjivo.	Nije primjenjivo.
LK-104B	2 x SSC	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 svježi 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.

Nerazrijeđene i razrijeđene reagense 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 ili putem e-pošte: 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



Dokument eUU je dostupan na dodatnim jezicima i može se preuzeti na: 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.

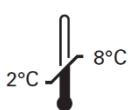
11 Povijest

Verzija UU	Datum izdanja	Izmjene
2,5	2016-SEP-27	Uklonjen slogan „Društvo za patologiju“
3,0	Travanj 2022.	Ažuriranje u skladu s propisima o IVD-u

FISH emésztőkit

REF KBI-60006

25 vagy 5 × 5 teszthez elegendő térfogatot tartalmaz



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amszterdam
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 az optimális eredmények elérése érdekében fejlesztették ki kifejezetten azokra az esetekre, ha régebbi mintákat, citoplazmás háttérrel rendelkező tárgylemezeket vagy nehéz mintákat használnak vagy várnak.

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 RÉGEBBEN előkészített citológiai mintákon történő optimális eredmények eléréséhez fejlesztették ki. A kit használata megfordítja a sejtekben lévő keresztkötéseket, permeabilissá teszi a sejtmembránt és emésztí 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 az optimális eredmények elérése érdekében fejlesztették ki kifejezetten azokra az esetekre, ha régebbi mintákat, citoplazmás háttérrel rendelkező tárgylemezeket vagy nehéz mintákat használnak vagy várnak.

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 száraz mintatárgylemezt 50 ml 2 × SSC-ben (LK-104B), 37 °C-on 2 percig.
2. Cseppentsen körülbelül 200 µl pepszinoldatot (LK-101B) a sejtekre, és inkubálja szobahőmérsékleten a tárgylemezeket 30 másodperc – 10 perc közötti időtartamig (a minta anyagától, a fixálási időtől és a tárolási körülményektől függően).

3. Mossa a tárgylemezt 3 percig 1 × PBS-ben szobahőmérsékleten.
4. Utófixálja 1%-os pufferelt formaldehydben 1 × PBS/20 mM MgCl₂ oldatban 10 percig szobahőmérsékleten.
5. Mossa a tárgylemezt 3 percig 1 × PBS-ben szobahőmérsékleten.
6. Dehidratálja 70%-os, 85%-os és 100%-os etanolban egyenként 1 percig. Szárítsa meg 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 koncentrációjában 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 pára kamrában.

3.6 Hibridizáció utáni mosás:

1. Melegítsen elő 50 ml mosópuffer I-et (0,4 × SSC/0,3% Igepal) (LK-102) 72 °C-ra.
2. Távolítsa el a gumicementet.
3. Helyezze a tárgylemezeket 50 ml mosópuffer II-be (2 × SSC/0,1% Igepal) (LK-103), inkubálja 2 percig szobahőmérsékleten. Csúszassa le a fedőlemezeket. A mosópuffert csak egyszer használja fel újra, összesen 10 tárgylemezre.
4. 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.
5. 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.
6. 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 előkezelt 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
PlatinumBright™ 415	429 ±15 nm	470 ±15 nm
PlatinumBright™ 495	495 ±10 nm	517 ±10 nm
PlatinumBright™ 550	550 ±10 nm	580 ±10 nm

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

4 Analitikai teljesítmény

A FISH Emésztőkit 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. Ezenkívül a pepszin inkubációs ideje a feldolgozási és fixálási körülményektől függően optimalizálást igényelhet.

5 Szükséges és a termékkel együtt biztosított anyagok

Kódszám	Leírás	Térfogat
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI Kontrasztfesték)	0,5 ml
LK-097B	Antifade (Kontrasztfesték-hígító)	0,5 ml
LK-101B	Pepszinoldat	5 ml
LK-102B*	0,4 × SSC/0,3% Igepal (Mosópuffer I)	250 ml
LK-103B*	2 × SSC/0,1% Igepal (Mosópuffer II)	2 × 250 ml
LK-104B	2 × SSC	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-60005 FISH reagenskit használata javasolt abban az esetben, ha frissen előkészített citológiai mintákat használnak.
- 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
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI Kontrasztfesték)	Figyelem		H315, H319, H335
LK-097B	Antifade (Kontrasztfesték-hígító)	Figyelem		H315, H319, H335
LK-101B	Pepszinoldat	N.A.	N.A.	N.A.
LK-102B	0,4 × SSC/0,3% Igepal (Mosópuffer I)	N.A.	N.A.	N.A.
LK-103B	2 × SSC/0,1% Igepal (Mosópuffer II)	N.A.	N.A.	N.A.
LK-104B	2 × SSC	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 lejárat dátumig stabil.

A hígítatlan és hígított reagenseket felhasználás után azonnal tegye vissza 2–8 °C-ra.

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

9 Műszaki támogatás

A műszaki támogatás a www.leicabiosystems.com címen vagy e-mailben érhető el: 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



Az elektronikus használati útmutató további nyelveken is elérhető, amelyek letölthetők a következő honlapról: www.leicabiosystems.com

10 Ügyfélszolgálat

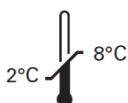
A Kreatech próbák megrendelhetők a Leica ügyfélszolgálatán keresztül (+31 20 6919181) vagy megrendelhetők e-mailben: purchase.orders@leica-microsystems.com.

11 Dokumentumtörténet

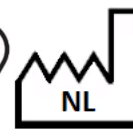
Használati útmutató verziója	Kiadás dátuma	Változtatások
2,5	2016-SEP-27	A „The pathology Company” szlogen törlése.
3,0	2022. április	Frissítés az IVD-előírásoknak megfelelően

Kit di digestione FISH**REF KBI-60006**
o 5x5 test

Contiene un volume sufficiente per un massimo di 25



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdam
Paesi Bassi
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 stato specificamente sviluppato per ottenere risultati ottimali nel caso in cui si utilizzino o si prevedano campioni più vecchi, vetrini con sfondo citoplasmatico o campioni difficili.

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 preparati PRECEDENTEMENTE. 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 stato specificamente sviluppato per ottenere risultati ottimali nel caso in cui si utilizzino o si prevedano campioni più vecchi, vetrini con sfondo citoplasmatico o campioni difficili.

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 asciutto in 50 ml di 2 x SSC (LK-104B), a 37 °C per 2 minuti (min).
2. Far cadere circa 200 µl di soluzione di pepsina (LK-101B) sulle cellule e incubare a temperatura ambiente (RT) i vetrini per 30 secondi - 10 min (a seconda del materiale del campione, del tempo di fissazione e delle condizioni di conservazione).
3. Lavare il vetrino per 3 minuti in 1 x PBS a temperatura ambiente.

4. Post-fissare in formaldeide tamponata all'1% in 1x PBS / 20 mM MgCl₂ per 10 min a temperatura ambiente.
5. Lavare il vetrino per 3 minuti in 1 x PBS a temperatura ambiente.
6. Disidratare in etanolo fresco 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 il vetrino coprioggetto. 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 Kreotech™:

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 di digestione 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. Inoltre, il tempo di incubazione della pepsina può richiedere un'ottimizzazione a seconda della lavorazione e delle condizioni di fissazione.

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-101B	Soluzione di pepsina	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-104B	2 x SSC	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 è stabilito 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 reagente FISH KBI-60005 nel caso in cui vengano utilizzati campioni citologici appena preparati.

- 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
LK-097B	Anti-sbiadimento (Diluente controcolorante)	Avvertenza		H315, H319, H335
LK-101B	Soluzione di pepsina	N.D.	N.D.	N.D.
LK-102B	0,4 x SSC / 0,3% Igepal (Tampone di lavaggio I)	N.D.	N.D.	N.D.
LK-103B	2 x SSC / 0,1% Igepal (Tampone di lavaggio II)	N.D.	N.D.	N.D.
LK-104B	2 x SSC	N.D.	N.D.	N.D.

Indicazione/i di pericolo

H315 – Causa irritazione cutanea.

H319 – Causa grave irritazione oculare.

H335 – Può causare irritazione dell'apparato respiratorio

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 e 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 o via e-mail: 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



Le eIPU sono disponibili in altre lingue che possono essere scaricate da: 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.

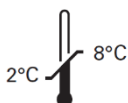
11 Storia

Versione IPU	Data di pubblicazione	Modifiche
2.5	27-SETT-2016	Rimuovere la tagline "The pathology Company".
3.0	Aprile 2022	Aggiornamento secondo i regolamenti IVD

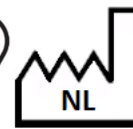
FISH消化キット

REF KBI-60006

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



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、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特別に開発されている。

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ズ細胞やインターフェーズ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、古い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、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特別に開発されている。

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. 50 ml 2 x SSC (LK-104B)、37°Cで2分間(分)、乾燥したスライドサンプルを前処理する。
2. 約200 µlのペプシン溶液 (LK-101B) を細胞に滴下し、スライドを室温で30秒~10分インキュベートする（サンプルの材質、固定時間、保存状態により異なる）。
3. スライドを1×PBSで3分間洗浄する（RT）。

4. 1x PBS / 20 mM MgCl₂中の1%バッファードホルムアルデヒドで10分間、室温でポストフィックスする。
5. スライドを1×PBSで3分間洗浄する（RT）。
6. 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 μlずつ交換する。

3.4 共変性

22×22mmフィールドあたり10 μl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。カバース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 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. 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消化キットの性能は、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。また、ペプシンのインキュベーション時間は、処理・固定条件により最適化が必要な場合がある。

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 μg/ml (DAPI対比染色)	0.5 ml
LK-097B	Antifade (対比染色希釈液)	0.5 ml
LK-101B	ペプシン溶液	5 ml
LK-102B*	0.4 x SSC / 0.3% Igepal (洗浄緩衝液 I)	250 ml
LK-103B*	2 x SSC / 0.1% Igepal (洗浄緩衝液 II)	2 x 250 ml
LK-104B	2 x SSC	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 μl~200 μl)
- 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 前処理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。
- 新鮮な細胞診試料を使用する場合は、KBI-60005 FISH試薬キットを使用することをお勧めします。

- ・ 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 μ g/ml (DAPI対比染色)	警告		H315、 H319、 H335
LK-097B	Antifade (対比染色希釈液)	警告		H315、 H319、 H335
LK-101B	ペプシン溶液	なし	なし	なし
LK-102B	0.4 x SSC / 0.3% Igepal (洗浄緩衝液 I)	なし	なし	なし
LK-103B	2 x SSC / 0.1% Igepal (洗浄緩衝液 II)	なし	なし	なし
LK-104B	2 x SSC	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。

原液および希釈した試薬は、使用后すぐに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 または電子メールで受け付けている。

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 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

10 お客様窓口

Kreatechプローブのご注文は、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

11 履歴

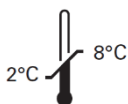
使用説明書バージョン	発行日	変更点
2.5	2016-SEP-27	「The Pathology Company」のキャッチフレーズを削除する。
3.0	2022-4月	IVD規制に沿ったアップデート

LT

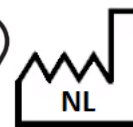
„FISH Digestion Kit“

REF KBI-60006

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 objektinio 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 specialiai sukurtas, kad būtų gauti optimalūs rezultatai naudojant arba ketinant naudoti senesnius ėminius, objektinius stiklelius su citoplazminiu pagrindu arba sudėtingus ėminius.

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 SENIAU 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 specialiai sukurtas, kad būtų gauti optimalūs rezultatai naudojant arba ketinant naudoti senesnius ėminius, objektinius stiklelius su citoplazminiu pagrindu arba sudėtingus ėminius.

Priešanalitiniai mėginių etapai: norint gauti sėkmingą FISH, labai svarbūs priešanalitiniai etapai. Mėginyje turi būti tinkamai fiksuotas, sendintas ir pakartotinai apdorotas pagal gerai parengtą protokolą. Per didelę arba per mažą fiksaciją ar prastą mėginio parengiamąjį apdorojimą 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 objektiniams stikleliams, sudedamiems vertikaliai į 50 ml stiklainį.

1. Atlikite parengiamąjį sauso ėminio objekcinio stiklelio apdorojimą 50 ml 2 x SSC (LK-104B) 37 °C temperatūroje 2 minutes (min.).
2. Sulašinkite maždaug 200 µl pepsino tirpalo (LK-101B) ant ląstelių ir inkubuokite objektinius stiklelius kambario temperatūroje (KT) 30 sekundžių–10 min. (priklausomai nuo ėminio medžiagos, fiksacijos trukmės ir laikymo sąlygų).
3. Plaukite objektinius stiklelius 3 min. 1 x PBS KT.
4. Po to fiksukite 1 % buferiniame formaldehyde 1x PBS / 20 mM MgCl₂ 10 min. KT.
5. Plaukite objektinius stiklelius 3 min. 1 x PBS KT.
6. Kiekvieną stiklį 1 min. 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 klajais. 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 klajus.
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 objekciniai stikliai 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

šaltinių) 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 Digestion 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. Be to, priklausomai nuo apdorojimo ir fiksacijos sąlygų, gali prireikti optimizuoti pepsino inkubacijos trukmę.

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-101B	Pepsino tirpalas	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-104B	2 x SSC	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 kokią 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 citogenetiniais metodais paruoštais mėginiais.
- Tik neautomatiniam FISH parengiamajam apdorojimui ir hibridizacijai.

- Visas medžiagas reikia šalinti laikantis jūsų institucijos nurodymų dėl ligoninės atliekų šalinimo.
- Rekomenduojama naudoti KBI-60005 FISH reagento rinkinį, jei naudojami šviežiai paruošti citologiniai ėminiai.
- Parafinuotiems audiniams rekomenduojama naudoti parengiamojo apdorojimo rinkinius KBI-60004 arba KBI-60007.

Ženklinimas 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-101B	Pepsino tirpalas	Nėra	Nėra	Nėra
LK-102B	0,4 x SSC / 0,3 % „Igepal“ (Buferinis plovimo tirpalas I)	Nėra	Nėra	Nėra
LK-103B	2 x SSC / 0,1% „Igepal“ (Buferinis plovimo tirpalas II)	Nėra	Nėra	Nėra
LK-104B	2 x SSC	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 priemones.

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 neatskiestus ir atskiestus reagentus 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 arba el. paštu: 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



Naudojimo instrukciją (eIFU) papildomomis kalbomis galima atsisiųsti iš: 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.

11 Istorija

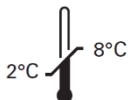
Naudojimo instrukcijos (IFU) versija	Išleidimo data	Pakeitimai
2.5	2016-SEP-27	Pašalinti šūkį „Patologijų įmonė“.
3.0	2022 Balandis	Atnaujinti pagal IVD reglamentus

LV

FISH hidrolīzes komplekts

REF KBI-60006

Ar pietiekamu tilpumu līdz 25 vai 5 x 5 testiem



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdam
Nīderlande
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 iepriekšējas apstrādes komplekts ir īpaši izstrādāts, lai iegūtu optimālus rezultātus, ja tiek izmantoti vai paredzēti vecāki paraugi, stikliņi ar citoplazmas fonu vai grūti apstrādājami paraugi.

Šis produkts ir paredzēts in vitro diagnostiskajai lietošanai.

2 Produkta apraksts

Šis iepriekšējas 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 SENĀK 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 iepriekšējas apstrādes komplekts ir īpaši izstrādāts, lai iegūtu optimālus rezultātus, ja tiek izmantoti vai paredzēti vecāki paraugi, stikliņi ar citoplazmas fonu vai grūti apstrādājami paraugi.

Paraugi 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. Sausus paraugu stikliņus 2 minūtes (min) iepriekš apstrādā 50 ml 2 x SSC(LK-104B), 37 °C temperatūrā.
2. Aptuveni 200 µl pepsīna šķīduma (LK-101B) uzlej uz šūnām un inkubē telpas temperatūrā (RT) stikliņus 30 sekundes–10 minūtes (atkarībā no parauga materiāla, fiksācijas laika un glabāšanas apstākļiem).
3. Mazgājiet stikliņu 3 minūtes 1 x PBS telpas temperatūrā.
4. Pēc tam fiksējiet 1 % buferētā formaldehīdā 1x PBS / 20 mM MgCl₂ 10 min telpas temperatūrā.
5. Mazgājiet stikliņu 3 minūtes 1 x PBS telpas temperatūrā.

6. Atūdeņojiet katru 70 %, 85 % un 100 % etanolā 1 min. 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 stikļus 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 stikļiem.
4. Ievietojiet stikļus 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 stikļiem.
5. Ievietojiet stikļus 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 stikļiem.
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 pretkrāsu (DAPI/Antifade 0,1 µg/ml) (LK-095B) vai atšķaidiet ar šo šķīdumu, izmantojot pretkrāsu šķīdinātāju (LK097B), un uzlieciet stikla vāciņu. Turpiniet ar mikroskopiju.

3.8 Procedūras ieteikumi

Optimāli sagatavoti un iepriekš apstrādāti citoloģiskie stikļi ir pamata stikļi, 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 fluorofoora ierosmes/emisijas)

4 Analītiskā veikspēja

FISH hidrolīzes 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. Turklāt pepsīnu inkubācijas laiku var būt nepieciešams optimizēt atkarībā no apstrādes metodes un fiksācijas apstākļiem.

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-101B	Pepsīna šķīdums	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-104B	2 x SSC	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.
- Ja tiek izmantoti svaigi sagatavoti citoloģiskie paraugi, ieteicams izmantot KBI-60005 FISH reaģentu komplektu.
- 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-101B	Pepsīna šķīdums	N.P.	N.P.	N.P.
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-104B	2 x SSC	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 (elfU)

8 Reaģentu glabāšana un lietošana

Aizsargājiet DAPI/Antifa 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 neatšķaidītos un atšķaidītos 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 vai pa e-pastu: Kreatech.Support@Leicabiosystems.com. Lūdzu, sazinieties ar mums, ja, izmantojot šo produktu, netiek iegūti vēlami rezultāti vai parādās kādas novirzes no normas.

Drukātu LI eksemplāru var pieprasīt pa e-pastu: LBSAMS-IFU@leicabiosystems.com



elfU ir pieejama papildu valodās, kuras var lejupielādēt no: 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.

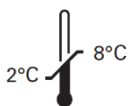
11 Vēsture

LI versija	Izdošanas datums	Izmaiņas
2,5	2016-SEP-27	Noņemiet atzīmes joslu "The pathology Company" (Uzņēmuma patoloģija)
3,0	2022. Aprīlis	Atjaunināt atbilstoši IVD noteikumiem

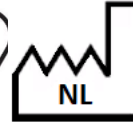
FISH Digestion Kit

REF KBI-60006
tests

Bevat voldoende volume voor maximaal 25 of 5 x 5



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdam
Nederland
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 om optimale resultaten te verkrijgen in het geval dat men oudere monsters, objectglasjes met een cytoplasmatische achtergrond of lastige monsters gebruikt of verwacht.

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 OUDERE 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 om optimale resultaten te verkrijgen in het geval dat men oudere monsters, objectglasjes met een cytoplasmatische achtergrond of lastige monsters gebruikt of verwacht.

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 droge monsters op objectglasjes voorbehandelen in 50 ml 2 x SSC (LK-104B), bij een temperatuur van 37°C gedurende 2 minuten (minimaal).

2. Breng ongeveer 200 µl of Pepsin Solution (LK-101B) op de cellen aan en laat de objectglaasjes 30 seconden tot 10 minuten op kamertemperatuur incuberen op kamertemperatuur (afhankelijk van het monstermateriaal, de fixatietijd en de bewaaromstandigheden).
3. Was de objectglaasjes 3 minuten in 1 x PBS op kamertemperatuur.
4. Postfixatie in 1% gebufferd formaldehyde in 1x PBS / 20 mM MgCl₂ gedurende 10 minuten op kamertemperatuur.
5. Was de objectglaasjes 3 minuten in 1 x PBS op kamertemperatuur.
6. 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 objectglaasjes 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 objectglaasjes.
4. Plaats de objectglaasjes 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 objectglaasjes.
5. Plaats de objectglaasjes 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 objectglaasjes.
6. De objectglaasjes 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 objectglaasjes zijn cruciaal voor een succesvol FISH-resultaat. Te weinig of te veel voorbehandeling beïnvloedt niet alleen de morfologie, maar ook de signaalsterkte (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 geijekte 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
PlatinumBright™ 415	429 ±15 nm	470 ±15 nm
PlatinumBright™ 495	495 ±10 nm	517 ±10 nm
PlatinumBright™ 550	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 Digestion 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 protocoltijden kunnen variëren wegens de fixatie en de verwerking. Bovendien kan optimalisatie van de incubatietijd van pepsine nodig zijn, afhankelijk van de verwerking en de fixatiecondities.

5 Benodigde materialen die bij het product worden meegeleverd

Code nr.	Beschrijving	Volume
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI Counterstain)	0,5 ml
LK-097B	Antifade (Counterstain verdunningsmiddel)	0,5 ml
LK-101B	Pepsin Solution	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-104B	2 x SSC	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)
- Fluorescentiemicroscoop 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-behandeling 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 KBI-60005 FISH reagentset te gebruiken indien vers geprepareerde cytologische monsters worden gebruikt.
- 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
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI Counterstain)	Waarschuwing		H315, H319, H335
LK-097B	Antifade (Counterstain verdunningsmiddel)	Waarschuwing		H315, H319, H335
LK-101B	Pepsin Solution	N.v.t.	N.v.t.	N.v.t.
LK-102B	0,4 x SSC / 0,3% Igepal (Wash Buffer I)	N.v.t.	N.v.t.	N.v.t.
LK-103B	2 x SSC / 0,1% Igepal (Wash Buffer II)	N.v.t.	N.v.t.	N.v.t.
LK-104B	2 x SSC	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 onverdunde en verdunde reagentia 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 of via e-mail: 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



De elektronische gebruiksaanwijzing is beschikbaar in extra talen, die u kunt downloaden op 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.

11 Geschiedenis

Versie gebruiksaanwijzing	Datum uitgave	Wijzigingen
2.5	2016-SEP-27	Verwijderen van de slogan 'The pathology Company'
3.0	2022- april	Update volgens IVD-voorschriften

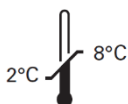
FISH Digestion Kit

REF

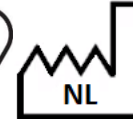
KBI-60006

x 5 tester

som inneholder tilstrekkelig volum for opptil 25 eller 5



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



1 Tiltenkt bruk / formål

Fluorescerende in situ-hybridisering (FISH) identifiserer eller merker genomiske målsekvenser slik at plasseringen deres kan studeres. DNA-sekvenser fra passende kromosomspesifikke prøver 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 hvis eldre prøver, objektglass med cytoplasmatisk bakgrunn eller vanskelige prøver brukes eller forventes.

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 ELDRE 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 hvis eldre prøver, objektglass med cytoplasmatisk bakgrunn eller vanskelige prøver brukes eller forventes.

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 reproduserbarhet / 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 tørt prøveobjektglass i 50 ml 2 x SSC (LK-104B), ved 37 °C i 2 minutter (min).
2. Drypp ca. 200 µl Pepsin Solution (LK-101B) på cellene og inkuber objektglassene i 30 sekunder – 10 min ved romtemperatur (RT) (avhengig av prøvemateriale, fikseringstid og oppbevaringsforhold).
3. Vask objektglasset i 3 min i 1 x PBS ved RT.
4. Etterfiksering i 1 % bufret formaldehyd i 1x PBS / 20 mM MgCl₂ i 10 minutter ved RT.
5. Vask objektglasset i 3 min i 1 x PBS ved RT.

6. Dehydrer i 70 %, 85 % og 100 % etanol i 1 min 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 dekket. 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 Digestion 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. I tillegg kan inkuberingstiden for pepsin kreve optimalisering avhengig av behandling og fikseringsforhold.

5 Materialer som kreves og leveres med produktet

Kode #	Beskrivelse	Volum
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI Counterstain)	0,5 ml
LK-097B	Antifade (Fortynningsmiddel til kontrastfarge)	0,5 ml
LK-101B	Pepsin Solution	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-104B	2 x SSC	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 pågjeldende 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-60005 FISH reagent kit hvis nypreparerte cytologiske prøver brukes.
- 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 (DAPI Counterstain)	ADVARSEL		H315, H319, H335
LK-097B	Antifade (Fortynningsmiddel til kontrastfarge)	ADVARSEL		H315, H319, H335
LK-101B	Pepsin Solution	N.A.	N.A.	N.A.
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-104B	2 x SSC	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 og fortynnede 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 eller via e-post: 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



Den elektroniske bruksanvisningen (eIFU) er tilgjengelig på flere språk, og kan lastes ned fra: 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.

11 Historikk

Versjon av bruksanvisning	Utstedelsesdato	Endringer
2.5	2016-SEP-27	Fjern overskriften "The pathology Company" (Patologiselskapet)
3.0	2022– April	Oppdater i henhold til IVD-forskrifter

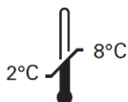
Zestaw do trawienia FISH

REF

KBI-60006

lub 5 x 5 testów

Zawierający objętość wystarczającą do wykonania 25



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdam
Holandia
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 pozwala na uzyskanie optymalnych wyników w przypadku, gdy używane lub spodziewane są starsze próbki, preparaty z tłem cytoplazmatycznym lub trudne próbki.

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 STARSZYCH 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 Próbkki

Do stosowania na komórkach metafazowych i interfazowych z hodowli krwi obwodowej lub bezpośrednich preparatach przygotowanych metodami cytogenetyki klasycznej.

Zestaw do obróbki wstępnej pozwala na uzyskanie optymalnych wyników w przypadku, gdy używane lub spodziewane są starsze próbki, preparaty z tłem cytoplazmatycznym lub trudne próbki.

Analizy wstępne próbek: Ważną rolę w prawidłowym przeprowadzeniu FISH odgrywają analizy wstępne. Próbkki 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. Suchy preparat poddać wstępnej obróbce w 50 ml 2 x SSC (LK-104B), w temperaturze 37°C przez 2 min.

2. Na komórki nanieść około 200 µl roztworu pepsyny (LK-101B) i inkubować w temperaturze pokojowej przez 30 sek. - 10 min. (w zależności od materiału próbki, czasu utrwalania i warunków przechowywania).
3. Przemyć preparat przez 3 minuty w 1 x PBS w temperaturze pokojowej.
4. Utrwalić w 1% zbuforowanym formaldehydzie w 1x PBS / 20 mM MgCl₂ przez 10 min. w temperaturze pokojowej.
5. Przemyć preparat przez 3 minuty w 1 x PBS w temperaturze pokojowej.
6. Odwodnić przez zanurzenie po kolei w 70%, 85% i 100% etanolu na 1 min. 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

metaloalogenkową (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
PlatinumBright™ 495	495 ±10 nm	517 ±10 nm
PlatinumBright™ 550	550 ±10 nm	580 ±10 nm

Przedstawiona szerokość pasma odpowiada 80% maksymalnego wzbudzenia/emisji fluoroforu)

4 Wydajność analityczna

Wydajność zestawu do trawienia FISH została określona przy użyciu procedur opisanych w niniejszej instrukcji użytkowania. 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. Ponadto czas inkubacji pepsyny może wymagać optymalizacji w zależności od rodzaju warunków obróbki i utrwalania.

5 Materiały wymagane i znajdujące się w zestawie

Kod #	Opis	Objętość
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (Barwnik kontrastowy DAPI)	0,5 ml
LK-097B	Antifade (Rozcieńczalnik do barwników kontrastowych)	0,5 ml
LK-101B	Roztwór pepsyny	5 ml
LK-102B*	0,4 x SSC / 0,3% Igepal (Bufor do przemywania I)	250 ml
LK-103B*	2 x SSC / 0,1% Igepal (Bufor do przemywania II)	2 x 250 ml
LK-104B	2 x SSC	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.
- W przypadku używania świeżo przygotowanych próbek cytologicznych należy stosować zestaw odczynników FISH KBI-60005.
- 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 (Barwnik kontrastowy DAPI)	Ostrzeżenie		H315, H319, H335
LK-097B	Antifade (Rozcieńczalnik do barwników kontrastowych)	Ostrzeżenie		H315, H319, H335
LK-101B	Roztwór pepsyny	nie dotyczy	nie dotyczy	nie dotyczy
LK-102B	0,4 x SSC / 0,3% Igepal (Bufor do przemywania I)	nie dotyczy	nie dotyczy	nie dotyczy
LK-103B	2 x SSC / 0,1% Igepal (Bufor do przemywania II)	nie dotyczy	nie dotyczy	nie dotyczy
LK-104B	2 x SSC	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
	Należy sprawdzić w elektronicznej instrukcji użytkowania (elfU).

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 nierozcieńczone i rozcieńczone odczynniki należy 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 lub pod adresem e-mail: 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



Instrukcja użytkowania jest dostępna w dodatkowych wersjach językowych, które można pobrać ze strony: 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.

11 Historia

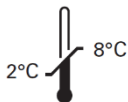
Wersja instrukcji użytkowania	Data publikacji	Zmiany
2,5	2016-SEP-27	Usunięcie sloganu „Firma zajmująca się badaniem zmian patologicznych”.
3,0	Kwiecień 2022	Aktualizacja zgodnie z przepisami dotyczącymi IVD

PT

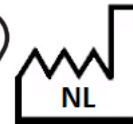
Kit de digestão FISH

REF KBI-60006

Contém volume suficiente até 25 ou 5x5 testes



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdão
Países Baixos
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 no caso de serem utilizadas ou esperadas amostras mais antigas, lâminas com fundo citoplasmático ou amostras difíceis.

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 preparadas MAIS ANTIGAS. 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 no caso de serem utilizadas ou esperadas amostras mais antigas, lâminas com fundo citoplasmático ou amostras difíceis.

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 secas em 50 ml 2 x SSC (LK-104B), a 37 °C durante 2 minutos (mín.).

2. Depositar aproximadamente 200 µl de solução de pepsina (LK-101B) nas células e incubar as lâminas 30 segundos - 10 minutos à temperatura ambiente (RT) (dependendo do material da amostra, do tempo de fixação e das condições de armazenamento).
3. Lavar a lâmina durante 3 minutos em 1 x PBS à RT.
4. Fazer a pós-fixação num tampão de formaldeído a 1% em 1 x PBS/20 mM MgCl₂ durante 10 minutos à RT.
5. Lavar a lâmina durante 3 minutos em 1 x PBS à RT.
6. 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 as lamelas. 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
PlatinumBright™ 495	495 ± 10 nm	517 ± 10 nm
PlatinumBright™ 550	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 digestão 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. Além disso, o tempo de incubação da pepsina pode requerer otimização, dependendo das condições de processamento e fixação.

5 Materiais necessários e fornecidos com o produto

Código n.º	Descrição	Volume
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (Coloração de contraste DAPI)	0,5 ml
LK-097B	Antifade (Diluyente de coloração de contraste)	0,5 ml
LK-101B	Solução de pepsina	5 ml
LK-102B*	0,4 x SSC/0,3% Igepal (Tampão de lavagem I)	250 ml
LK-103B*	2 x SSC/0,1% Igepal (Tampão de lavagem II)	2 x 250 ml
LK-104B	2 x SSC	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 reagentes FISH KBI-60005 no caso de serem utilizadas amostras citológicas recentemente preparadas.
- 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
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (Coloração de contraste DAPI)	Advertência		H315, H319, H335
LK-097B	Antifade (Diluyente de coloração de contraste)	Advertência		H315, H319, H335
LK-101B	Solução de pepsina	N.D.	N.D.	N.D.
LK-102B	0,4 x SSC/0,3% Igepal (Tampão de lavagem I)	N.D.	N.D.	N.D.
LK-103B	2 x SSC/0,1% Igepal (Tampão de lavagem II)	N.D.	N.D.	N.D.
LK-104B	2 x SSC	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 os reagentes não diluídos e diluídos 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 ou através do e-mail: 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



As eldU estão disponíveis noutras línguas que podem ser transferidas a partir de: 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.

11 Histórico

Versão de IdU	Data de emissão	Alterações
2,5	2016-SET-27	Remover o lema "The pathology Company "
3,0	Abril de 2022	Atualização de acordo com os regulamentos de IVD

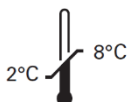
FISH Digestion Kit

REF

KBI-60006

5 x 5 teste

Conține volum suficient pentru până la 25 sau



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdam
Țările de Jos
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 nucleele 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 în cazul probelor mai vechi, al lamelelor cu fundal citoplasmatic sau dacă se utilizează sau se preconizează utilizarea unor probe dificile.

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 preparate MAI VECHI. 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 în cazul probelor mai vechi, al lamelelor cu fundal citoplasmatic sau dacă se utilizează sau se preconizează utilizarea unor probe dificile.

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 nucleee 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. Pretratați lamela cu proba uscată în 50 ml de 2 x SSC (LK-104B), la 37 °C timp de 2 minute (min).
2. Pipetați aproximativ 200 µl de Pepsin Solution (LK-101B) pe celule și incubați lamelele la temperatura camerei (TC) timp de 30 de secunde - 10 min (în funcție de materialul probei, de timpul de fixare și de condițiile de depozitare).

3. Spălați lamela timp de 3 min în 1 x PBS la TC.
4. Fixați ulterior în 1 % formaldehidă tamponată în 1x PBS/20 mM MgCl₂ timp de 10 min la TC.
5. Spălați lamela timp de 3 min în 1 x PBS la TC.
6. Deshidratați în etanol de 70 %, 85 % și 100 % timp de câte 1 min. 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 μl conc. 5 x de probă în 8 μl 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 μl pentru fiecare probă adăugată.

3.4 Codenaturarea

Aplicați câte 10 μl 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 ± 1 °C timp de 5 - 10 min. Continuați cu **hibridizarea**.

3.5 Hibridizarea:

Incubați peste noapte la 37 ± 1 °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 °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 °C (+/- 1 °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 μl DAPI counterstain (DAPI/Antifade 0,1 μg/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 ± 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

Lățimea de bandă afișată corespunde unui procent de 80 % din excitația/emisia maximă a fluoroforului)

4 Performanța analitică

Performanța FISH Digestion Kit fost stabilită prin utilizarea procedurilor descrise în această instrucțiune de utilizare. Modificările aduse acestor proceduri pot afecta performanța analizei. Orice abateri de la protocoalele prezentate în instrucțiuni 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 circumstanțe. Duratale protocoalelor pot varia din cauza variațiilor procedurilor de fixare și procesare. În plus, timpul de incubare al pepsinei poate necesita optimizarea în funcție de condițiile de procesare și de fixare.

5 Materiale necesare și furnizate împreună cu produsul

Nr. cod	Descriere	Volum
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI Counterstain)	0,5 ml
LK-097B	Antifade (Counterstain Diluent)	0,5 ml
LK-101B	Pepsin Solution	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-104B	2 x SSC	250 ml

*Rețineți că produsele LK-102 și LK-103 care conțin același număr, dar litere diferite, sunt identice, cu excepția volumului. A = 100 ml, B = 250 ml

6 Materiale necesare și nefurnizate împreună cu produsul

- Etanol 100 %, 85 % și 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 și 75 °C
- Borcane din plastic și sticlă Coplin
- Micropipete cu volum variabil (1 - 200 µl)
- Microscop de fluorescență echipat cu filtre adecvate (consultați recomandările pentru microscopia de fluorescență).

7 Avertismente și precauții

- Orice incident grav survenit în legătură cu dispozitivul trebuie raportat producătorului și autorității competente din statul membru în care utilizatorul și/sau pacientul își are domiciliul.
- Pentru diagnosticare in vitro. Numai pentru utilizare profesională în laborator. În situații de urgență, consultați fișele cu date de securitate (SDS) pentru informații de siguranță.
- Kitul este destinat utilizării exclusive înainte și după procedura FISH a ADN-ului pe celule metafazice și interfazice din culturi de sânge periferic sau preparate directe, obținute prin metode citogenetice standard.
- Exclusiv pentru proceduri manuale de pretratare și hibridizare FISH.
- Toate materialele trebuie eliminate la deșeuri, în conformitate cu instrucțiunile instituției dvs. privind eliminarea deșeurilor spitalicești.
- Se recomandă utilizarea KBI-60005 FISH Reagent Kit în cazul probelor citologice proaspăt preparate.

- Pentru țesuturile 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
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI Counterstain)	Avertisment		H315, H319, H335
LK-097B	Antifade (Counterstain Diluent)	Avertisment		H315, H319, H335
LK-101B	Pepsin Solution	Nu se aplică.	Nu se aplică.	Nu se aplică.
LK-102B	0,4 x SSC/0,3 % Igepal (Wash Buffer I)	Nu se aplică.	Nu se aplică.	Nu se aplică.
LK-103B	2 x SSC/0,1 % Igepal (Wash Buffer II)	Nu se aplică.	Nu se aplică.	Nu se aplică.
LK-104B	2 x SSC	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 reactivii nediluți și diluți 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 sau prin e-mail: 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



Instrucțiunile de utilizare în format electronic (eIU) sunt disponibile și în alte limbi, care pot fi descărcate la adresa: 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.

11 Istoric

Versiune IU	Data publicării	Modificări
2,5	2016-SEP-27	A fost eliminat sloganul „The pathology Company”
3,0	Aprilie 2022	Actualizare în conformitate cu regulamentele IVD

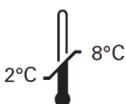
Комплект реактивов «FISH Digestion Kit»

REF

KBI-60006

25 или 5x5 тестов

Содержит достаточный объем для проведения до



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdam
Нидерланды
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 в случае, если используются или возможно используются старые образцы, предметные стекла с цитоплазматическим фоном или сложные образцы.

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 PAHЕЕ приготовленных 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 в случае, если используются или возможно используются старые образцы, предметные стекла с цитоплазматическим фоном или сложные образцы.

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 предметное стекло с сухим образцом в 50 мл 2 x SSC (LK-104B) при 37 °C в течение 2 минут (мин).
2. Капните примерно 200 мкл раствора пепсина (LK-101B) на клетки и инкубируйте слайды при комнатной температуре (КТ) в течение от 30 секунд до 10 минут (в зависимости от материала образца, времени фиксации и условий хранения).
3. Промойте предметное стекло в течение 3 минут в 1 x PBS при комнатной температуре.
4. Выполните пост-фиксацию в 1 % буферизированного формальдегида в 1x PBS/20 mM MgCl₂ в течение 10 минут при комнатной температуре.
5. Промойте предметное стекло в течение 3 минут в 1 x PBS при комнатной температуре.
6. 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 Digestion 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. Кроме того, время инкубации пепсина может потребовать оптимизации в зависимости от условий обработки и фиксации.

5 Необходимые материалы, поставляемые с продуктом

Код №	Описание	Объем
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 мкг/мл (Контрастный краситель DAPI)	0,5 мл
LK-097B	Antifade (Разбавитель для контрастного красителя)	0,5 мл
LK-101B	Раствор пепсина	5 мл
LK-102B*	0,4 x SSC / 0,3 % Igepal (Буферный раствор для промывки I)	250 мл
LK-103B*	2 x SSC / 0,1 % Igepal (Буферный раствор для промывки II)	2 x 250 мл
LK-104B	2 x SSC	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.
- В случае использования свежеприготовленных цитологических образцов рекомендуется использовать комплект реактивов KBI-60005 FISH.
- 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 (Контрастный краситель DAPI)	осторожно!		H315, H319, H335
LK-097B	Antifade (Разбавитель для контрастного красителя)	Осторожно!		H315, H319, H335
LK-101B	Раствор пепсина	н.д.	н.д.	н.д.
LK-102B	0,4 x SSC/0,3 % Igepal (Буферный раствор для промывки I)	н.д.	н.д.	н.д.
LK-103B	2 x SSC/0,1 % Igepal (Буферный раствор для промывки II)	н.д.	н.д.	н.д.
LK-104B	2 x SSC	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.

IfU Published: 2022 April

Page 105 of 132

IfU Doc name: IfU-KBI-60006_version3.0

Меры по предупреждению опасности:

R305+R351+R338 — ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: В течение нескольких минут тщательно промойте водой. Если вы носите контактные линзы, по возможности снимите их. Продолжайте промывать глаза водой.

R312 — При недомогании немедленно обратитесь в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР/к врачу/в службу скорой помощи за медицинской помощью.

R337+R313 — Если раздражение глаз не проходит: обратитесь за медицинской помощью.

R302+R352 — ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промойте большим количеством воды с мылом.

R304+R340 — ПРИ ВДЫХАНИИ: Переместите пострадавшего на свежий воздух и обеспечьте комфортные условия для дыхания.

R332+R313 — В случае возникновения раздражения кожи: обратитесь за медицинской помощью.

R362-R364 — 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 °C. В этих условиях закрытая продукция остается стабильной до истечения срока годности, который указан на этикетке флакона.

Оставшиеся неразбавленные и разбавленные реактивы следует немедленно вернуть на хранение при температуре 2-8 °C.

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 или эл. почте: 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



Документ elfU доступен на дополнительных языках, его можно загрузить с: 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.

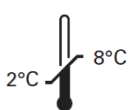
11 История изменений

Версия IFU	Дата выпуска	Изменения
2.5	2016-SEP-27	Удалить слоган «Поставщик решений для лабораторной диагностики»
3.0	апрель 2022 г.	Обновить в соответствии с требованиями к диагностике in-vitro

Súprava FISH Digestion Kit

REF KBI-60006

Obsah postačuje na 25 alebo 5 x 5 testov



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdam
Holandsko
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 v prípade, že sa používajú alebo sa predpokladá, že sa použijú staršie vzorky, preparáty s cytoplazmatickým pozadím alebo náročné vzorky.

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 zo STARŠÍCH 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 v prípade, že sa používajú alebo sa predpokladá, že sa použijú staršie vzorky, preparáty s cytoplazmatickým pozadím alebo náročné vzorky. Vzorky pred analýzou: Pre úspešnú FISH zohráva dôležitú úlohu príprava pred analýzou. Vzorka sa má podľa osvedčeného protokolu správne fixovať, dozrieť a predprípraviť. 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 suché sklíčko so vzorkou v 50 ml 2 x SSC (LK-104B) pri 37 °C počas 2 minút (min).
2. Na bunky nakvapkajte približne 200 µl roztoku pepsínu (LK-101B) a sklíčka inkubujte pri izbovej teplote (RT) 30 sekúnd – 10 minút (v závislosti od materiálu vzorky, času fixácie a podmienok skladovania).
3. Sklíčko 3 min premývajte v 1 x PBS pri RT.
4. Následne fixujte v 1 % pufrovanom formaldehyde v 1 x PBS/20 mM MgCl₂ počas 10 min pri RT.

5. Sklíčko 3 min premývajte v 1 x PBS pri RT.
6. Dehydratujte v 70 %, 85 % a 100 % etanole, zakaždým na 1 min. 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 ošetrené 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 Digestion 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 odchyľia 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. Okrem toho môže byť potrebné optimalizovať dobu inkubácie s pepsínom v závislosti od podmienok spracovania a fixácie.

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-101B	Roztok pepsínu	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-104B	2 x SSC	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 použitia čerstvo pripravených cytologických vzoriek sa odporúča použiť súpravu činidiel FISH KBI-60005.
- 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
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (kontrastné farbivo DAPI)	Varovanie		H315, H319 H335
LK-097B	Antifade (riediaci roztok kontrastného farbiva)	Varovanie		H315, H319 H335
LK-101B	Roztok pepsínu	neuplatňuje sa	neuplatňuje sa	neuplatňuje sa
LK-102B	0,4 x SSC/0,3 % Igepal (premývací pufer I)	neuplatňuje sa	neuplatňuje sa	neuplatňuje sa
LK-103B	2 x SSC/0,1 % Igepal (premývací pufer II)	neuplatňuje sa	neuplatňuje sa	neuplatňuje sa
LK-104B	2 x SSC	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
	Preštudujte si elektronický návod na použitie (IfU)

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 a zriedené činidlá 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 alebo prostredníctvom e-mailu: 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



Elektronická verzia IfU je k dispozícii v ďalších jazykoch a môžete si ju stiahnuť na stránke: 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.

11 História

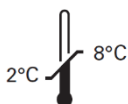
Verzia IfU	Dátum vydania	Zmeny
2,5	2016-SEP-27	Odstránenie sloganu „Patologická spoločnosť“
3,0	Apríla 2022	Aktualizácia v súlade s IVD nariadeniami

FISH Digestion Kit

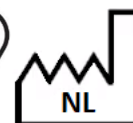
REF**KBI-60006**

testov

Vsebuje zadostno količino za do 25 oziroma 5x5



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdam
Nizozemska
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 razbit za pridobivanje optimalnih rezultatov pri uporabi ali pri pričakovanju starejših vzorcev, predmetnih stekel s citoplazemskim ozadjem ali zahtevnih vzorcev.

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 STAREJŠIH 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 razbit za pridobivanje optimalnih rezultatov pri uporabi ali pri pričakovanju starejših vzorcev, predmetnih stekel s citoplazemskim ozadjem ali zahtevnih vzorcev.

Predhodna analitika primerkov: Predhodna analitika ima pomembno vlogo pri uspešnem pridobivanju FISH. Primerki 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 predmetno steklo s suhim vzorcem v 50 ml 2 x SSC (LK-104B) pri 37°C za 2 minuti (min).
2. Na celice dodajte približno 200 µl Pepsin Solution (LK-101B) in predmeta stekla inkubirajte pri sobni temperaturi (ST) 30 sekund - 10 minut (glede na material vzorca, čas fiksacije in pogoje shranjevanja).
3. Steklo perite 3 min v 1 x PBS pri ST.
4. Naknadno postavite v 1% pufrski formaldehid v 1x PBS / 20 mM MgCl₂ za 10 min pri ST.

5. Steklo perite 3 min v 1 x PBS pri ST.
6. Dehidrirajte tako, da namočite v 70%, 85% in 100% etanol, in sicer 1 minuto 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

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 pasovna širina ustreza 80 % največjega dovoljenega vzbujanja/emisij fluoroforescence

4 Analitično delovanje

Delovanje izdelka FISH Digestion 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. Poleg tega bo morda treba optimizirati čas inkubacije pepsina glede na vrsto tkiva, obdelavo in pogoje pri fiksaciji.

5 Potrebni materiali, ki so dobavljeni z izdelkom

Koda #	Opis	Količina
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI Counterstain)	0,5 ml
LK-097B	Antifade (Redčilo Counterstain)	0,5 ml
LK-101B	Pepsin Solution	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-104B	2 x SSC	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.
- Uporabo kompleta reagentov KBI-60005 FISH v primeru uporabe sveže pripravljenih citoloških vzorcev.
- 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
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI Counterstain)	Opozorilo		H315, H319, H335
LK-097B	Antifade (Redčilo Counterstain)	Opozorilo		H315, H319, H335
LK-101B	Pepsin Solution	N.P.	N.P.	N.P.
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-104B	2 x SSC	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. Zalogo nerazredčenih in razredčenih reagentov 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 ali na e-poštnem naslovu: 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



V dodatnih jezikih je elfU na voljo za prenos na: 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.

11 Zgodovina

Različica IfU	Datum izdaje	Spremembe
2,5	2016-SEP-27	Odstranite geslo »Podjetje za patologijo«
3,0	2022- aprila	Posodobite v skladu z uredbami IVD

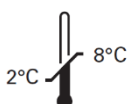
FISH-spjälkningskit

REF

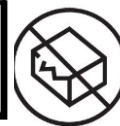
KBI-60006

tester

Innehåller tillräcklig volym för upp till 25 eller 5x5



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Amsterdam
Nederländerna
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 metafase eller kärnorna i interfase på ett objektglas. Efter tvättning undersöks provexemplet med hjälp av fluorescensmikroskopi för att hitta rapportermolekylerna.

För användning på metafase- och interfaseceller från perifera blodkulturer eller direkta preparat som framställts med cytogenetiska standardmetoder.

Detta förbehandlingskit är särskilt utvecklat för att uppnå optimala resultat om äldre prover, objektglas med cytoplasmatisk bakgrund eller svåra prover används eller förväntas användas.

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 metafase- och interfaseceller från perifera blodkulturer eller direkta preparat som framställts med standardcytogenetiska metoder före DNA FISH-hybridiseringsproceduren. Detta kit är särskilt utvecklat för att uppnå optimala resultat på ÄLDRE 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 metafase- och interfaseceller från perifera blodkulturer eller direkta preparat som framställts med cytogenetiska standardmetoder.

Detta förbehandlingskit är särskilt utvecklat för att uppnå optimala resultat om äldre prover, objektglas med cytoplasmatisk bakgrund eller svåra prover används eller förväntas användas.

Föranalys 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 metafase-/interfaskärnor från odlat perifert blod och/eller benmärg. Objektglasen ska förvaras enligt de rekommenderade förvarings- och hanteringsförfållandena för optimala resultat. Se Leicas webbplats.

3.2 Förbehandling

Protokollet nedan avser 5 objektglas i en 50 ml stort stående Coplin-kärl.

1. Förbehandla torra objektglas i 50 ml 2 x SSC (LK-104B) vid 37 °C i 2 minuter (min).
2. Droppa cirka 200 µl pepsinlösning (LK-101B) på cellerna och inkubera vid rumstemperatur (RT) på objektglasen i 30 sekunder till – 10 minuter (beroende på provmaterial, fixeringstid och förvaringsförfållandena).
3. Tvätta objektglaset i 3 minuter i 1 x PBS vid RT.
4. Postfixera i 1 % buffrad formaldehyd i 1x PBS / 20 mM MgCl₂ i 10 minuter vid RT.

5. Tvätta objektglaset i 3 minuter i 1 x PBS vid RT.
6. Dehydratisera i 70, 85 och 100 % etanol i 1 minut vardera. Lufttorkas. 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 gummiment. 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 gummimentet.
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™-fluorophorer:

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 fluoroforms excitation/emission)

4 Analytiska prestanda

FISH-spjälkningskitets 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. Dessutom kan inkubationstiden för pepsin behöva optimeras beroende på behandlings- och fixeringsförhållanden.

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-101B	Pepsinlösning	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-104B	2 x SSC	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.
- Det rekommenderas att använda KBI-60005 FISH-reagenskit om nypreparerade cytologiska prover används.
- 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-101B	Pepsinlösning	EJ TILLÄMPLIGT.	EJ TILLÄMPLIGT.	EJ TILLÄMPLIGT.
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.
LK-104B	2 x SSC	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 outspädda och utspädda reagenser 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 eller via e-post: 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



Den elektroniska bruksanvisningen finns på ytterligare språk som kan laddas ner från: www.leicabiosystems.com

10 Kundtjänst

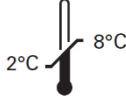
Kreatech-sonderna kan beställas via Leicas kundtjänst +31 20 6919181 eller via e-post: purchase.orders@leica-microsystems.com.

11 Historik

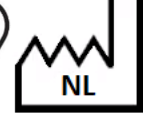
IFU-version	Utgivningsdatum	Ändringar
2,5	2016-SEP-27	Ta bort taglinen "The pathology Company"
3,0	2022- april	Uppdatering i enlighet med IVD-bestämmelserna

FISH Sindirim Kiti**REF** KBI-60006

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 daha eski numunelerin, sitoplazmik arka planlı lamaların veya zor numunelerin kullanılması veya beklenmesi durumunda 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 DAHA ESKİ hazırlanmış 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 daha eski numunelerin, sitoplazmik arka planlı lamaların veya zor numunelerin kullanılması veya beklenmesi durumunda 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. Kuru numune lamını 2 dk. boyunca 37 °C'de 50 ml 2 x SSC (LK-104B) içinde ön işlemden geçirin.
2. Hücrelerin üzerine yaklaşık 200 µl Pepsin Çözeltisi (LK-101B) damlatın ve 30 saniye-10 dakika (numune malzemesine, fiksasyon süresine ve saklama koşullarına bağlı olarak) oda sıcaklığında (RT) inkübe edin.
3. Lamı oda sıcaklığında 1 x PBS'de 3 dakika yıkayın.
4. Oda sıcaklığında 10 dakika boyunca 1x PBS / 20 mM MgCl₂ içinde %1 tamponlu formaldehit içinde fikse edin.
5. Lamı oda sıcaklığında 1 x PBS'de 3 dakika yıkayın.

- 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 TermoBrite (TS-01/02) üzerinde denatüre edin. **Hibridizasyon** ile devam edin.

3.5 Hibridizasyon:

37±1 °C'de bir TermoBrite (TS-01/02) veya nemlendirme haznesinde gece boyunca inkübe edin.

3.6 Hibridizasyon Sonrası Yıkama:

- 50 ml Yıkama Tamponu I'i (0,4 x SSC/%0,3 Igepal) (LK-102) 72 °C'ye kadar ısıtın.
- Lastik solüsyonu çıkarın.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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 Prosedüre 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:

Florofor	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 Sindirim 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. Ayrıca, pepsin inkübasyon süresi işleme ve fiksasyon koşullarına bağlı olarak optimizasyon gerektirebilir.

5 Gerekli olan ve ürünle birlikte verilen malzemeler

Kod #	Tanım	Hacim
LK-095B	DAPI/Antifade 0,1 µg/ml (DAPI Karşıt boya)	0,5 ml
LK-097B	Antifade (Karşıt boya seyreltici)	0,5 ml
LK-101B	Pepsin Çözeltisi	5 ml
LK-102B*	0,4 x SSC/%0,3 Igepal (Yıkama Tamponu I)	250 ml
LK-103B*	2 x SSC/%0,1 Igepal (Yıkama Tamponu II)	2 x 250 ml
LK-104B	2 x SSC	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.
- Taze hazırlanmış sitolojik örneklerin kullanılması durumunda KBI-60005 FISH reaktif 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 (DAPI Karşıt boya)	Uyarı		H315, H319, H335
LK-097B	Antifade (Karşıt boya seyreltici)	Uyarı		H315, H319, H335
LK-101B	Pepsin Çözeltisi	Uygulanamaz	Uygulanamaz	Uygulanamaz
LK-102B	0,4 x SSC/%0,3 Igepal (Yıkama Tamponu I)	Uygulanamaz	Uygulanamaz	Uygulanamaz
LK-103B	2 x SSC/%0,1 Igepal (Yıkama Tamponu II)	Uygulanamaz	Uygulanamaz	Uygulanamaz
LK-104B	2 x SSC	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 kaçın.

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 ve seyreltilmiş reaktifleri 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 adresinden veya e-posta yoluyla ulaşılabilir: 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



elfU ek dillerde mevcuttur ve şu adresten indirilebilir: 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.

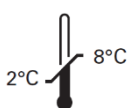
11 Geçmiş

IfU Sürümü	Yayınlama tarihi	Değişiklikler
2,5	2016-SEP-27	"Patoloji Şirketi" sloganı kaldırılmıştır
3,0	2022- Nisan	IVD düzenlemelerine göre güncellenmiştir

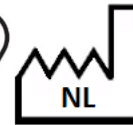
FISH Digestion Kit (Набір для проведення FISH)

REF KBI-60006

Містить достатній обсяг для проведення до 25 або 5x5 тестів



Kreatech Biotechnology B.V.
Vlierweg 20
1032 LG Амстердам
Нідерланди
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 для попередньої обробки спеціально розроблений для отримання оптимальних результатів у разі використання старих зразків, предметного скла з цитоплазматичним фоном або складних зразків, які можуть бути такими.

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 СТАРИХ 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 для попередньої обробки спеціально розроблений для отримання оптимальних результатів у разі використання або очікування на використання старих зразків, предметного скла з цитоплазматичним фоном або складних зразків.

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 сухе предметне скло в 50 мл 2 x SSC (LK-104B) при 37°C протягом 2 хвилин (хв.).
2. Капніть приблизно 200 мкл розчину пепсину (LK-101B) на клітини та інкубуйте предметне скло при кімнатній температурі (RT) 30 секунд - 10 хв. (залежно від матеріалу зразка, часу фіксації та умов зберігання).
3. Промийте предметне скло протягом 3 хв. в 1 x PBS (фосфатно-сольовому буфері) при RT.
4. Фіксуйте в 1% забуференому формальдегіді в 1x PBS/20 mM MgCl₂ протягом 10 хв. при RT.
5. Промийте предметне скло протягом 3 хв. в 1 x PBS при RT.
6. Зневоднюйте у 70%, 85% та 100% етанолі по 1 хв. 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 x концентрації і повинні бути розведені таким чином: 2 мкл 5 x концентрованого зонда у 8 мкл буфера для гібридизації FISH (FHB або WCB, що поставляється з зондами). Для поєднання кількох зондів 5 x 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 Fixohut або гумовим клеєм. Денатуруйте зразок і зонд на гібридизаторі ThermoBrite (TS-01/02) при температурі 75 ± 1 °C протягом 5 – 10 хв. Продовжіть гібридизацію.

3.5 Гібридизація:

Інкубуйте протягом ночі при 37 ± 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 RT. 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 (± 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 за допомогою розріджувача (LK097B) контрасту 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 Digestion 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. Крім того, час інкубації з пепсином може бути оптимізований в залежності від умов обробки і фіксації зразків.

5 Необхідні матеріали, що поставляються з продуктом

Код	Опис	Обсяг
LK-095B	DAPI / Antifade 0,1 мкг / мл (DAPI барвник для контрастного фарбування)	0,5 мл
LK-097B	Antifade (Антифейд) (розріджувач для контрастування)	0,5 мл
LK-101B	Розчин пепсину	0,5 мл
LK-102B	0,4 x SSC / 0,3% Igepal (промивний буфер I)	250 мл
LK-103B	2 x SSC / 0,1% Igepal (промивний буфер II)	2 x 250 мл
LK-104B	2 x SSC	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 обробки і FISH гібридизації.
- Всі матеріали повинні бути утилізовані відповідно до правил вашої установи з утилізації лікарняних відходів.
- Рекомендується застосовувати набір реагентів KBI-60005 FISH у разі використання свіжоприготовлених цитологічних 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-101B	Розчин пепсину	не можна застосувати	не можна застосувати	не можна застосувати
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-104B	2 x SSC	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 (eIfU)

8 Зберігання та поводження з реагентами

Захищайте DAPI/Antifa 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 або електронною поштою: 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



Електронна версія IfU доступна на додаткових мовах, які можна завантажити за адресою: 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.

11 Історія

Версія IfU	Дата випуску	Зміни
2,5	2016-SEP-27	Видалить теглайн "The pathology Company"
3,0	Квітень 2022	Оновлення відповідно до правил IVD