



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-005778-22-9

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-005778-22-9 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones BIO-OPTIC S.R.L. solicita autorización para la venta de Productos para diagnóstico in vitro denominado: Kreatech.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización .

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establecen la Ley N° 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99.

Que el Instituto Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia.

Que corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y sus modificatorios.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL
DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1°.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro Nombre descriptivo: Sondas FISH, de acuerdo con lo solicitado por BIO-OPTIC S.R.L. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2°.- Autorízanse los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2023-03942920-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3°.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 2234-030 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

ARTÍCULO 4°.- Extiéndase el Certificado de Autorización e Inscripción en el RPPTM con los datos característicos mencionados en esta disposición.

ARTÍCULO 5°.- Regístrese. Inscríbase en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4°. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: Sondas FISH

Marca comercial: Kreatech

Indicación/es de uso:

- ALK (2p23) Break- XL for BOND (KBI-XL001): Para uso diagnóstico in vitro

La sonda ALK (2p23) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH ALK (2p23) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen ALK en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés).

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas. La sonda ALK (2p23) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen ALK.

La sonda ALK (2p23) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de

rotura en la región del gen ALK.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al al gen ALK en 2p23.

- ROS1 (6q22) Break - XL for BOND (KBI-XL002): Para uso diagnóstico in vitro

La sonda ROS1 (6q22) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND

automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH ROS1 (6q22) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen ROS1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés).

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

La sonda ROS1 (6q22) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen ROS1.

La sonda ROS1 (6q22) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen ROS1.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al gen ROS1 en 6q22.

- MET (7q31) / SE 7 (D7Z1) – XL for BOND (KBI-XL003): Para uso diagnóstico in vitro

La sonda MET (7q31) / SE 7 (D7Z1) – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH MET (7q31) / SE 7 (D7Z1) – XL for BOND detecta amplificaciones genómicas asociadas al gen MET en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés).

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

La sonda MET (7q31) – XL se ha optimizado para detectar números de copias de la región del gen MET en 7q31.

La sonda SE 7 (D7Z1) – XL se ha optimizado para detectar números de copias de la región del centrómero del cromosoma 7.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar la amplificación del gen MET en 7q31, como control se emplea la sonda del centrómero.

- FGFR1 (8p11) /SE 8 (D8Z1) – XL for BOND (KBI-XL004): Para uso diagnóstico in vitro

La sonda FGFR1 (8p11) / SE 8 (D8Z1) – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH FGFR1 (8p11) / SE 8 (D8Z1) – XL for BOND detecta amplificaciones genómicas asociadas al gen FGFR1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés).

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

La sonda FGFR1 (8p11) – XL se ha optimizado para detectar números de copias de la región del gen FGFR1 en 8p11.

La sonda SE 8 (D8Z1) – XL se ha optimizado para detectar números de copias de la región del centrómero del cromosoma 8.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar la amplificación del gen FGFR1 en 8p11; como se emplea la sonda del centrómero.

• RET (10q11) Break- XL for BOND (KBI-XL005): Para uso diagnóstico in vitro

La sonda RET (10q11) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema

La sonda FISH RET (10q11) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen RET en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés).

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

La sonda RET (10q11) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen RET.

La sonda RET (10q11) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen RET.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al gen RET en 10q11.

• MYC (8q24) Break - XL for BOND (KBI-XL006): Para uso diagnóstico in vitro

La sonda MYC (8q24) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de linfomas. Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH MYC (8q24) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen MYC en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

La sonda MYC (8q24) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen MYC.

La sonda MYC (8q24) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen MYC.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al gen MYC en 8q24.

• IGH (14q32) Break - XL for BOND (KBI-XL007): Para uso diagnóstico in vitro

La sonda IGH (14q32) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de linfomas. Las sondas se deben usar junto con

el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH IGH (14q32) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen IGH en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

La sonda IGH (14q32) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen IGH.

La sonda IGH (14q32) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen IGH.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al gen IGH en 14q32.

• BCL2 (18q21) Break - XL for BOND (KBI-XL008): Para uso diagnóstico in vitro

La sonda BCL2 (18q21) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de linfomas. Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH BCL2 (18q21) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen BCL2 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

La sonda BCL2 (18q21) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen BCL2.

La sonda BCL2 (18q21) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen BCL2.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al gen BCL2 en 18q21.

• TP53 (17p13) / SE 17 - XL for BOND (KBI-XL009): Para uso diagnóstico in vitro

La sonda BCL6 (3q27) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de linfomas. Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH BCL6 (3q27) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen BCL6 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

La sonda BCL6 (3q27) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen BCL6.

La sonda BCL6 (3q27) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen BCL6.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al gen BCL6 en 3q27.

• TP53 (17p13) / SE 17 - XL for BOND (KBI-XL010): Para uso diagnóstico in vitro

La sonda TP53 (17p13) / SE 17 – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de linfomas. Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH TP53 (17p13) / SE 17 – XL for BOND detecta eliminaciones genómicas asociadas al gen TP53 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

La sonda TP53 (17p13) – XL se ha optimizado para detectar números de copias de la región del gen TP53 en 17p13.

La sonda SE 17 (D17Z1) – XL se ha optimizado para detectar números de copias de la región del centrómero del cromosoma 17.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar la eliminación del gen TP53 en 17p13, como control se emplea la sonda del centrómero.

• EGFR (7p11) / SE 7 (D7Z1) – XL for BOND (KBI-XL011): Para uso diagnóstico in vitro

EGFR (7p11) / SE 7 (D7Z1) - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda EGFR (7p11) / SE 7 (D7Z1) - XL para BOND FISH detecta las amplificaciones genómicas que afectan al gen EGFR en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de CPCNP.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

EGFR (7p11) - XL se ha optimizado para detectar los números de copias en la región del gen EGFR en 7p11.

SE 7 (D7Z1) se ha optimizado para detectar los números de copias de la región del centrómero del cromosoma 7.

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las amplificaciones del gen EGFR en 7p11, con la sonda del centrómero como control.

• NTRK1 (1q23) Break – XL for BOND (KBI-XL012): Para uso diagnóstico in vitro

NTRK1 (1q23) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda NTRK1 (1q23) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen NTRK1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de CPCNP.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

NTRK1 (1q23) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen NTRK1.

NTRK1 (1q23) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen NTRK1. Ambas sondas se usan en combinación para detectar las translocaciones que afectan al gen NTRK1 en 1q23.

• CCND1 (11q13) Break– XL for BOND (KBI-XL013): Para uso diagnóstico in vitro

CCND1 (11q13) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de linfoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda CCND1 (11q13) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen CCND1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de linfoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

CCND1 (11q13) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen CCND1.

CCND1 (11q13) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen CCND1.

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las translocaciones que afectan al gen CCND1 en 11q13.

• MDM2 (12q15) / SE 12 (D12Z3) – XL for BOND (KBI-XL014): Para uso diagnóstico in vitro

MDM2 (12q15) / SE 12 (D12Z3) - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de sarcoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda MDM2 (12q15) / SE 12 (D12Z3) - XL para BOND FISH detecta las amplificaciones genómicas que afectan al gen MDM2 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

MDM2 (12q15) - XL se ha optimizado para detectar los números de copias en la región del gen MDM2 en 12q15. SE 12 (D12Z3) se ha optimizado para detectar los números de copias de la región del centrómero del cromosoma 12.

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las amplificaciones del gen MDM2 en 12q15, con la sonda del centrómero como control.

• DDIT3 (12q13) Break – XL for BOND (KBI-XL015): Para uso diagnóstico in vitro

DDIT3 (12q13) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de sarcoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda DDIT3 (12q13) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen DDIT3 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

DDIT3 (12q13) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen DDIT3.

DDIT3 (12q13) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen DDIT3.

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las translocaciones que afectan al gen DDIT3 en 12q13.

• FOXO1 (13q14) Break – XL for BOND (KBI-XL016): Para uso diagnóstico in vitro

FOXO1 (13q14) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de sarcoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FOXO1 (13q14) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen FOXO1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

FOXO1 (13q14) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen FOXO1.

FOXO1 (13q14) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen FOXO1.

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las translocaciones que afectan al gen FOXO1 en 13q14.

• FUS (16p11) Break – XL for BOND (KBI-XL017): Para uso diagnóstico in vitro

FUS (16p11) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de sarcoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FUS (16p11) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen FUS en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

FUS (16p11) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen FUS.

FUS (16p11) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen FUS.

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las translocaciones que afectan al gen FUS en 16p11.

• SS18 (18q11) Break – XL for BOND (KBI-XL018): Para uso diagnóstico in vitro

SS18 (18q11) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de sarcoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda SS18 (18q11) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen SS18 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

SS18 (18q11) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen SS18.

SS18 (18q11) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen SS18.

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las translocaciones que afectan al gen SS18 en 18q11.

• EWSR1 (22q12) Break – XL for BOND (KBI-XL019): Para uso diagnóstico in vitro

EWSR1 (22q12) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de sarcoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda EWSR1 (22q12) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen EWSR1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

EWSR1 (22q12) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen EWSR1.

EWSR1 (22q12) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen EWSR1.

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las translocaciones que afectan al gen EWSR1 en 22q12.

- BOND FISH Kit (DS9636): Este reactivo es para uso diagnóstico in vitro.

El BOND FISH Kit permite al usuario realizar hibridación in situ con fluorescencia (fluorescence in situ hybridization, FISH) en el sistema BOND automatizado (que incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III). Está indicado para utilizarse con sondas de ácidos nucleicos en tejido fijado con formol e incluido en parafina (formalin-fixed, paraffin-embedded, FFPE).

La interpretación clínica de toda tinción o de su ausencia deberá complementarse con estudios morfológicos que utilicen los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado deberá realizar su evaluación dentro del contexto de los antecedentes médicos del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Modelos:

- ALK (2p23) Break- XL for BOND (KBI-XL001)
- ROS1 (6022) Break - XL for BOND (KBI-XL002)
- MET (7q31) / SE 7 (D7Z1) – XL for BOND (KBI-XL003)
- FGFRI (8p11) /SE 8 (D821) – XL for BOND (KBI-XL004)
- RET (10q11) Break- XL for BOND (KBI-XL005)
- MYC (8q24) Break - XL for BOND (KBI-XL006)
- IGH (14q32) Break - XL for BOND (KBI-XL007)
- BCL2 (18q21) Break - XL for BOND (KBI-XL008)
- TP53 (17p13) / SE 17 - XL for BOND (KBI-XL009)
- TP53 (17p13) / SE 17 - XL for BOND (KBI-XL010)
- EGFR (7p11) / SE 7 (D7Z1) – XL for BOND (KBI-XL011)
- NTRK1 (1q23) Break – XL for BOND (KBI-XL012)
- CCND1 (11q13) Break– XL for BOND (KBI-XL013)
- MDM2 (12q15) / SE 12 (D12Z3) – XL for BOND (KBI-XL014)
- DDIT3 (12q13) Break – XL for BOND (KBI-XL015)
- FOXO1 (13q14) Break – XL for BOND (KBI-XL016)
- FUS (16p11) Break – XL for BOND (KBI-XL017)
- SS18 (18q11) Break – XL for BOND (KBI-XL018)
- EWSR1 (22q12) Break – XL for BOND (KBI-XL019)
- BOND FISH Kit (DS9636)

Forma de presentación: Las sondas FISH de Kreatech están compuestas por 2 viales (Proximal y Distal) de 1mL

cada una conteniendo:

Proximal: Las sondas de ADN PlatinumBright™ 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

Distal: Sondas de ADN PlatinumBright™550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

Ingrediente % en la composición

Agua 20-50

Formamide 40-70

Dextran Sulfate 5-20

Sodium Chloride 1

Sodium Citrate Dehydrate 1

El BOND FISH Kit (DS9636) está compuesto por 1 vial de 18mL (suficiente para 60 pruebas) de Post Hybridization Wash 2 Solution que Contiene Formamida (<50%).

Período de vida útil y condición de conservación: Sondas FISH Kreatech 24 meses. Entre 2°C y 8 °C.

BOND FISH Kit (DS9636) 18 meses. Entre 2°C y 8 °C.

Nombre del fabricante:

KREATECH BIOTECHNOLOGY B.V.

Lugar de elaboración:

Vlierweg 20, 1032 LG Amsterdam, Países Bajos.

Condición de uso: Uso profesional exclusivo


Expediente N° 1-0047-3110-005778-22-9

N° Identificador Trámite: 41567

AM

PROYECTO DE RÓTULOS

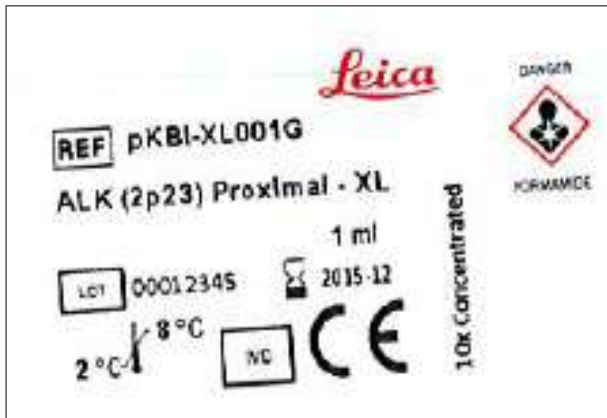
A los rótulos originales se le agregará lo siguiente:

	Importador: Bio-Optic S.R.L
Hipólito Yrigoyen 2789 - CP B1602DLF – Florida – Vicente López Buenos Aires - Argentina -Tel: (011) 54350175	
NOMBRE DEL PRODUCTO	
Diagnóstico de uso In Vitro para uso Profesional Exclusivo Autorizado por A.N.M.A.T - Certificado N.º PM- 2234-030 Director Técnico: Farm. Silvana Andrea Daou (MP 19341)	
E- 00	

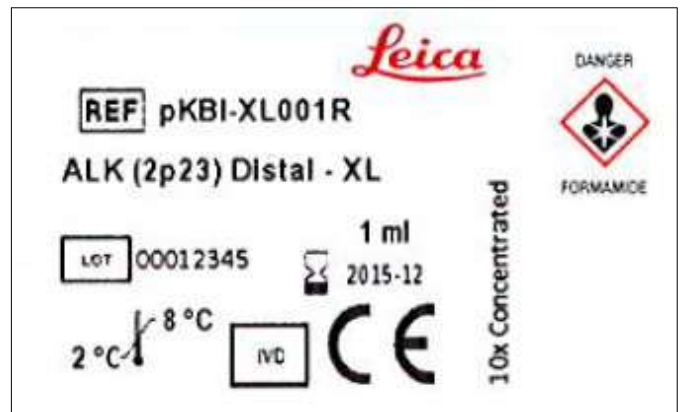
Rótulos originales:

- ALK (2p23) Break- XL for BOND (KBI-XL001)

Vial 1



Vial 2

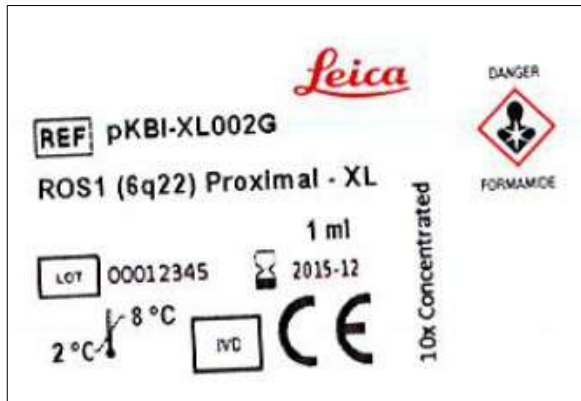


Kit

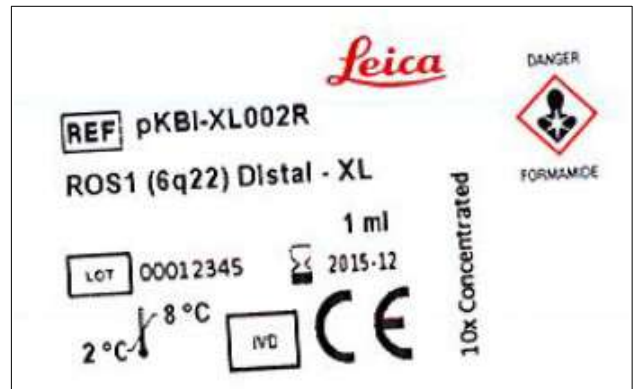


- ROS1 (6q22) Break - XL for BOND (KBI-XL002)

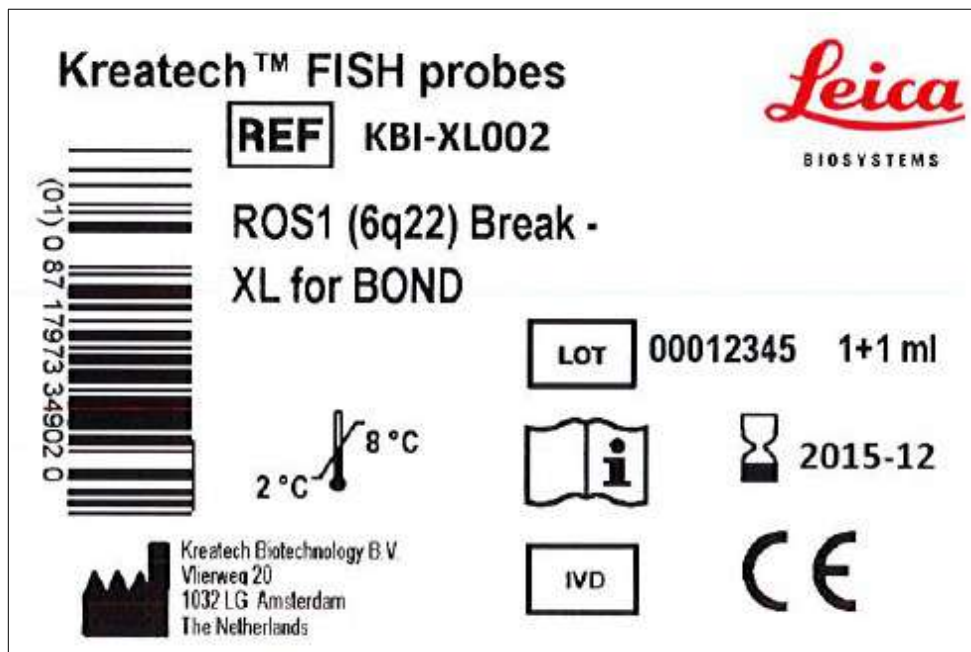
Vial 1



Vial 2

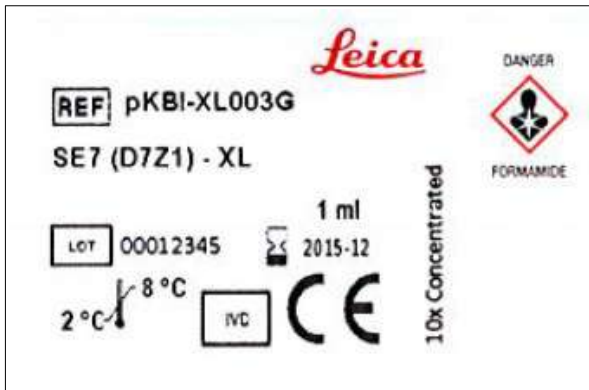


Kit

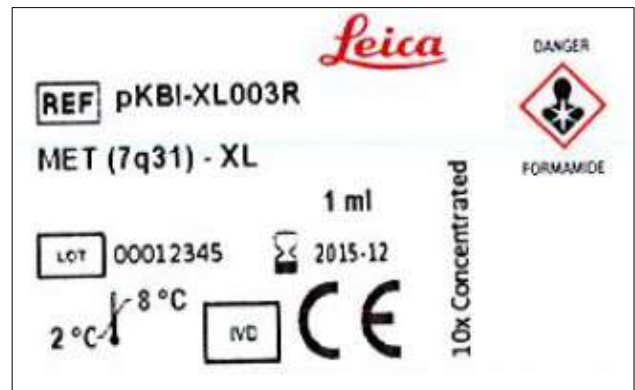


- MET (7q31) / SE 7 (D7Z1) – XL for BOND (KBI-XL003)

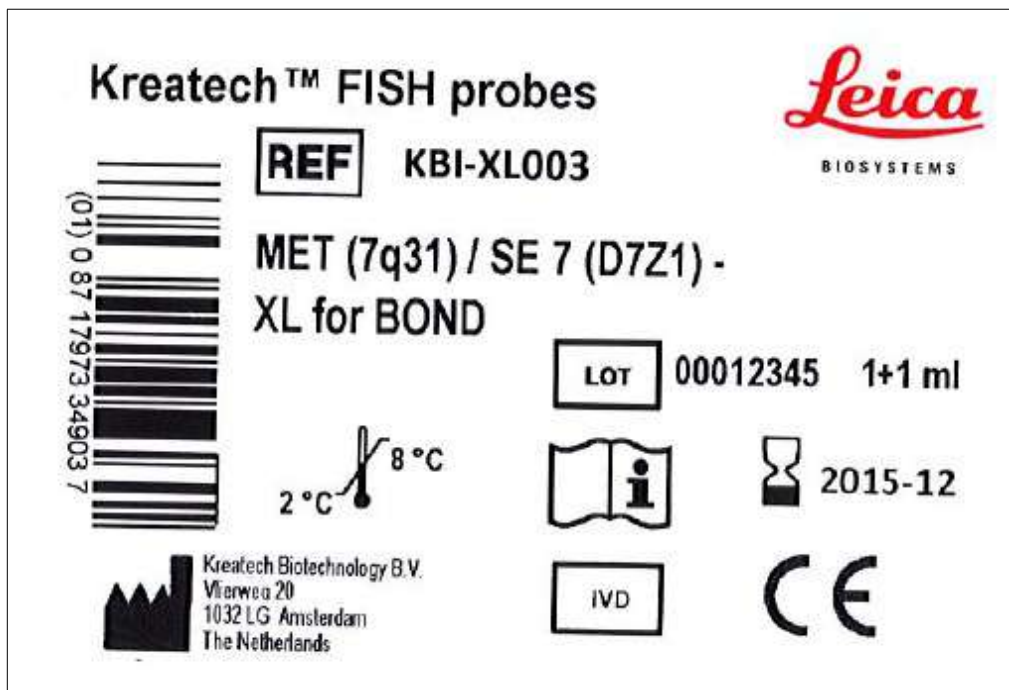
Vial 1



Vial 2

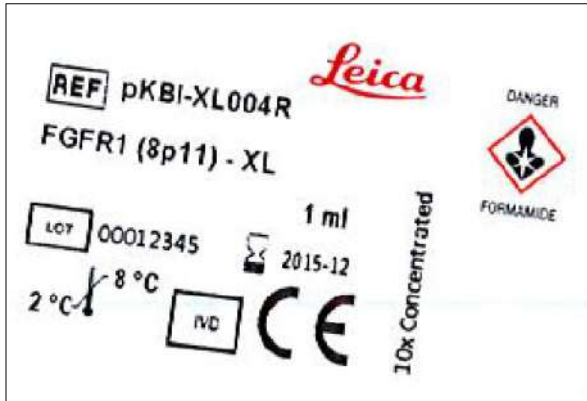


Kit

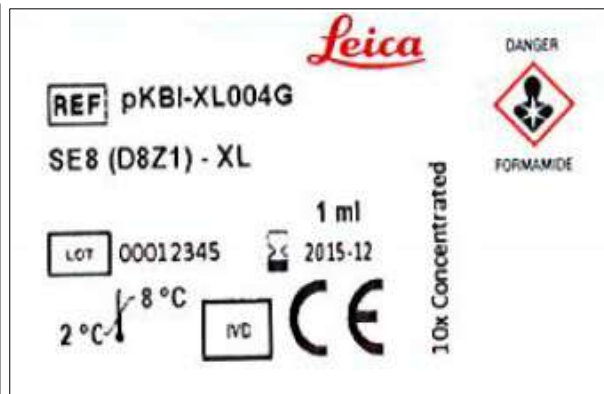


- FGFR1 (8p11) / SE 8 (D8Z1) – XL for BOND (KBI-XL004)

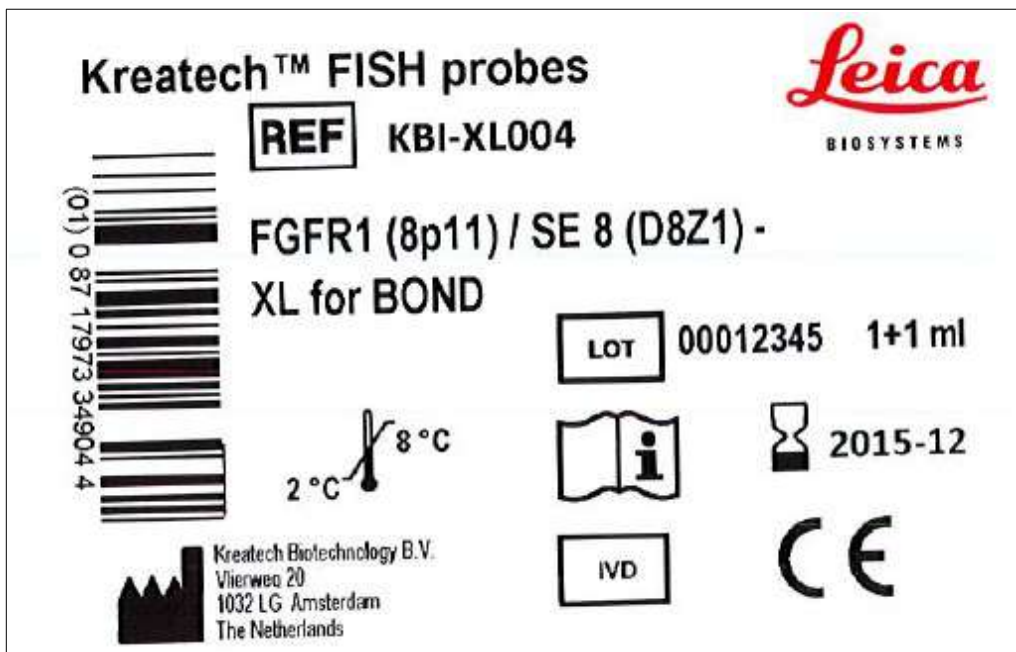
Vial 1



Vial 2



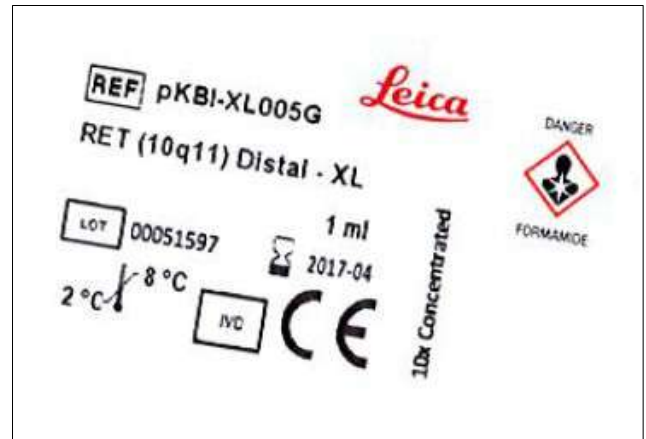
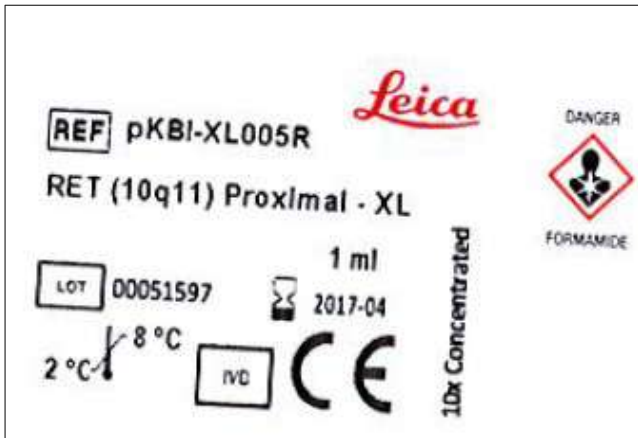
Kit



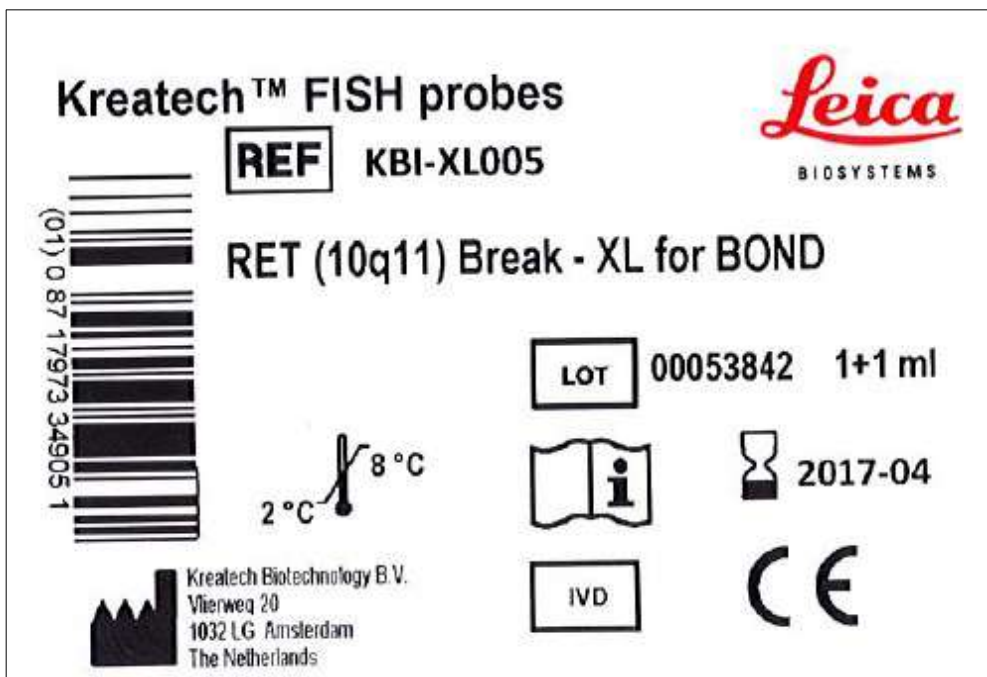
- RET (10q11) Break- XL for BOND (KBI-XL005)

Vial 1

Vial 2

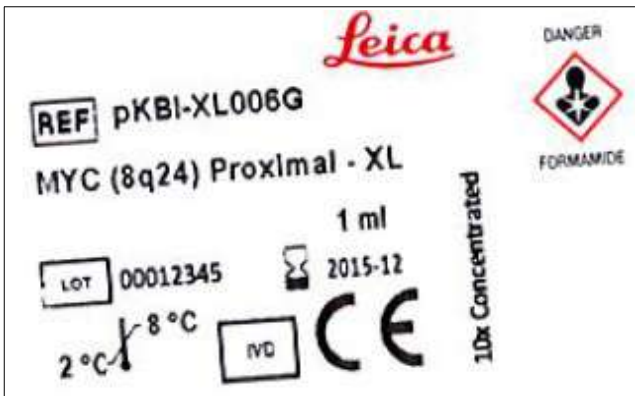


Kit

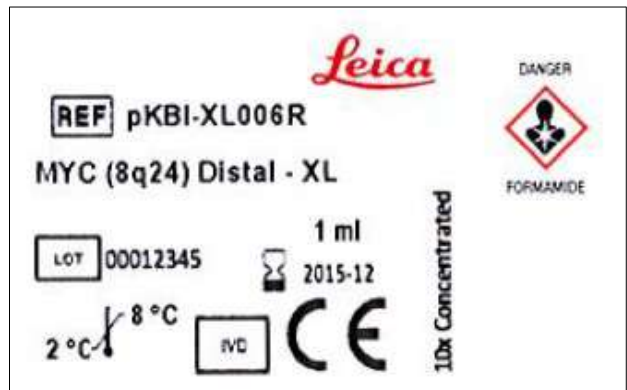


- MYC (8q24) Break - XL for BOND (KBI-XL006)

Vial 1



Vial 2

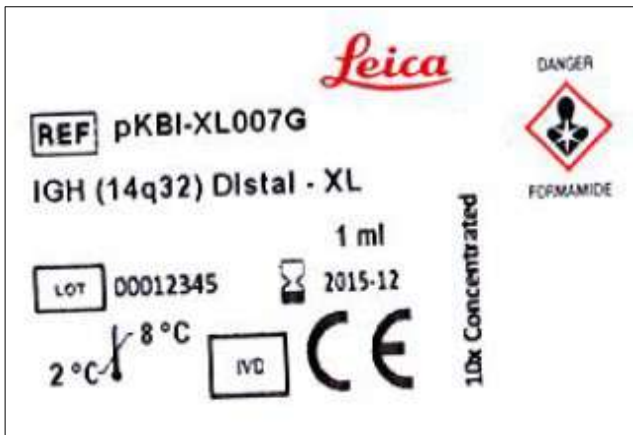


Kit



- IGH (14q32) Break - XL for BOND (KBI-XL007)

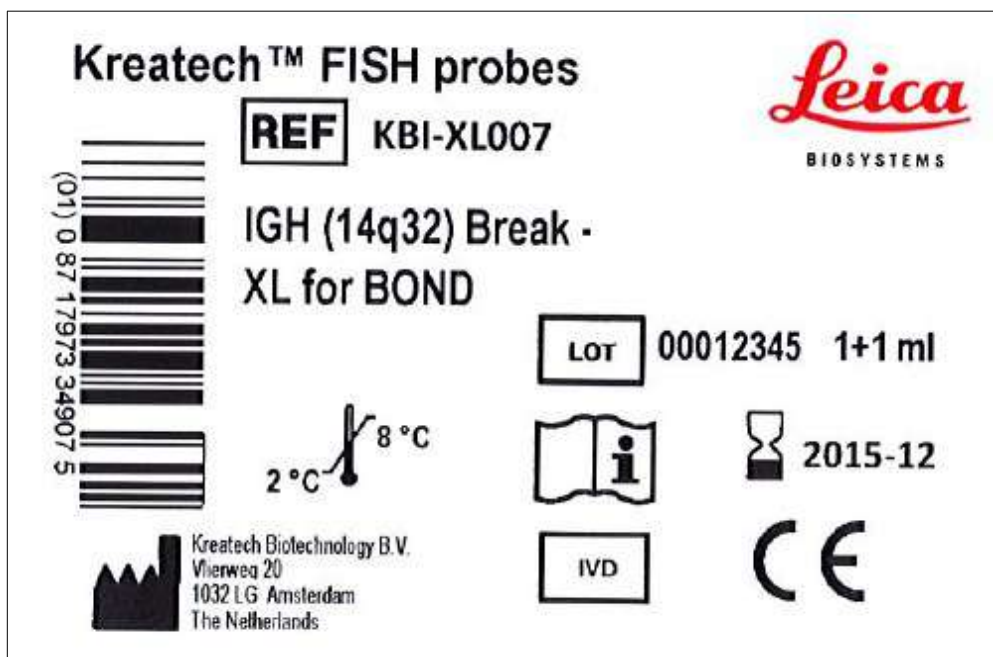
Vial 1



Vial 2



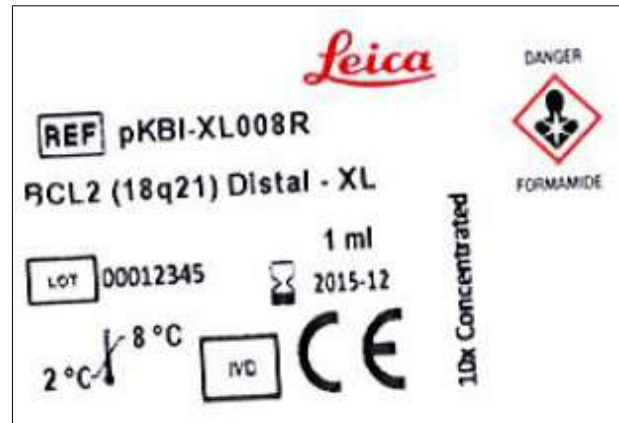
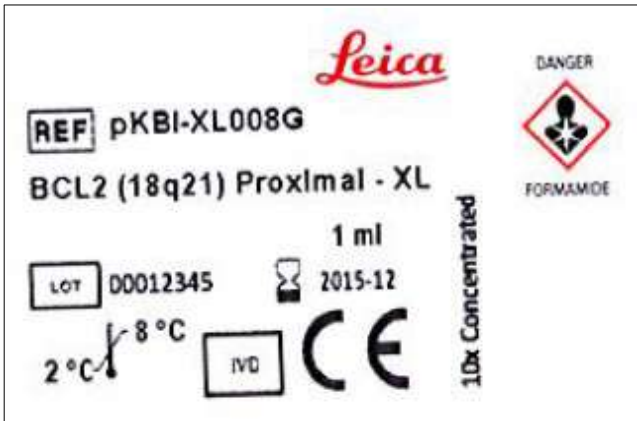
Kit



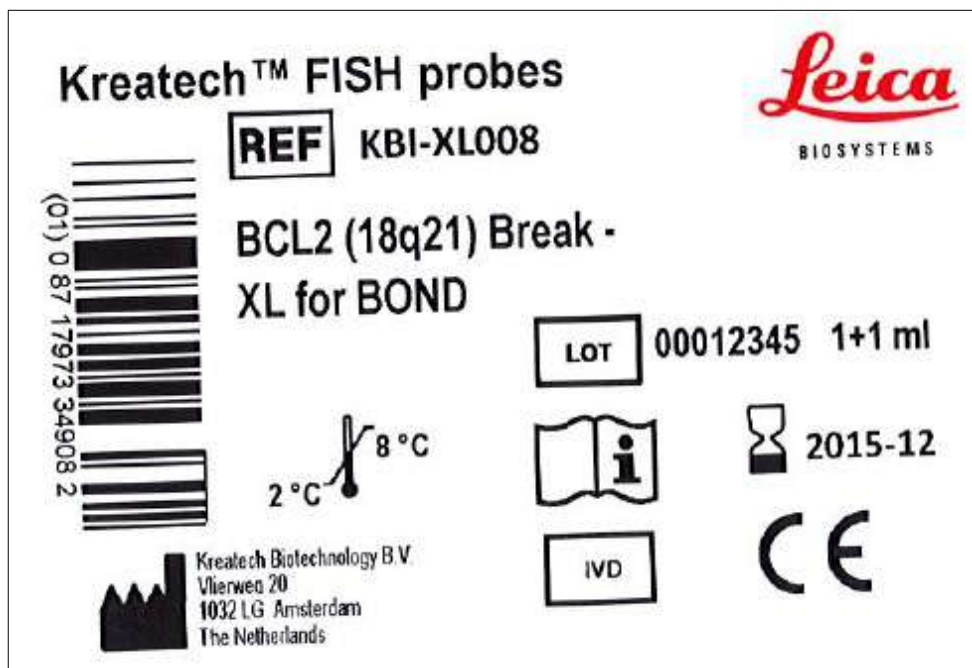
- BCL2 (18q21) Break - XL for BOND (KBI-XL008)

Vial 1

Vial 2

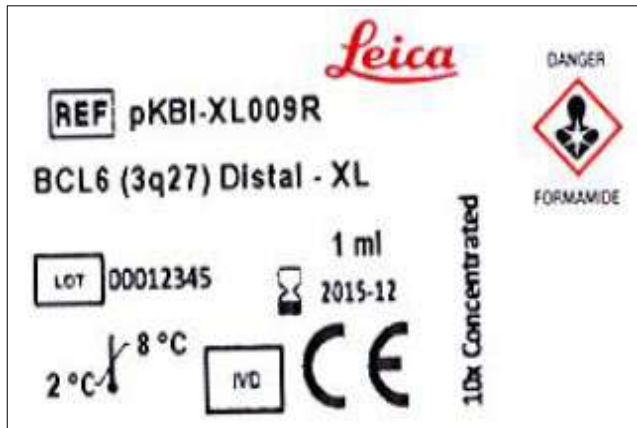


Kit

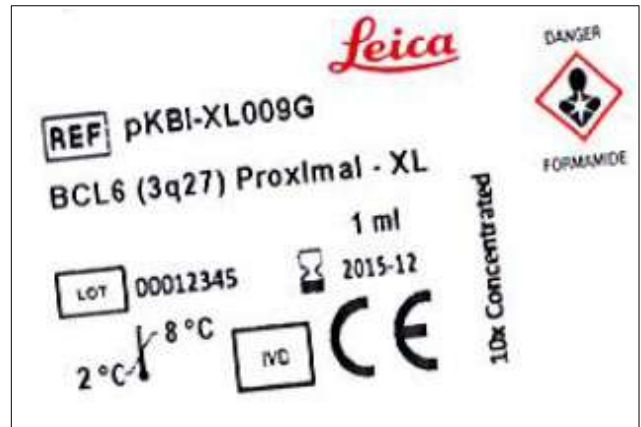


- TP53 (17p13) / SE 17 - XL for BOND (KBI-XL009)

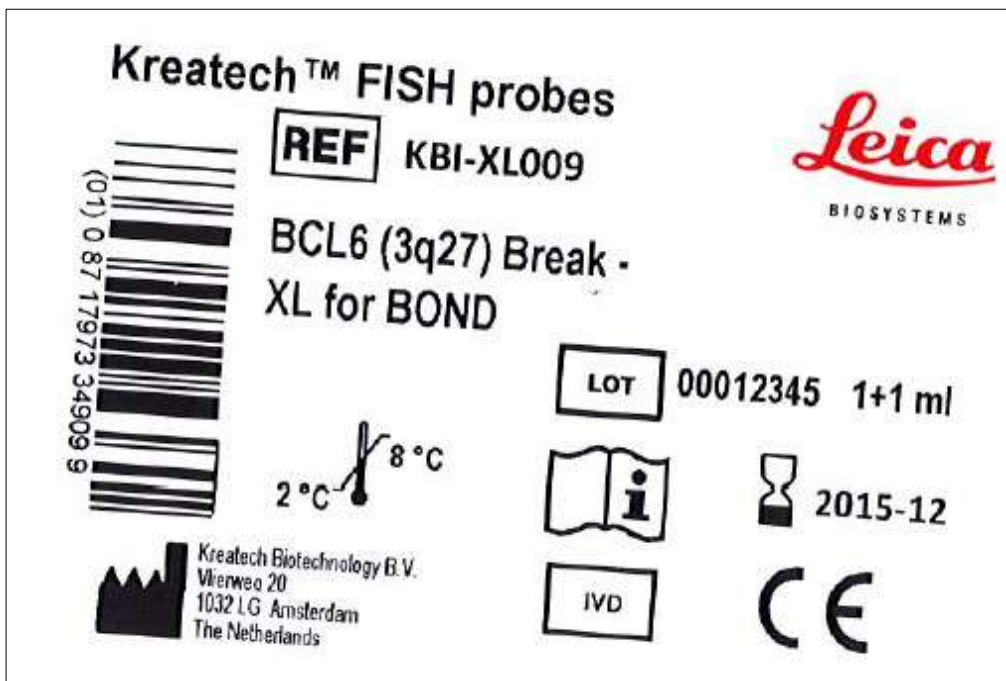
Vial 1



Vial 2



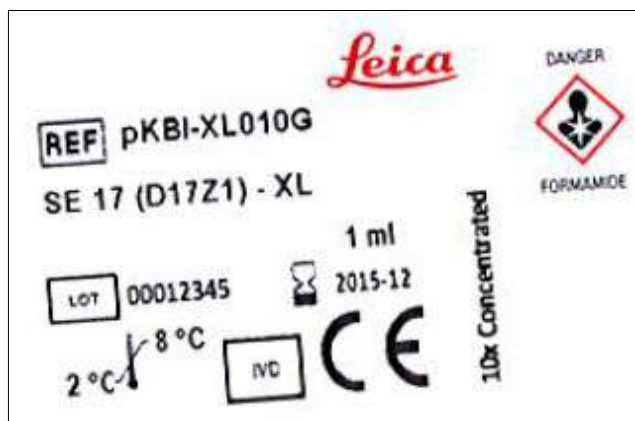
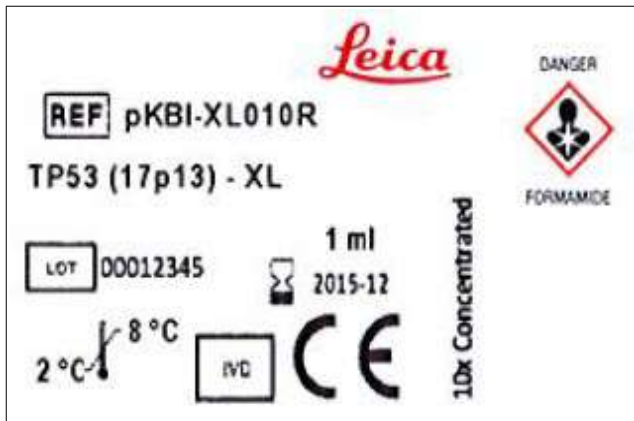
Kit



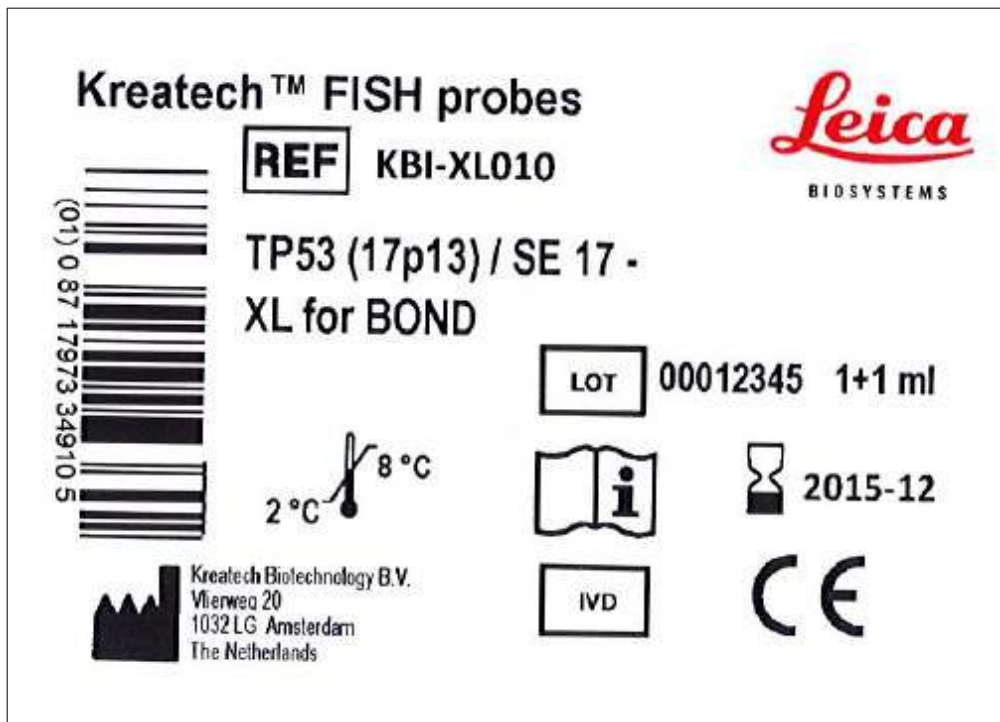
- TP53 (17p13) / SE 17 - XL for BOND (KBI-XL010)

Vial 1

Vial 2

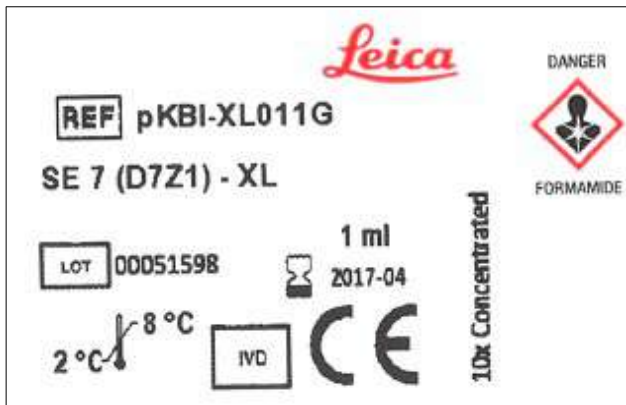


Kit

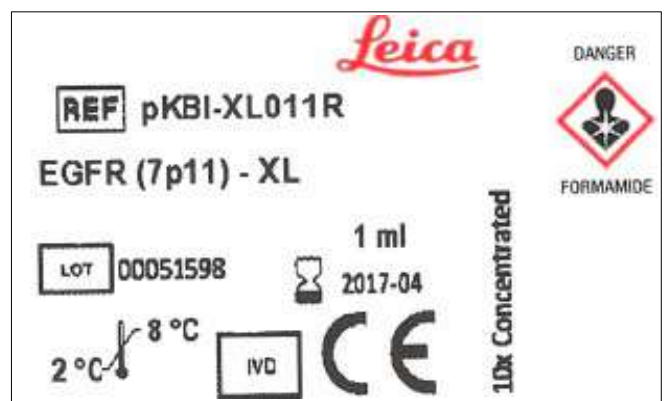


- EGFR (7p11) / SE 7 (D7Z1) – XL for BOND (KBI-XL011)

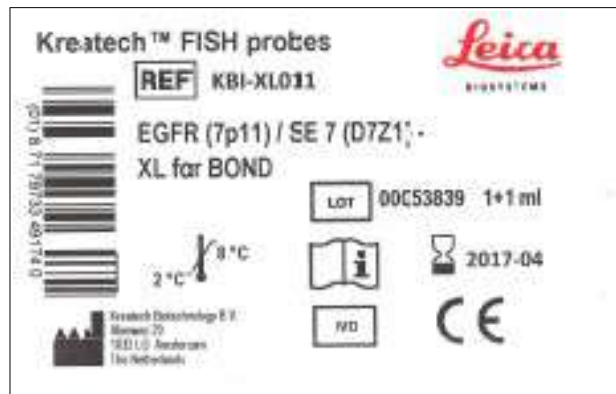
Vial 1



Vial 2

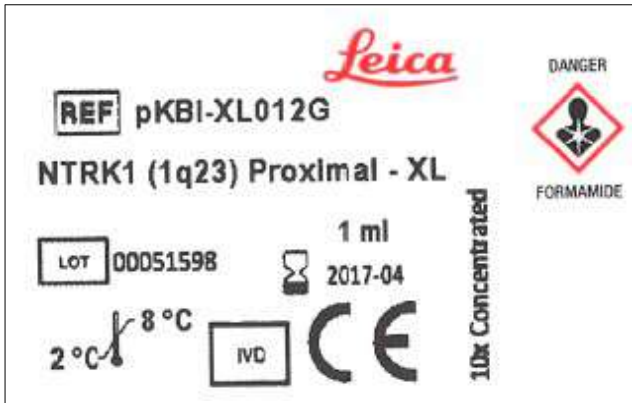


Kit

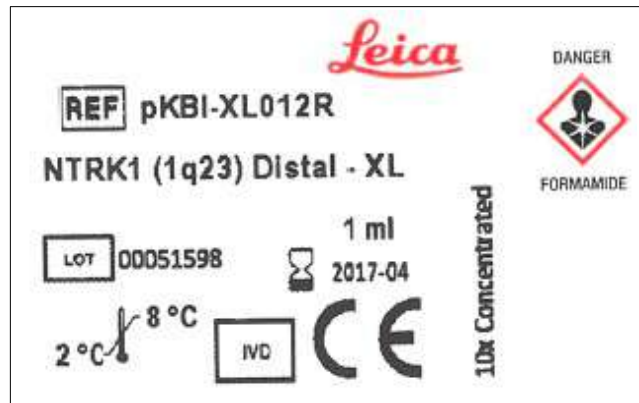


- NTRK1 (1q23) Break – XL for BOND (KBI-XL012)

Vial 1



Vial 2



Kit



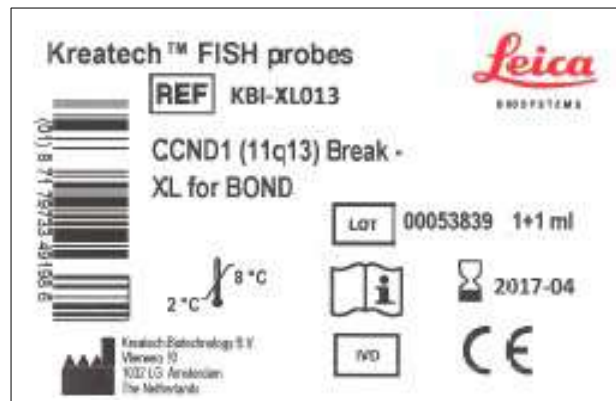
- CCND1 (11q13) Break- XL for BOND (KBI-XL013)

Vial 1

Vial 2



Kit

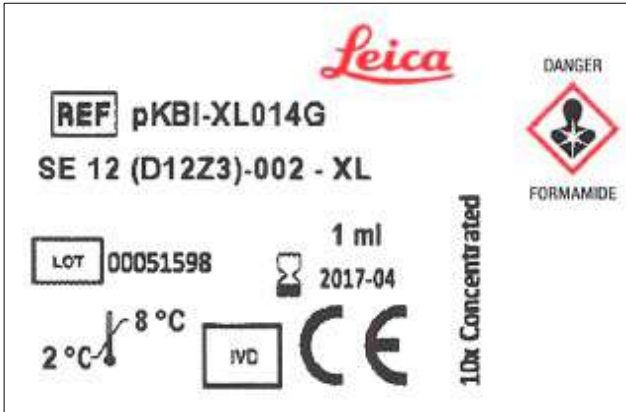



 LIC. LUCAS M. VILLEGAS
 SOCIO GERENTE

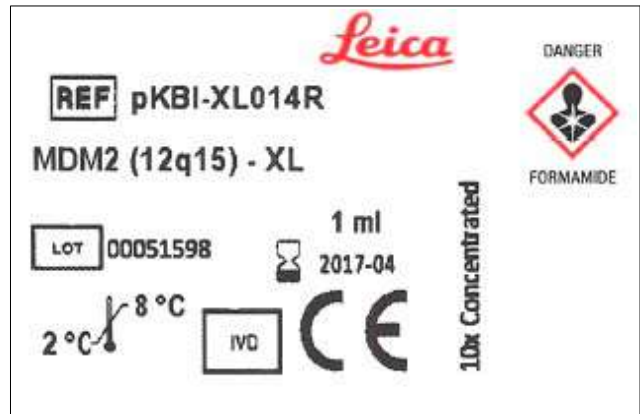

 ANDREA DAOU
 DIRECTORA TÉCNICA
 M.P. 19341
 BIO-OPTIC SRL

- MDM2 (12q15) / SE 12 (D12Z3) – XL for BOND (KBI-XL014)

Vial 1



Vial 2

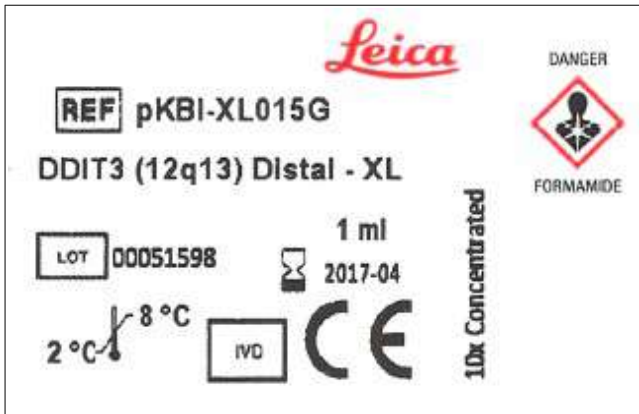


Kit

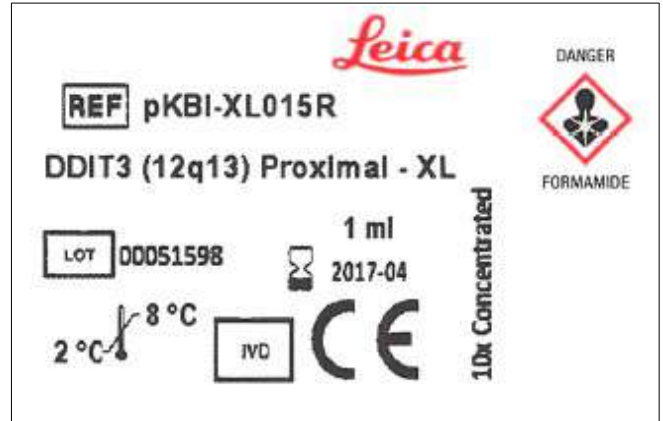


- DDIT3 (12q13) Break – XL for BOND (KBI-XL015)

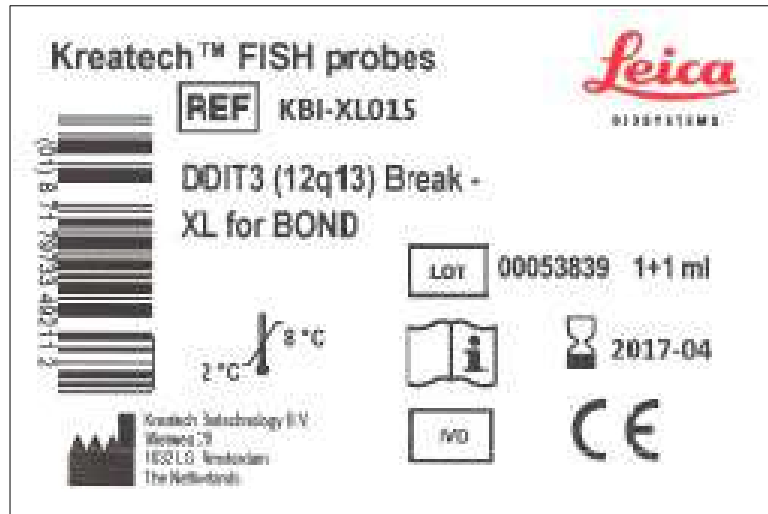
Vial 1



Vial 2

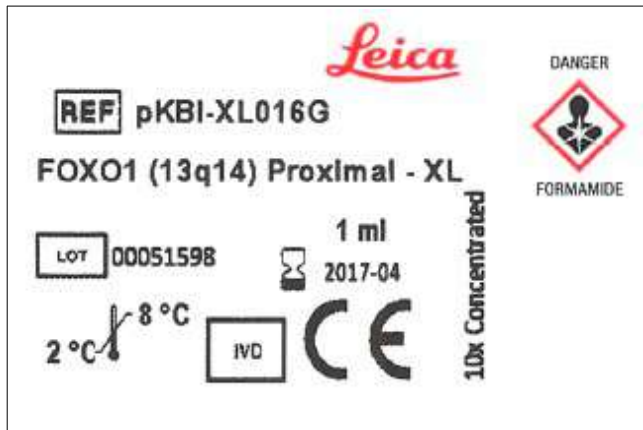


Kit

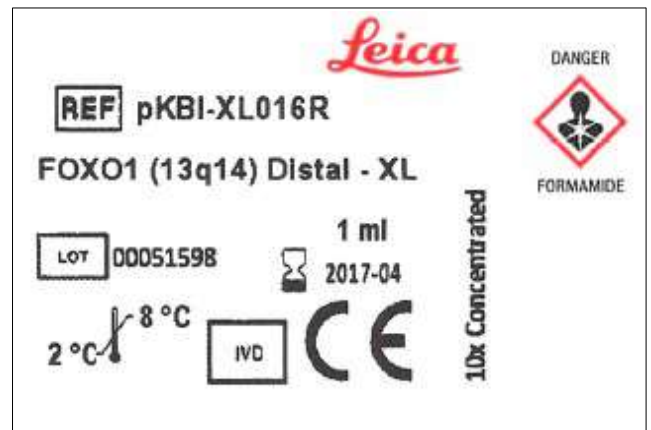


- FOXO1 (13q14) Break – XL for BOND (KBI-XL016)

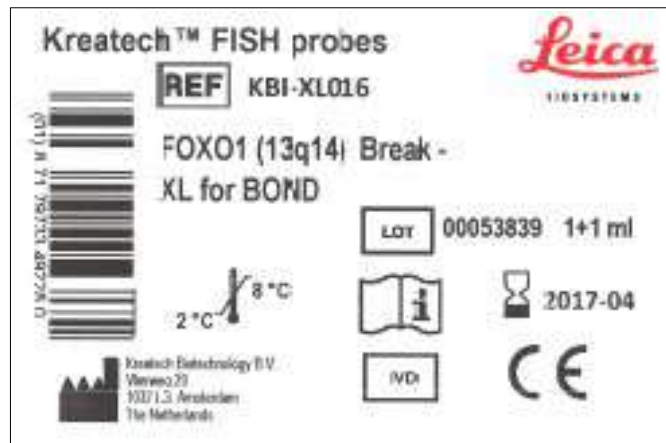
Vial 1



Vial 2

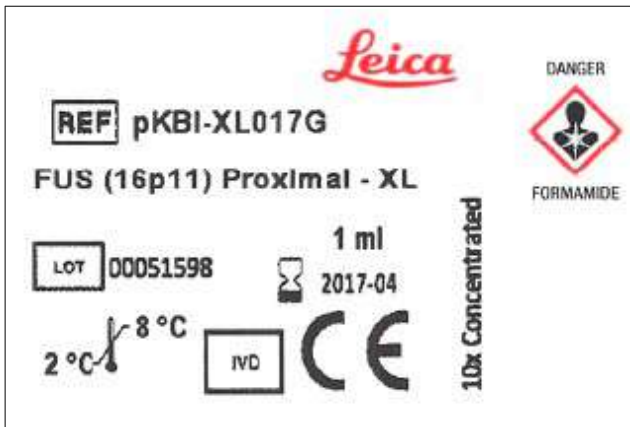


Kit

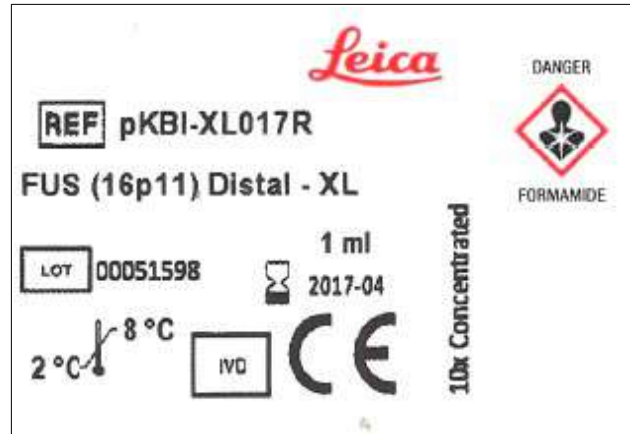


- FUS (16p11) Break – XL for BOND (KBI-XL017)

Vial 1



Vial 2

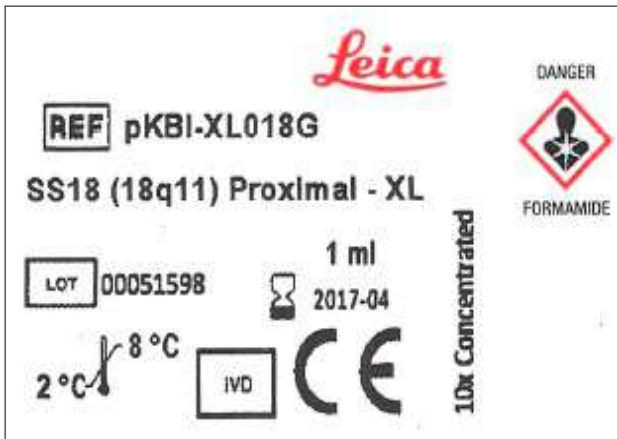


Kit



- SS18 (18q11) Break – XL for BOND (KBI-XL018)

Vial 1



Vial 2

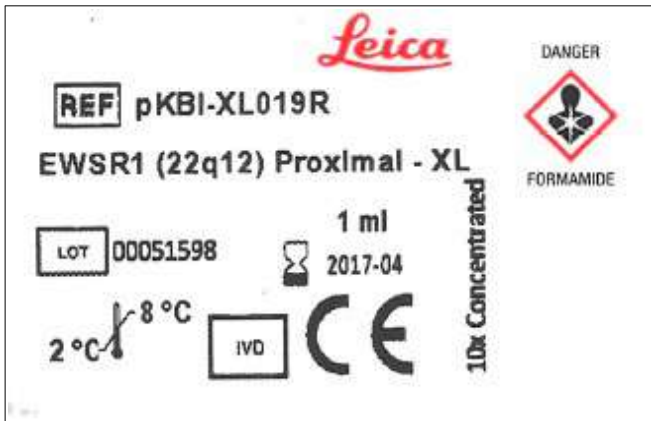


Kit

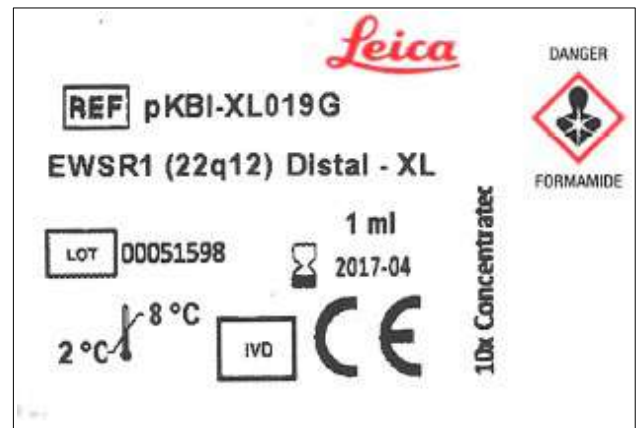


- EWSR1 (22q12) Break – XL for BOND (KBI-XL019)

Vial 1



Vial 2



Kit

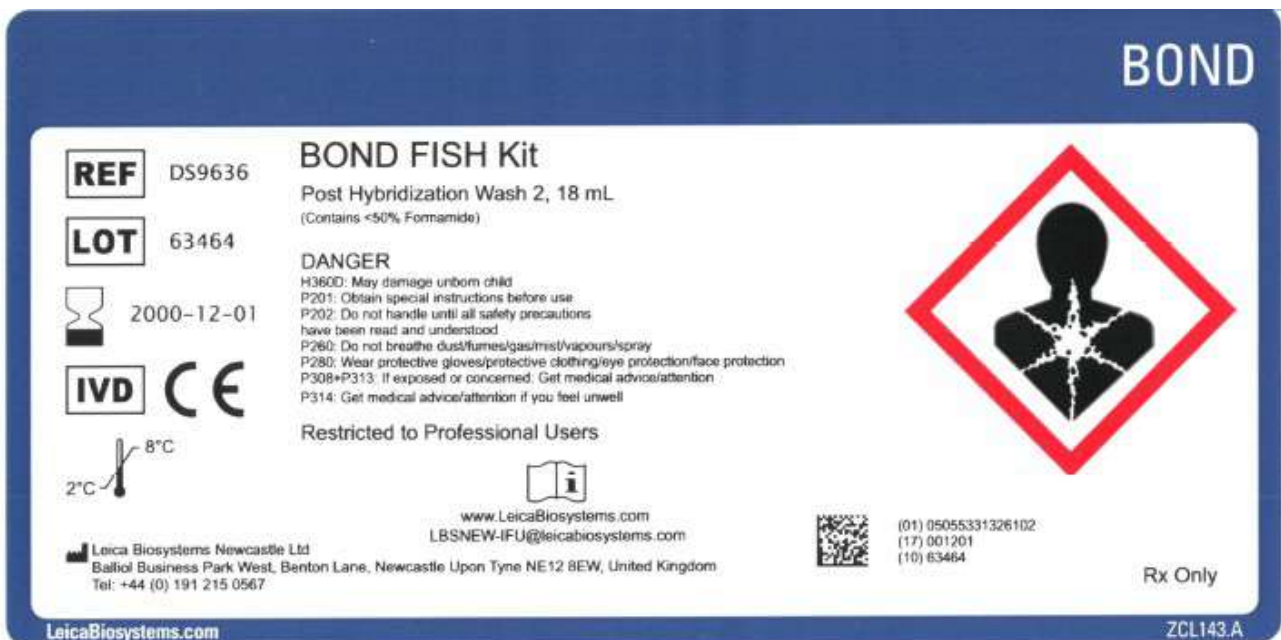


- BOND FISH Kit (DS9636)

Interno



Externo



g


 LIC. LUCAS M. VILLEGAS
 SOCIO GERENTE


 ANDREA DAOU
 DIRECTORA TÉCNICA
 M.P. 19341
 BIO-OPTIC SRL

Kreatech™ FISH probes

ALK (2p23) Break – XL for BOND

N.º de catálogo: KBI-XL001

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*

La sonda ALK (2p23) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH ALK (2p23) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen ALK en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés).

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las sondas Kreatech FISH probes se utilizan para realizar un procedimiento de tinción mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) en tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina. Tras un pretratamiento adecuado, la hibridación de las sondas Kreatech FISH probes y el lavado astringente tras la hibridación usando el BOND FISH kit, los cortes de tejidos se deben deshidratar y montar con DAPI manualmente. Los resultados se

ES

interpretan mediante microscopía de fluorescencia usando los filtros recomendados con las longitudes de onda adecuadas.

Reactivos proporcionados

Descripción de producto	N.º de producto	Volumen	Composición
ALK (2p23) Proximal – XL	pKBI-XL001G	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN Platinum <i>Bright</i> ™ 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.
ALK (2p23) Distal – XL	pKBI-XL001R	1 ml, concentración de 10 x	Sondas de ADN Platinum <i>Bright</i> ™ 550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

La sonda ALK (2p23) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen ALK.

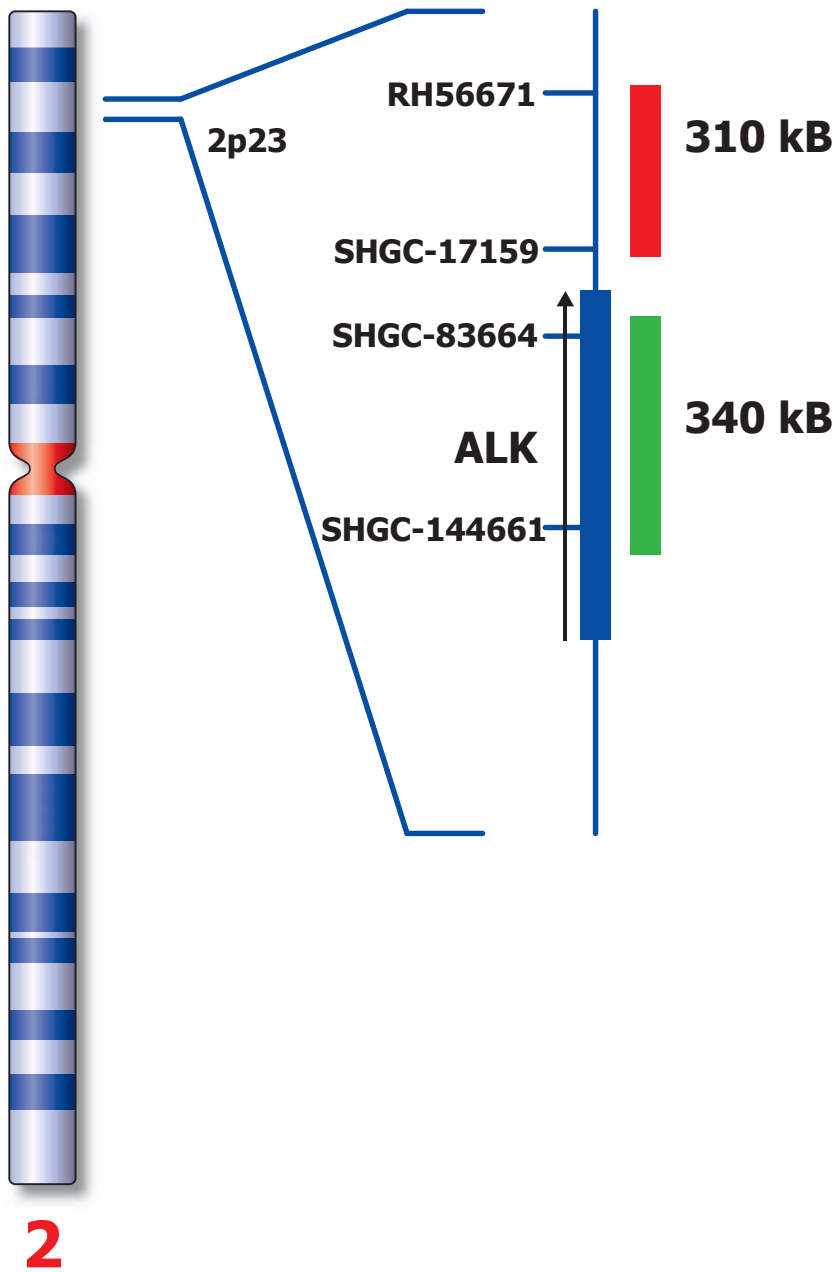
La sonda ALK (2p23) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen ALK.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al al gen ALK en 2p23.


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18342
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Tabla 1: mapas cromosómicos en los que se muestran el tamaño de las sondas en kilopares de bases (kB), la banda cromosómica y la posición genómica definida por los marcadores STS¹. La flecha situada junto al gen indica la dirección de transcripción del gen. En verde, la sonda ALK (2p23) Proximal – XL. En rojo, la sonda ALK (2p23) Distal – XL. Consulte el sitio web de Leica para obtener más información sobre los mapas cromosómicos.



ES

2

1) Los mapas y las ubicaciones se basan en UCSC genome browser, build GRCh37/hg19, Feb.2009.

Material necesario que no se suministra

Consulte la sección “Uso de los reactivos BOND” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación *in situ* usando el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Además de los reactivos BOND genéricos, los reactivos siguientes son necesarios específicamente para el análisis del material del paciente adecuado con sondas Kreatech FISH probes en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

- BOND FISH kit (DS9636)

Las sondas Kreatech FISH probes se procesan en un sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III) en combinación con el BOND FISH kit (DS9636). El BOND FISH kit, en combinación con *FISH Protocol D, instalado previamente en el sistema BOND con BDZ v62 o superior, es necesario para el procesamiento de FISH en el sistema BOND. Este protocolo se ha diseñado para el lavado tras la hibridación, con el fin de reducir la hibridación no específica de las sondas de ácido nucleico. El BOND FISH kit contiene el tampón de lavado tras la hibridación; un kit es suficiente para realizar 60 pruebas.

- BOND Hybridization solution (AR9037)

Las sondas se deben diluir a la concentración preferida usando la BOND Hybridization solution.

- BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551)

Es preciso realizar la digestión enzimática en combinación con un pretratamiento térmico para obtener resultados óptimos con FISH.

- DAPI (p. ej., LK-095A o LK-096A)

La contratinción DAPI no se lleva a cabo automáticamente como

parte del protocolo FISH en el sistema BOND, por lo que se tiene que realizar manualmente usando la concentración preferida de DAPI counterstain / antifade.

Muestras

Las sondas Kreatech FISH probes se han analizado con tejidos FFPE con un grosor de ~ 5 µm. Para obtener resultados óptimos, los bloques y los portaobjetos cortados de tejidos se deben almacenar de acuerdo con las condiciones recomendadas de almacenamiento y manipulación. Consulte el sitio web de Leica.

El termoendurecimiento se puede realizar en el sistema BOND con el *Bake and Dewax protocol o bien por separado en un horno o una incubadora. La temperatura y el tiempo recomendados para el termoendurecimiento es de hasta 16 horas a 56 °C o de 60-120 minutos a 80 °C.

Instrucciones de uso: dilución y mezclado

Las sondas Kreatech FISH probes se suministran a una concentración 10 x y se deben combinar y diluir para obtener una concentración final 1 x usando BOND Hybridization Solution (AR9037).

Reactivo	Volumen usado (recomendado)
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml
Volumen total a (1 x)	10 ml
N.º de pruebas	Hasta 40 pruebas

Tras la dilución de la sonda, la mezcla se debe transferir a un contenedor BOND adecuado (contenedor de titulación, contenedor abierto de 7 ml o contenedor abierto de 30 ml, dependiendo de los volúmenes preparados) y registrar como "DNA probe" en el sistema BOND.

Cuando prepare diluciones para la valoración, asegúrese de que obtiene cantidad suficiente para el volumen muerto del BOND Open Container adecuado (consulte los valores de la documentación del usuario del sistema BOND). El número exacto de pruebas de un vial depende del volumen muerto del contenedor usado y la calibración del sistema BOND.

Consulte en la sección “Solución de problemas” el uso de concentraciones finales diferentes a 1 x.

Consulte la sección “Gestión de reactivos” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener más información sobre el registro de reactivos nuevos en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Instrucciones de uso: pretratamiento y protocolos

Las sondas Kreatech FISH probes se han validado usando el BOND FISH kit, reactivos complementarios BOND y los protocolos predeterminados de pretratamiento y tinción BOND mostrados en la tabla 2. El protocolo final puede variar en función del tejido empleado por el usuario. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Tabla 2: protocolos para procesar las sondas Kreatech FISH probes

Parte del protocolo BOND	Nombre del protocolo	Tipo de protocolo
Staining – ISH Detection	*FISH Protocol D	Lavado tras la hibridación
Prestaining – Preparation	*Dewax	Eliminación de la parafina
Prestaining – Heat Pretreatment	HIER 25 min with ER2 (100) ⁽¹⁾	Pretratamiento térmico, Recuperación del epítipo
Prestaining – Enzyme Pretreatment	*Enzyme 5 for 25 min ⁽²⁾	Digestión enzimática
Prestaining – ISH denaturation	*D10	Desnaturalización durante 10 minutos.
Prestaining – ISH detection	*ISH Hybridization (12Hr)	Hibridación durante 12

- (1) No se trata de un protocolo predefinido. Para crear el protocolo HIER de 25 minutos, consulte la sección “Protocolos” de la documentación del usuario del sistema BOND.
- (2) La enzima 5 se deriva del Enzyme Concentrate 1 disponible en el BOND Enzyme Pretreatment Kit (AR9551). Consulte información más detallada en la sección “Solución de problemas”.

Patrones de las señales

La sonda ALK (2p23) Break – XL for BOND puede utilizarse para detectar traslocaciones asociadas al gen ALK en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés) usando los protocolos mostrados en la tabla 2.

La sonda ALK (2p23) Break – XL for BOND se ha diseñado como ensayo bicromático para detectar traslocaciones de la región del gen ALK en 2p23. El patrón normal de las señales presenta dos señales rojas/verdes de fusión (2F), mientras que una traslocación asociada al gen ALK causa una señal de fusión para el cromosoma 2 normal y una señal roja y una señal verde para la traslocación (1F1R1G).

Se recomienda realizar pruebas de seguimiento si se observan patrones atípicos.

	Patrón normal de señales	Traslocación asociada al gen ALK en 2p23
Patrón esperado	2F	1F1R1G

Consulte las pautas locales o generales para la interpretación de patrones de señal distintos a los mostrados en la tabla.

Exención de responsabilidad: El rendimiento de la sonda ALK (2p23) Break – XL for BOND se ha establecido usando los procedimientos descritos en este folleto. Si se modifican estos procedimientos, se puede alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.


 ANDREA DAOU
 DIRECTORA TÉCNICA
 M.P. 18341
 BIO-OPTIC SRL


 LIC. LUCAS M. VILLEGAS
 SOCIO GERENTE

Almacenamiento y estabilidad

Proteja las sondas de la luz directa intensa.

Almacénese a una temperatura de 2–8 °C. El producto sin abrir se mantiene estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Vuelva a conservar a una temperatura de 2–8 °C el reactivo no diluido inmediatamente tras el uso. El reactivo de la sonda diluido/mezclado almacenado en un contenedor BOND se debe volver a conservar a una temperatura de 2–8 °C tras haberlo procesado. Tras la dilución de la sonda, las mezclas de sondas se mantienen estables durante 30 días. Una vez transcurrido este periodo, la mezcla diluida puede causar resultados incorrectos. No hay indicios evidentes que indiquen la contaminación y/o la inestabilidad de la sonda. El usuario debe verificar las condiciones de almacenamiento diferentes a las indicadas anteriormente.

Solución de problemas

Pretratamiento (sobredigestión): en las instrucciones de uso del BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551) se recomienda que se registre una dilución de 1 gota de Enzyme Concentrate 1 en 7 ml de Diluent como *Enzyme 1 en el software BOND.

Esta *Enzyme 1 puede ser demasiado potente para determinadas muestras cuando se usa en combinación con Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) y tiene como consecuencia un tejido digerido en exceso. Se recomienda realizar una dilución secundaria de *Enzyme 1 (una dilución de hasta 1:300) y un registro independiente del reactivo en el sistema BOND como *Enzyme 5 para evitar confusiones. Como alternativa, se puede usar una dilución directa de hasta 1:3000 del Enzyme concentrate 1 en lugar de la dilución sucesiva de *Enzyme 1.

Dilución de la sonda e intensidad de la señal: se recomienda una concentración final de la sonda 1 x, sin embargo, el equilibrio adecuado de la sonda depende de factores como la edad y la fijación del tejido, el protocolo de pretratamiento y las preferencias personales. Las

concentraciones óptimas y las relaciones de la sonda pueden variar, y el usuario final las debe determinar de forma práctica.

Reactivo	Volumen usado (recomendado)	Ejemplo: reducir la potencia de la señal verde	
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml	Roja a 1 x:	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml	Verde a 0,5 x:	0,5 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml		8,5 ml
Volumen total a concentración final 1 x	10 ml		10 ml
Número de pruebas	hasta 40 pruebas		hasta 40 pruebas

Póngase en contacto con su distribuidor local o el Servicio de atención al cliente de la oficina regional de Leica Biosystems para comunicar cualquier tinción anormal.

Limitaciones específicas del producto

Los usuarios que se desvían de los procedimientos de prueba recomendados tienen que responsabilizarse de la interpretación de los resultados de los pacientes en estas circunstancias. Los tiempos de los protocolos pueden variar debido a las variaciones de los tipos de tejido, fijación y procesamiento. Además, es posible que la concentración y el tiempo de incubación de las enzimas BOND tengan que optimizarse en función del tipo de tejido y las condiciones de procesamiento y fijación.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la hibridación *in situ* con los reactivos BOND en la documentación del usuario del sistema BOND.

Advertencias y precauciones

- Este producto está diseñado exclusivamente para su uso diagnóstico *In vitro*.
- Exclusivamente para uso en laboratorio y por profesional cualificado.
- Las sondas Kreatech FISH probes están diseñadas para su uso en sistemas BOND.
- No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Lleve prendas, guantes, gafas y protección para la cara adecuados.
- Las sondas Kreatech FISH probes contienen formamida y, por lo tanto, se deben registrar en el software BOND como residuos peligrosos.
- La formamida puede tener efectos adversos en la reproducción humana. Evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel no protegida. Si se produce contacto con la piel, lávese con agua abundante durante al menos 15 minutos.

ES

PELIGRO**FORMAMIDE**

Indicación de peligro

H360D Puede dañar al feto.

Precauciones

P201 Pedir instrucciones especiales para su uso.


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

- P280** Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
- P308+P313** en caso de exposición manifiesta o presunta: consultar con un médico.
- P405** Guardar bajo llave.
- P501** Desechar el contenido/recipiente en un vertedero autorizado de productos químicos o en el caso de contenido orgánico mediante incineración a alta temperatura.

- Consulte información más detallada en la hoja de datos de seguridad. Para obtener una copia de la hoja de datos de seguridad, póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems. Las hojas de datos de seguridad están disponibles en el sitio web de Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a estas, así como el volumen de sonda sobrante, se deben manipular como si fueran capaces de transmitir infecciones y desechar de acuerdo con las precauciones adecuadas.
- No pipetee nunca con la boca los reactivos y evite que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante. Consulte con un médico.
- Limpie inmediatamente las salpicaduras usando materiales desechables adecuados.
- Todos los materiales se deben eliminar de acuerdo a las normas locales.
- Los pasos de recuperación o los tiempos o las temperaturas de incubación diferentes a los indicados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *in situ* Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.1 - 13.
4. FISH on BOND User Guide (Guía del usuario para FISH en el sistema BOND).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Kreatech™ FISH probes

ROS1 (6q22) Break – XL for BOND

N.º de catálogo: KBI-XL002

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*

La sonda ROS1 (6q22) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH ROS1 (6q22) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen ROS1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés).

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las sondas Kreatech FISH probes se utilizan para realizar un procedimiento de tinción mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) en tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina. Tras un pretratamiento adecuado, la hibridación de las sondas Kreatech FISH probes y el lavado astringente tras la hibridación usando el BOND FISH kit, los cortes de tejidos se deben deshidratar y montar con DAPI manualmente. Los resultados se

interpretan mediante microscopía de fluorescencia usando los filtros recomendados con las longitudes de onda adecuadas.

Reactivos proporcionados

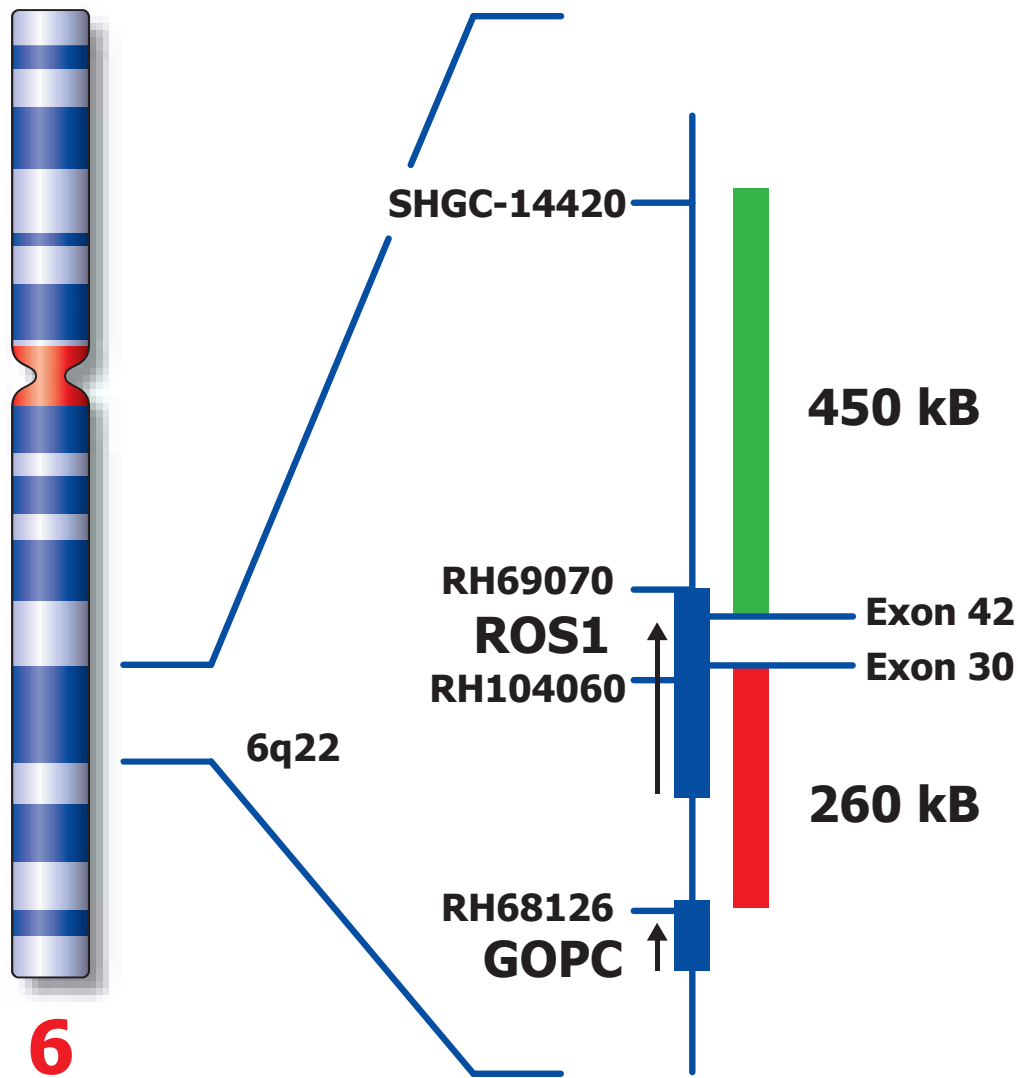
Descripción del producto	N.º de producto	Volumen	Composición
ROS1 (6q22) Proximal – XL	pKBI-XL002G	1 ml, concentrado 10 x	Las sondas de ADN Platinum <i>Bright</i> [™] 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.
ROS1 (6q22) Distal – XL	pKBI-XL002R	1 ml, concentrado 10 x	Las Sondas de ADN Platinum <i>Bright</i> [™] 550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

La sonda ROS1 (6q22) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen ROS1.

La sonda ROS1 (6q22) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen ROS1.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al gen ROS1 en 6q22.

Tabla 1: mapa cromosómico en el que se muestra el tamaño de las sondas en kilopares de bases (kB), la banda cromosómica y la posición genómica definida por los marcadores STS¹. La flecha situada junto al gen indica la dirección de transcripción del gen. En verde, la sonda ROS1 (6q22) Proximal – XL. En rojo, la sonda ROS1 (6q22) Distal – XL. Consulte el sitio web de Leica para obtener más información sobre los mapas cromosómicos.



ES

1 Los mapas y las ubicaciones se basan en UCSC genome browser, build GRCh37/hg19, Feb.2009.

Material necesario que no se suministra

Consulte la sección “Uso de los reactivos BOND” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación *in situ* usando el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Además de los reactivos BOND genéricos, los reactivos siguientes son necesarios específicamente para el análisis del material del paciente adecuado con sondas Kreatech FISH probes en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

- BOND FISH kit (DS9636)

Las sondas Kreatech FISH probes se procesan en un sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III) en combinación con el BOND FISH kit (DS9636). El BOND FISH kit, en combinación con el *FISH Protocol D, instalado previamente en el sistema BOND con BDZ v62 o superior, es necesario para el procesamiento de FISH en el sistema BOND. Este protocolo se ha diseñado para el lavado tras la hibridación, con el fin de reducir la hibridación no específica de las sondas de ácido nucleico. El BOND FISH kit contiene el tampón de lavado tras la hibridación; un kit es suficiente para realizar 60 pruebas.

- BOND Hybridization solution (AR9037)

Las sondas se deben diluir a la concentración preferida usando la BOND Hybridization solution.

- BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551)

Es preciso realizar la digestión enzimática en combinación con un pretratamiento térmico para obtener resultados óptimos con FISH.

- DAPI (p. ej., LK-095A o LK-096A)

La contratinción DAPI no se lleva a cabo automáticamente como parte del protocolo FISH en el sistema BOND, por lo que se tiene que realizar manualmente usando la concentración preferida de DAPI counterstain / antifade.

Muestras

Las sondas Kreatech FISH probes se han analizado con tejidos FFPE con un grosor de ~ 5 μm . Para obtener resultados óptimos, los bloques y los portaobjetos cortados de tejidos se deben almacenar de acuerdo con las condiciones recomendadas de almacenamiento y manipulación. Consulte el sitio web de Leica.

El termoendurecimiento se puede realizar en el sistema BOND con el *Bake and Dewax protocol o bien por separado en un horno o una incubadora. La temperatura y el tiempo recomendados para el termoendurecimiento es de hasta 16 horas a 56 °C o de 60-120 minutos a 80 °C.

Instrucciones de uso: dilución y mezclado

Las sondas Kreatech FISH probes se suministran a una concentración 10 x y se deben combinar y diluir para obtener una concentración final 1 x usando BOND Hybridization solution (AR9037).

Reactivo	Volumen usado (recomendado)
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml
N.º de pruebas	Hasta 40 pruebas

Tras la dilución de la sonda, la mezcla se debe transferir a un contenedor BOND adecuado (contenedor de titulación, contenedor abierto de 7 ml o contenedor abierto de 30 ml, dependiendo de los volúmenes preparados) y registrar como "DNA probe" en el sistema BOND. Cuando prepare diluciones para la valoración, asegúrese de que obtiene cantidad suficiente para el volumen muerto del BOND Open Container adecuado (consulte los valores de la documentación del usuario del sistema BOND). El número exacto de pruebas de un vial depende del volumen muerto del contenedor usado y la calibración del sistema BOND.

Consulte en la sección "Solución de problemas" el uso de concentraciones finales diferentes a 1 x.

Consulte la sección "Gestión de reactivos" de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener más información sobre el registro de reactivos nuevos en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Instrucciones de uso: pretratamiento y protocolos

Las sondas Kreatech FISH probes se han validado usando el BOND FISH kit, reactivos complementarios BOND y los protocolos predeterminados de pretratamiento y tinción BOND mostrados en la tabla 2. El protocolo final puede variar en función del tejido empleado por el usuario. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Tabla 2: protocolos para procesar las sondas Kreatech FISH probes

Parte del protocolo BOND	Nombre del protocolo	Tipo de protocolo
Staining – ISH Detection	*FISH Protocol D	Lavado tras la hibridación
Prestaining – Preparation	*Dewax	Eliminación de la parafina
Prestaining – Heat Pretreatment	HIER 25 min with ER2 (100) ⁽¹⁾	Pretratamiento térmico, Recuperación del epítipo
Prestaining – Enzyme Pretreatment	Enzyme 5 for 25 min ⁽²⁾	Digestión enzimática
Prestaining – ISH denaturation	*D10	Desnaturalización durante 10 minutos.
Prestaining – ISH detection	*ISH Hybridization (12Hr)	Hibridación durante 12

- (1) La (1) No se trata de un protocolo predefinido. Para crear el protocolo HIER de 25 minutos, consulte la sección “Protocolos” de la documentación del usuario del sistema BOND.
- (2) La enzima 5 se deriva del Enzyme Concentrate 1 disponible en el BOND Enzyme Pretreatment Kit (AR9551). Consulte información más detallada en la sección “Solución de problemas”.

Patrones de las señales

La sonda ROS1 (6q22) Break – XL for BOND puede utilizarse para detectar traslocaciones asociadas al gen ROS1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés) usando los protocolos mostrados en la tabla 2.

La sonda ROS1 (6q22) Break – XL for BOND se ha diseñado como ensayo bicromático para detectar traslocaciones de la región del gen ROS1 en 6q22. El patrón normal de las señales presenta dos señales rojas/verdes de fusión (2F), mientras que una traslocación asociada al gen ROS1 causa una señal de fusión para el cromosoma 6 normal y una señal roja y una señal verde para la traslocación (1F1R1G). La eliminación de la región distal del gen ROS1 tiene como consecuencia la ausencia de una señal roja y, por lo tanto, aparece una señal de fusión normal y una señal verde (1F1G). Las eliminaciones detectables incluyen la eliminación de 240 kB que fusiona el gen ROS1 con el gen GOPC.

Se recomienda realizar pruebas de seguimiento si se observan patrones atípicos.

	Patrón normal de las señales	Traslocación asociada al gen ROS1 en 6q22	Pérdida de la región de la sonda distal (fusión de ROS1 y GOPC).
Patrón esperado	2F	1F1R1G	1F1G

Exención de responsabilidad: El rendimiento de la sonda ROS1 (6q22) Break – XL for BOND se ha establecido usando los procedimientos descritos en este folleto. Si se modifican estos procedimientos, se

puede alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Almacenamiento y estabilidad

Proteja las sondas de la luz directa intensa.

Almacénese a una temperatura de 2–8 °C. El producto sin abrir se mantiene estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Vuelva a conservar a una temperatura de 2–8 °C el reactivo no diluido inmediatamente tras el uso. El reactivo de la sonda diluido/mezclado almacenado en un contenedor BOND se debe volver a conservar a una temperatura de 2–8 °C tras haberlo procesado.

Tras la dilución de la sonda, las mezclas de sondas se mantienen estables durante 30 días. Una vez transcurrido este periodo, la mezcla diluida puede causar resultados incorrectos. No hay indicios evidentes que indiquen la contaminación y/o la inestabilidad de la sonda. El usuario debe verificar las condiciones de almacenamiento diferentes a las indicadas anteriormente.

ES

Solución de problemas

Pretratamiento (sobredigestión): en las instrucciones de uso del BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551) se recomienda que se registre una dilución de 1 gota de Enzyme Concentrate 1 en 7 ml de Diluent como *Enzyme 1 en el software BOND.

Esta *Enzyme 1 puede ser demasiado potente para determinadas muestras cuando se usa en combinación con Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) y tiene como consecuencia un tejido digerido en exceso. Se recomienda realizar una dilución secundaria de *Enzyme 1 (una dilución de hasta 1:300) y un registro independiente del reactivo en el sistema BOND como *Enzyme 5 para evitar confusiones. Como alternativa, se puede usar una dilución directa de hasta 1:3000 del Enzyme concentrate 1 en lugar de la dilución sucesiva de *Enzyme 1.


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.F. 18941
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Dilución de la sonda e intensidad de la señal: se recomienda una concentración final de la sonda 1 x, sin embargo, el equilibrio adecuado de la sonda depende de factores como la edad y la fijación del tejido, el protocolo de pretratamiento y las preferencias personales. Las concentraciones óptimas y las relaciones de la sonda pueden variar, y el usuario final las debe determinar de forma práctica.

Reactivo	Volumen usado (recomendado)	Ejemplo: reducir la potencia de la señal verde	
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml	Roja a 1 x:	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml	Verde a 0,5 x:	0,5 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml		8,5 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml		10 ml
Número de pruebas	hasta 40 pruebas		hasta 40 pruebas

Póngase en contacto con su distribuidor local o el Servicio de atención al cliente de la oficina regional de Leica Biosystems para comunicar cualquier tinción anormal.

Limitaciones específicas del producto

Los usuarios que se desvían de los procedimientos de prueba recomendados tienen que responsabilizarse de la interpretación de los resultados de los pacientes en estas circunstancias. Los tiempos de los protocolos pueden variar debido a las variaciones de los tipos de tejido, fijación y procesamiento. Además, es posible que la concentración y el tiempo de incubación de las enzimas BOND

tengan que optimizarse en función del tipo de tejido y las condiciones de procesamiento y fijación.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la hibridación *in situ* con los reactivos BOND en la documentación del usuario del sistema BOND.

Advertencias y precauciones

- Este producto está diseñado exclusivamente para su uso diagnóstico *in vitro*.
- Exclusivamente para uso en laboratorio y por profesional cualificado.
- Las sondas Kreatech FISH probes están diseñadas para su uso en sistemas BOND.
- No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Lleve prendas, guantes, gafas y protección para la cara adecuados.
- Las sondas Kreatech FISH probes contienen formamida y, por lo tanto, se deben registrar en el software BOND como residuos peligrosos.
- La formamida puede tener efectos adversos en la reproducción humana. Evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel no protegida. Si se produce contacto con la piel, lávese con agua abundante durante al menos 15 minutos.



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

PELIGRO



FORMAMIDE

Indicación de peligro

H360D Puede dañar al feto.

Precauciones

P201 Pedir instrucciones especiales para su uso.

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

P308+P313 en caso de exposición manifiesta o presunta:
consultar con un médico.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Desechar el contenido/recipiente en un vertedero autorizado de productos químicos o en el caso de contenido orgánico mediante incineración a alta temperatura.

- Consulte información más detallada en la hoja de datos de seguridad. Para obtener una copia de la hoja de datos de seguridad, póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems. Las hojas de datos de seguridad están disponibles en el sitio web de Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a estas, así como el volumen de sonda sobrante, se deben manipular como si fueran capaces de transmitir infecciones y desechar de acuerdo con las precauciones adecuadas.
- No pipetee nunca con la boca los reactivos y evite que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante. Consulte con un médico.


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

- Limpie inmediatamente las salpicaduras usando materiales desechables adecuados.
- Todos los materiales se deben eliminar de acuerdo a las normas locales.
- Los pasos de recuperación o los tiempos o las temperaturas de incubación diferentes a los indicados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *in situ* Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.1 - 13.
4. FISH on BOND User Guide (Guía del usuario para FISH en el sistema BOND).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Kreatech™ FISH probes

MET (7q31) / SE 7 (D7Z1) – XL for BOND

N.º de catálogo: KBI-XL003

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*

La sonda MET (7q31) / SE 7 (D7Z1) – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH MET (7q31) / SE 7 (D7Z1) – XL for BOND detecta amplificaciones genómicas asociadas al gen MET en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés).

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las sondas Kreatech FISH probes se utilizan para realizar un procedimiento de tinción mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) en tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina. Tras un pretratamiento adecuado, la hibridación de las sondas Kreatech FISH probes y el lavado astringente tras la hibridación usando el BOND FISH kit, los cortes de tejidos se deben deshidratar y montar con DAPI manualmente. Los resultados se

interpretan mediante microscopía de fluorescencia usando los filtros recomendados con las longitudes de onda adecuadas.

Reactivos proporcionados

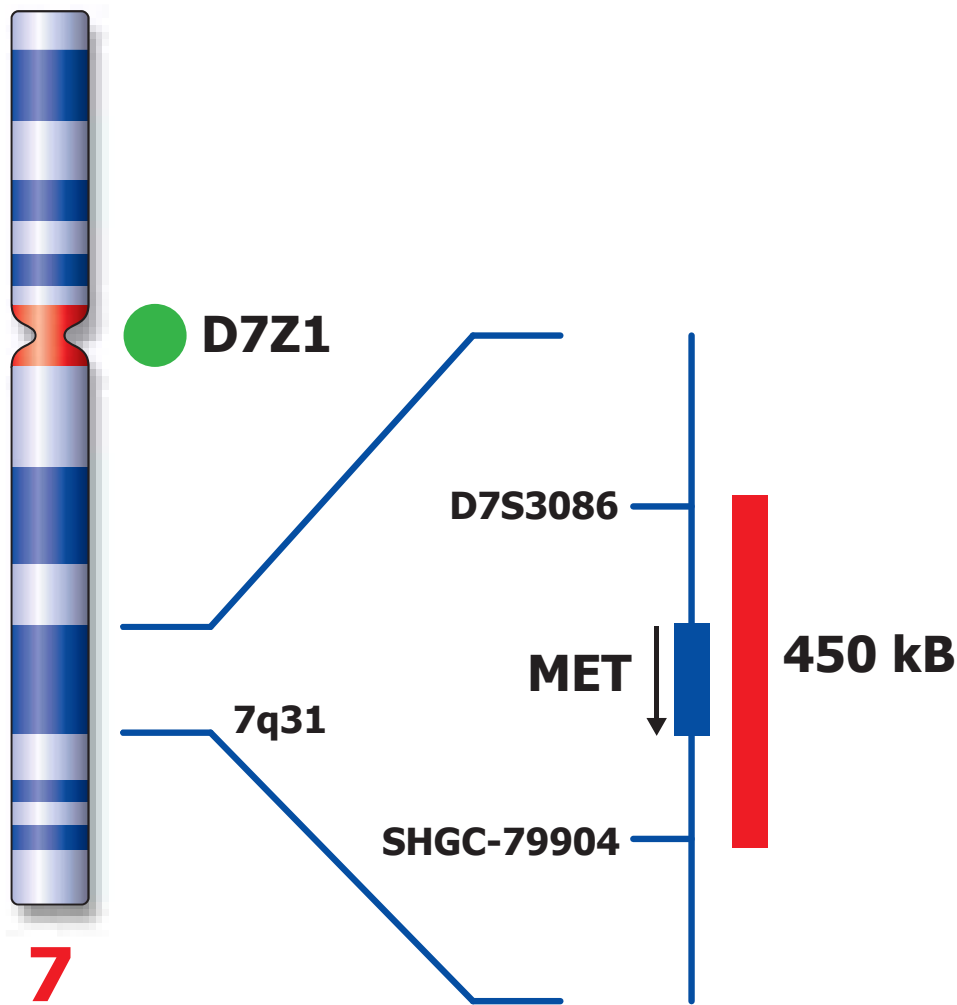
Descripción del producto	N.º de producto	Volumen	Composición
MET (7q31) – XL	pKBI-XL003R	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN Platinum <i>Bright</i> [™] 550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.
SE 7 (D7Z1) – XL	pKBI-XL003G	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN Platinum <i>Bright</i> [™] 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

La sonda MET (7q31) – XL se ha optimizado para detectar números de copias de la región del gen MET en 7q31.

La sonda SE 7 (D7Z1) – XL se ha optimizado para detectar números de copias de la región del centrómero del cromosoma 7.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar la amplificación del gen MET en 7q31, como control se emplea la sonda del centrómero.

Tabla 1: mapa cromosómico en el que se muestra el tamaño de las sondas en kilopares de bases (kB), la banda cromosómica y la posición genómica definida por los marcadores STS¹. La flecha situada junto al gen indica la dirección de transcripción del gen. En verde, la sonda SE 7 (D7Z1) – XL. En rojo, la sonda MET (7q31) – XL. Consulte el sitio web de Leica para obtener más información sobre los mapas cromosómicos.



ES

1) Los mapas y las ubicaciones se basan en UCSC genome browser, build GRCh37/hg19, Feb.2009.

Material necesario que no se suministra

Consulte la sección “Uso de los reactivos BOND” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación *in situ* usando el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Además de los reactivos BOND genéricos, los reactivos siguientes son necesarios específicamente para el análisis del material del paciente adecuado con sondas Kreatech FISH probes en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

- BOND FISH kit (DS9636)

Las sondas Kreatech FISH probes se procesan en un sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III) en combinación con el BOND FISH kit (DS9636). El BOND FISH kit, en combinación con el *FISH Protocol D, instalado previamente en el sistema BOND con BDZ v62 o superior, es necesario para el procesamiento de FISH en el sistema BOND. Este protocolo se ha diseñado para el lavado tras la hibridación, con el fin de reducir la hibridación no específica de las sondas de ácido nucleico. El BOND FISH kit contiene el tampón de lavado tras la hibridación; un kit es suficiente para realizar 60 pruebas.

- BOND Hybridization solution (AR9037)

Las sondas se deben diluir a la concentración preferida usando la BOND Hybridization solution.

- BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551)

Es preciso realizar la digestión enzimática en combinación con un pretratamiento térmico para obtener resultados óptimos con FISH.

- DAPI (p. ej., LK-095A o LK-096A)

La contratinción DAPI no se lleva a cabo automáticamente como parte del protocolo FISH en el sistema BOND, por lo que se tiene que realizar manualmente usando la concentración preferida de DAPI counterstain / antifade.

Muestras

Las sondas Kreatech FISH probes se han analizado con tejidos FFPE con un grosor de ~ 5 μm . Para obtener resultados óptimos, los bloques y los portaobjetos cortados de tejidos se deben almacenar de acuerdo con las condiciones recomendadas de almacenamiento y manipulación. Consulte el sitio web de Leica.

El termoendurecimiento se puede realizar en el sistema BOND con el *Bake and Dewax protocol o bien por separado en un horno o una incubadora. La temperatura y el tiempo recomendados para el termoendurecimiento es de hasta 16 horas a 56 °C o de 60 - 120 minutos a 80 °C.

Instrucciones de uso: dilución y mezclado

Las sondas Kreatech FISH probes se suministran a una concentración 10 x y se deben combinar y diluir para obtener una concentración final 1 x usando BOND Hybridization solution (AR9037).

Reactivo	Volumen usado (recomendado)
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml
N.º de pruebas	Hasta 40 pruebas

Tras la dilución de la sonda, la mezcla se debe transferir a un contenedor BOND adecuado (contenedor de titulación, contenedor abierto de 7 ml o contenedor abierto de 30 ml, dependiendo de los volúmenes preparados) y registrar como "DNA probe" en el sistema BOND. Cuando prepare diluciones para la valoración, asegúrese de que obtiene cantidad suficiente para el volumen muerto del BOND Open Container adecuado (consulte los valores de la documentación del usuario del sistema BOND). El número exacto de pruebas de un vial depende del volumen muerto del contenedor usado y la calibración del sistema BOND.

Consulte en la sección "Solución de problemas" el uso de concentraciones finales diferentes a 1 x.

Consulte la sección "Gestión de reactivos" de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener más información sobre el registro de reactivos nuevos en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Instrucciones de uso: pretratamiento y protocolos

Las sondas Kreatech FISH probes se han validado usando el BOND FISH kit, reactivos complementarios BOND y los protocolos predeterminados de pretratamiento y tinción BOND mostrados en la tabla 2. El protocolo final puede variar en función del tejido empleado por el usuario. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Tabla 2: protocolos para procesar las sondas Kreatech FISH probes

Parte del protocolo BOND	Nombre del protocolo	Tipo de protocolo
Staining – ISH Detection	*FISH Protocol D	Lavado tras la hibridación
Prestaining – Preparation	*Dewax	Eliminación de la parafina
Prestaining – Heat Pretreatment	HIER 25 min with ER2 (100) ⁽¹⁾	Pretratamiento térmico, Recuperación del epítipo
Prestaining – Enzyme Pretreatment	Enzyme 5 for 25 min ⁽²⁾	Digestión enzimática
Prestaining – ISH denaturation	*D10	Desnaturalización durante 10 minutos.
Prestaining – ISH detection	*ISH Hybridization (12Hr)	Hibridación durante 12

- (1) La (1) No se trata de un protocolo predefinido. Para crear el protocolo HIER de 25 minutos, consulte la sección “Protocolos” de la documentación del usuario del sistema BOND.
- (2) La enzima 5 se deriva del Enzyme Concentrate 1 disponible en el BOND Enzyme Pretreatment Kit (AR9551). Consulte información más detallada en la sección “Solución de problemas”.

Patrones de las señales

MET (7q31) / SE 7 (D7Z1) – XL for BOND puede utilizarse para detectar amplificaciones asociadas al gen MET en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés) usando los protocolos mostrados en la tabla 2.

La sonda MET (7q31) / SE 7 (D7Z1) – XL for BOND se ha diseñado como ensayo bicromático para detectar amplificaciones de la región del gen MET en 7q31. El patrón normal de las señales presenta dos señales rojas y dos señales verdes (2R2G), mientras que una amplificación asociada al gen MET causa varias señales rojas y dos señales verdes.

Se recomienda realizar pruebas de seguimiento si se observan patrones atípicos.

	Patrón normal de las señales	Amplificación asociada al gen MET en 7q31
Patrón esperado	2R2G	3+R2G

Exención de responsabilidad: El rendimiento de la sonda MET (7q31) / SE 7 (D7Z1) – XL for BOND se ha establecido usando los procedimientos descritos en este folleto. Si se modifican estos procedimientos, se puede alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Almacenamiento y estabilidad

Proteja las sondas de la luz directa intensa.

Almacénese a una temperatura de 2–8 °C. El producto sin abrir se mantiene estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Vuelva a conservar a una temperatura de 2–8 °C el reactivo no diluido inmediatamente tras el uso. El

reactivo de la sonda diluido/mezclado almacenado en un contenedor BOND se debe volver a conservar a una temperatura de 2–8 °C tras haberlo procesado.

Tras la dilución de la sonda, las mezclas de sondas se mantienen estables durante 30 días. Una vez transcurrido este periodo, la mezcla diluida puede causar resultados incorrectos. No hay indicios evidentes que indiquen la contaminación y/o la inestabilidad de la sonda. El usuario debe verificar las condiciones de almacenamiento diferentes a las indicadas anteriormente.

Solución de problemas

Pretratamiento (sobredigestión): en las instrucciones de uso del BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551) se recomienda que se registre una dilución de 1 gota de Enzyme Concentrate 1 en 7 ml de Diluent como *Enzyme 1 en el software BOND.

Esta *Enzyme 1 puede ser demasiado potente para determinadas muestras cuando se usa en combinación con Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) y tiene como consecuencia un tejido digerido en exceso. Se recomienda realizar una dilución secundaria de *Enzyme 1 (una dilución de hasta 1:300) y un registro independiente del reactivo en el sistema BOND como *Enzyme 5 para evitar confusiones. Como alternativa, se puede usar una dilución directa de hasta 1:3000 del Enzyme concentrate 1 en lugar de la dilución sucesiva de *Enzyme 1.

Dilución de la sonda e intensidad de la señal: se recomienda una concentración final de la sonda 1 x, sin embargo, el equilibrio adecuado de la sonda depende de factores como la edad y la fijación del tejido, el protocolo de pretratamiento y las preferencias personales. Las concentraciones óptimas y las relaciones de la sonda pueden variar, y el usuario final las debe determinar de forma práctica.

Reactivo	Volumen usado (recomendado)	Ejemplo: reducir la potencia de la señal verde	
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml	Roja a 1 x:	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml	Verde a 0,5 x:	0,5 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml		8,5 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml		10 ml
Número de pruebas	hasta 40 pruebas		hasta 40 pruebas

Póngase en contacto con su distribuidor local o el Servicio de atención al cliente de la oficina regional de Leica Biosystems para comunicar cualquier tinción anormal.

Limitaciones específicas del producto

Los usuarios que se desvían de los procedimientos de prueba recomendados tienen que responsabilizarse de la interpretación de los resultados de los pacientes en estas circunstancias. Los tiempos de los protocolos pueden variar debido a las variaciones de los tipos de tejido, fijación y procesamiento. Además, es posible que la concentración y el tiempo de incubación de las enzimas BOND tengan que optimizarse en función del tipo de tejido y las condiciones de procesamiento y fijación.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la hibridación *in situ* con los reactivos BOND en la documentación del usuario del sistema BOND.

Advertencias y precauciones

- Este producto está diseñado exclusivamente para su uso diagnóstico *in vitro*.
- Exclusivamente para uso en laboratorio y por profesional cualificado.
- Las sondas Kreatech FISH probes están diseñadas para su uso en sistemas BOND.
- No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Lleve prendas, guantes, gafas y protección para la cara adecuados.
- Las sondas Kreatech FISH probes contienen formamida y, por lo tanto, se deben registrar en el software BOND como residuos peligrosos.
- La formamida puede tener efectos adversos en la reproducción humana. Evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel no protegida. Si se produce contacto con la piel, lávese con agua abundante durante al menos 15 minutos.

ES

PELIGRO



FORMAMIDE

Indicación de peligro

H360D Puede dañar al feto.

Precauciones

P201 Pedir instrucciones especiales para su uso

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

P308+P313 en caso de exposición manifiesta o presunta:
consultar con un médico.

P405 Guardar bajo llave.


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

P501 Desechar el contenido/recipiente en un vertedero autorizado de productos químicos o en el caso de contenido orgánico mediante incineración a alta temperatura.

- Consulte información más detallada en la hoja de datos de seguridad. Para obtener una copia de la hoja de datos de seguridad, póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems. Las hojas de datos de seguridad están disponibles en el sitio web de Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a estas, así como el volumen de sonda sobrante, se deben manipular como si fueran capaces de transmitir infecciones y desechar de acuerdo con las precauciones adecuadas.
- No pipetee nunca con la boca los reactivos y evite que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante. Consulte con un médico.
- Limpie inmediatamente las salpicaduras usando materiales desechables adecuados.
- Todos los materiales se deben eliminar de acuerdo a las normas locales.
- Los pasos de recuperación o los tiempos o las temperaturas de incubación diferentes a los indicados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.

3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *in situ* Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.1 - 13.
4. FISH on BOND User Guide (Guía del usuario para FISH en el sistema BOND).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Kreatech™ FISH probes

FGFR1 (8p11) / SE 8 (D8Z1) – XL for BOND

N.º de catálogo: KBI-XL004

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*

La sonda FGFR1 (8p11) / SE 8 (D8Z1) – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH FGFR1 (8p11) / SE 8 (D8Z1) – XL for BOND detecta amplificaciones genómicas asociadas al gen FGFR1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés).

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las sondas Kreatech FISH probes se utilizan para realizar un procedimiento de tinción mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) en tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina. Tras un pretratamiento adecuado, la hibridación de las sondas Kreatech FISH probes y el lavado astringente tras la hibridación usando el BOND FISH kit, los cortes de tejidos se deben deshidratar y montar con DAPI manualmente. Los resultados se

interpretan mediante microscopía de fluorescencia usando los filtros recomendados con las longitudes de onda adecuadas.

Reactivos proporcionados

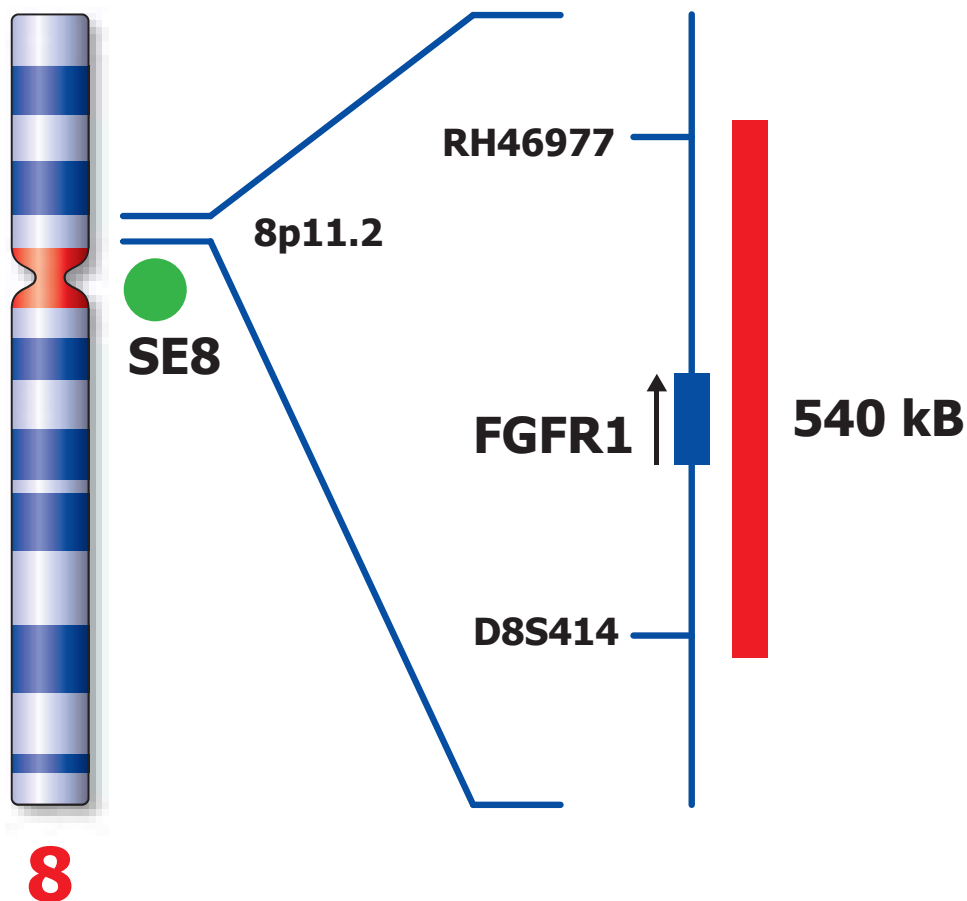
Descripción del producto	N.º de producto	Volumen	Composición
FGFR1 (8p11) – XL	pKBI-XL004R	1 ml, concentración de 10 x	Sondas de ADN Platinum <i>Bright</i> TM 550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.
SE8 (D8Z1) – XL	pKBI-XL004G	1 ml, concentración de 10 x	Sondas de ADN Platinum <i>Bright</i> TM 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

La sonda FGFR1 (8p11) – XL se ha optimizado para detectar números de copias de la región del gen FGFR1 en 8p11.

La sonda SE 8 (D8Z1) – XL se ha optimizado para detectar números de copias de la región del centrómero del cromosoma 8.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar la amplificación del gen FGFR1 en 8p11; como se emplea la sonda del centrómero.

Tabla 1: mapa cromosómico en el que se muestra el tamaño de las sondas en kilopares de bases (kB), la banda cromosómica y la posición genómica definida por los marcadores STS¹. La flecha situada junto al gen indica la dirección de transcripción del gen. En verde, la sonda SE 8 (D8Z1) – XL. En rojo, la sonda FGFR1 (8p11) – XL. Consulte el sitio web de Leica para obtener más información sobre los mapas cromosómicos.



ES

1) Los mapas y las ubicaciones se basan en UCSC genome browser, build GRCh37/hg19, Feb.2009.

Material necesario que no se suministra

Consulte la sección “Uso de los reactivos BOND” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación *in situ* usando el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Además de los reactivos BOND genéricos, los reactivos siguientes son necesarios específicamente para el análisis del material del paciente adecuado con sondas Kreatech FISH probes en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

- BOND FISH kit (DS9636)

Las sondas Kreatech FISH probes se procesan en un sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III) en combinación con el BOND FISH kit (DS9636). El BOND FISH kit, en combinación con el *FISH Protocol D, instalado previamente en el sistema BOND con BDZ v62 o superior, es necesario para el procesamiento de FISH en el sistema BOND. Este protocolo se ha diseñado para el lavado tras la hibridación, con el fin de reducir la hibridación no específica de las sondas de ácido nucleico. El BOND FISH kit contiene el tampón de lavado tras la hibridación; un kit es suficiente para realizar 60 pruebas.

- BOND Hybridization solution (AR9037)

Las sondas se deben diluir a la concentración preferida usando la BOND Hybridization solution.

- BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551)

Es preciso realizar la digestión enzimática en combinación con un pretratamiento térmico para obtener resultados óptimos con FISH.

- DAPI (p. ej., LK-095A o LK-096A)

La contratinción DAPI no se lleva a cabo automáticamente como parte del protocolo FISH en el sistema BOND, por lo que se tiene que realizar manualmente usando la concentración preferida de DAPI counterstain / antifade.

Muestras

Las sondas Kreatech FISH probes se han analizado con tejidos FFPE con un grosor de ~ 5 μm . Para obtener resultados óptimos, los bloques y los portaobjetos cortados de tejidos se deben almacenar de acuerdo con las condiciones recomendadas de almacenamiento y manipulación. Consulte el sitio web de Leica.

El termoendurecimiento se puede realizar en el sistema BOND con el *Bake and Dewax protocol o bien por separado en un horno o una incubadora. La temperatura y el tiempo recomendados para el termoendurecimiento es de hasta 16 horas a 56 °C o de 60-120 minutos a 80 °C.

Instrucciones de uso: dilución y mezclado

Las sondas Kreatech FISH probes se suministran a una concentración 10 x y se deben combinar y diluir para obtener una concentración final 1 x usando BOND Hybridization solution (AR9037).

Reactivo	Volumen usado (recomendado)
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml
N.º de pruebas	Hasta 40 pruebas

Tras la dilución de la sonda, la mezcla se debe transferir a un contenedor BOND adecuado (contenedor de titulación, contenedor abierto de 7 ml o contenedor abierto de 30 ml, dependiendo de los volúmenes preparados) y registrar como "DNA probe" en el sistema BOND. Cuando prepare diluciones para la valoración, asegúrese de que obtiene cantidad suficiente para el volumen muerto del BOND Open Container adecuado (consulte los valores de la documentación del usuario del sistema BOND). El número exacto de pruebas de un vial depende del volumen muerto del contenedor usado y la calibración del sistema BOND.

Consulte en la sección "Solución de problemas" el uso de concentraciones finales diferentes a 1 x.

Consulte la sección "Gestión de reactivos" de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener más información sobre el registro de reactivos nuevos en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Instrucciones de uso: pretratamiento y protocolos

Las sondas Kreatech FISH probes se han validado usando el BOND FISH kit, reactivos complementarios BOND y los protocolos predeterminados de pretratamiento y tinción BOND mostrados en la tabla 2. El protocolo final puede variar en función del tejido empleado por el usuario. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Tabla 2: protocolos para procesar las sondas Kreatech FISH probes

Parte del protocolo BOND	Nombre del protocolo	Tipo de protocolo
Staining – ISH Detection	*FISH Protocol D	Lavado tras la hibridación
Prestaining – Preparation	*Dewax	Eliminación de la parafina
Prestaining – Heat Pretreatment	HIER 25 min with ER2 (100) ⁽¹⁾	Pretratamiento térmico, Recuperación del epítipo
Prestaining – Enzyme Pretreatment	Enzyme 5 for 25 min ⁽²⁾	Digestión enzimática
Prestaining – ISH denaturation	*D10	Desnaturalización durante 10 minutos.
Prestaining – ISH detection	*ISH Hybridization (12Hr)	Hibridación durante 12

- (1) La (1) No se trata de un protocolo predefinido. Para crear el protocolo HIER de 25 minutos, consulte la sección “Protocolos” de la documentación del usuario del sistema BOND.
- (2) La enzima 5 se deriva del Enzyme Concentrate 1 disponible en el BOND Enzyme Pretreatment Kit (AR9551). Consulte información más detallada en la sección “Solución de problemas”.

Patrones de las señales

La sonda FGFR1 (8p11) / SE 8 (D8Z1) – XL for BOND puede utilizarse para detectar amplificaciones asociadas al gen FGFR1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés) usando los protocolos mostrados en la tabla 2.

La sonda FGFR1 (8p11) / SE 8 (D8Z1) – XL for BOND se ha diseñado como ensayo bicromático para detectar amplificaciones de la región del gen FGFR1 en 8p11. El patrón normal de las señales presenta dos señales rojas y dos señales verdes (2R2G), mientras que una amplificación asociada al gen FGFR1 causa varias señales rojas y dos señales verdes.

Se recomienda realizar pruebas de seguimiento si se observan patrones atípicos.

	Patrón normal de las señales	Amplificación asociada al gen FGFR1 en 8p11
Patrón esperado	2R2G	3+R2G

Exención de responsabilidad: El rendimiento de la sonda FGFR1 (8p11) / SE 8 (D8Z1) – XL for BOND se ha establecido usando los procedimientos descritos en este folleto. Si se modifican estos procedimientos, se puede alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Almacenamiento y estabilidad

Proteja las sondas de la luz directa intensa.

Almacénese a una temperatura de 2 - 8 °C. El producto sin abrir se mantiene estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Vuelva a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C el reactivo no diluido inmediatamente tras el uso.


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

El reactivo de la sonda diluido/mezclado almacenado en un contenedor BOND se debe volver a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C tras haberlo procesado.

Tras la dilución de la sonda, las mezclas de sondas se mantienen estables durante 30 días. Una vez transcurrido este periodo, la mezcla diluida puede causar resultados incorrectos. No hay indicios evidentes que indiquen la contaminación y/o la inestabilidad de la sonda. El usuario debe verificar las condiciones de almacenamiento diferentes a las indicadas anteriormente.

Solución de problemas

Pretratamiento (sobredigestión): en las instrucciones de uso del BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551) se recomienda que se registre una dilución de 1 gota de Enzyme Concentrate 1 en 7 ml de Diluent como *Enzyme 1 en el software BOND.

Esta *Enzyme 1 puede ser demasiado potente para determinadas muestras cuando se usa en combinación con Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) y tiene como consecuencia un tejido digerido en exceso. Se recomienda realizar una dilución secundaria de *Enzyme 1 (una dilución de hasta 1:300) y un registro independiente del reactivo en el sistema BOND como *Enzyme 5 para evitar confusiones. Como alternativa, se puede usar una dilución directa de hasta 1:3000 del Enzyme concentrate 1 en lugar de la dilución sucesiva de *Enzyme 1.

Dilución de la sonda e intensidad de la señal: se recomienda una concentración final de la sonda 1 x, sin embargo, el equilibrio adecuado de la sonda depende de factores como la edad y la fijación del tejido, el protocolo de pretratamiento y las preferencias personales. Las concentraciones óptimas y las relaciones de la sonda pueden variar, y el usuario final las debe determinar de forma práctica.

Reactivo	Volumen usado (recomendado)	Ejemplo: reducir la potencia de la señal verde	
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml	Roja a 1 x:	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml	Verde a 0,5 x:	0,5 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml		8,5 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml		10 ml
Número de pruebas	hasta 40 pruebas		hasta 40 pruebas

Póngase en contacto con su distribuidor local o el Servicio de atención al cliente de la oficina regional de Leica Biosystems para comunicar cualquier tinción anormal.

Limitaciones específicas del producto

Los usuarios que se desvían de los procedimientos de prueba recomendados tienen que responsabilizarse de la interpretación de los resultados de los pacientes en estas circunstancias. Los tiempos de los protocolos pueden variar debido a las variaciones de los tipos de tejido, fijación y procesamiento. Además, es posible que la concentración y el tiempo de incubación de las enzimas BOND tengan que optimizarse en función del tipo de tejido y las condiciones de procesamiento y fijación.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la hibridación *in situ* con los reactivos BOND en la documentación del usuario del sistema BOND.

Advertencias y precauciones

- Este producto está diseñado exclusivamente para su uso diagnóstico *in vitro*.
- Exclusivamente para uso en laboratorio y por profesional cualificado
- Las sondas Kreatech FISH probes están diseñadas para su uso en sistemas BOND.
- No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Lleve prendas, guantes, gafas y protección para la cara adecuados.
- Las sondas Kreatech FISH probes contienen formamida y, por lo tanto, se deben registrar en el software BOND como residuos peligrosos.
- La formamida puede tener efectos adversos en la reproducción humana. Evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel no protegida. Si se produce contacto con la piel, lávese con agua abundante durante al menos 15 minutos.

ES

PELIGRO



FORMAMIDE

Indicación de peligro

H360D Puede dañar al feto.

Precauciones

P201 Pedir instrucciones especiales para su uso.

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

P308+P313 en caso de exposición manifiesta o presunta:
consultar con un médico.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Desechar el contenido/recipiente en un vertedero autorizado de productos químicos o en el caso de contenido orgánico mediante incineración a alta temperatura.


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.F. 18941
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

- Consulte información más detallada en la hoja de datos de seguridad. Para obtener una copia de la hoja de datos de seguridad, póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems. Las hojas de datos de seguridad están disponibles en el sitio web de Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a estas, así como el volumen de sonda sobrante, se deben manipular como si fueran capaces de transmitir infecciones y desechar de acuerdo con las precauciones adecuadas.
- No pipetee nunca con la boca los reactivos y evite que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante. Consulte con un médico.
- Limpie inmediatamente las salpicaduras usando materiales desechables adecuados.
- Todos los materiales se deben eliminar de acuerdo a las normas locales.
- Los pasos de recuperación o los tiempos o las temperaturas de incubación diferentes a los indicados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *in situ* Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.1 - 13.
4. FISH on BOND User Guide (Guía del usuario para FISH en el sistema BOND).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Kreatech™ FISH probes

RET (10q11) Break – XL for BOND

N.º de catálogo: KBI-XL005

Uso previsto

Para uso diagnóstico in vitro

La sonda RET (10q11) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema

La sonda FISH RET (10q11) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen RET en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés).

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las sondas Kreatech FISH probes se utilizan para realizar un procedimiento de tinción mediante hibridación fluorescente in situ (FISH, por sus siglas en inglés) en tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina. Tras un pretratamiento adecuado, la hibridación de las sondas Kreatech FISH probes y el lavado astringente tras la hibridación usando el BOND FISH kit, los cortes de tejidos se deben deshidratar y montar con DAPI manualmente. Los resultados se

interpretan mediante microscopía de fluorescencia usando los filtros recomendados con las longitudes de onda adecuadas.

Reactivos proporcionados

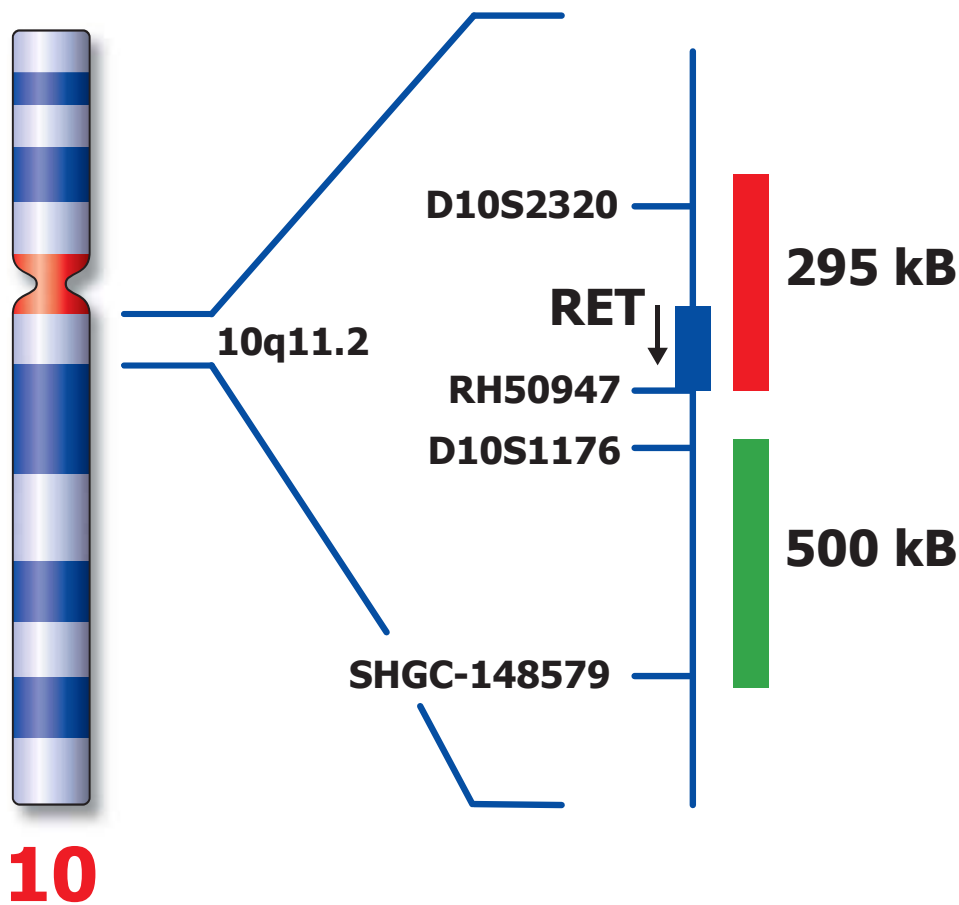
Descripción	N.º de producto	Volumen	Composición
RET (10q11) Distal – XL	pKBI- XL005G	1 ml, con- centración de 10 x	Sondas de ADN PlatinumBright™495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.
RET (10q11) Proximal – XI	pKBI- XL005R	1 ml, con- centración de 10 x	Las Sondas de ADN PlatinumBright™ 550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

La sonda RET (10q11) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen RET.

La sonda RET (10q11) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen RET.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al gen RET en 10q11.

Tabla 1: mapa cromosómico en el que se muestra el tamaño de las sondas en kilopares de bases (kB), la banda cromosómica y la posición genómica definida por los marcadores STS¹. La flecha situada junto al gen indica la dirección de transcripción del gen. En verde, la sonda RET (10q11) Distal – XL. En rojo, la sonda RET (10q11) Proximal – XL. Consulte el sitio web de Leica para obtener más información sobre los mapas cromosómicos.



ES

1) Los mapas y las ubicaciones se basan en UCSC genome browser, build GRCh37/hg19, Feb.2009.

Material necesario que no se suministra

Consulte la sección “Uso de los reactivos BOND” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación in situ usando el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Además de los reactivos BOND genéricos, los reactivos siguientes son necesarios específicamente para el análisis del material del paciente adecuado con sondas Kreatech FISH probes en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

- BOND FISH kit (DS9636)

Las sondas Kreatech FISH probes se procesan en un sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III) en combinación con el BOND FISH kit (DS9636). El BOND FISH kit, en combinación con el *FISH Protocol D, instalado previamente en el sistema BOND con BDZ v62 o superior, es necesario para el procesamiento de FISH en el sistema BOND. Este protocolo se ha diseñado para el lavado tras la hibridación, con el fin de reducir la hibridación no específica de las sondas de ácido nucleico. El BOND FISH kit contiene el tampón de lavado tras la hibridación; un kit es suficiente para realizar 60 pruebas.

- BOND Hybridization solution (AR9037)

Las sondas se deben diluir a la concentración preferida usando la BOND Hybridization solution.

- BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551)

Es preciso realizar la digestión enzimática en combinación con un pretratamiento térmico para obtener resultados óptimos con FISH.

- DAPI (p. ej., LK-095A o LK-096A)

La contratinción DAPI no se lleva a cabo automáticamente como

parte del protocolo FISH en el sistema BOND, por lo que se tiene que realizar manualmente usando la concentración preferida de DAPI counterstain / antifade.

Muestras

Las sondas Kreatech FISH probes se han analizado con tejidos FFPE con un grosor de ~ 5 µm. Para obtener resultados óptimos, los bloques y los portaobjetos cortados de tejidos se deben almacenar de acuerdo con las condiciones recomendadas de almacenamiento y manipulación. Consulte el sitio web de Leica.

El termoendurecimiento se puede realizar en el sistema BOND con el *Bake and Dewax protocol o bien por separado en un horno o una incubadora. La temperatura y el tiempo recomendados para el termoendurecimiento es de hasta 16 horas a 56 °C o de 60-120 minutos a 80 °C.

Instrucciones de uso: dilución y mezclado

Las sondas Kreatech FISH probes se suministran a una concentración 10 x y se deben combinar y diluir para obtener una concentración final 1 x usando BOND Hybridization solution (AR9037).

Reactivo	Volumen usado (recomendado)
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml
N.º de pruebas	Hasta 40 pruebas


 ANDREA DAOU
 DIRECTORA TÉCNICA
 M.P. 18941
 BIO-OPTIC SRL


 LIC. LUCAS M. VILLEGAS
 SOCIO GERENTE

Tras la dilución de la sonda, la mezcla se debe transferir a un contenedor BOND adecuado (contenedor de titulación, contenedor abierto de 7 ml o contenedor abierto de 30 ml, dependiendo de los volúmenes preparados) y registrar como "DNA probe" en el sistema BOND. Cuando prepare diluciones para la valoración, asegúrese de que obtiene cantidad suficiente para el volumen muerto del BOND Open Container adecuado (consulte los valores de la documentación del usuario del sistema BOND). El número exacto de pruebas de un vial depende del volumen muerto del contenedor usado y la calibración del sistema BOND.

Consulte en la sección "Solución de problemas" el uso de concentraciones finales diferentes a 1 x.

Consulte la sección "Gestión de reactivos" de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener más información sobre el registro de reactivos nuevos en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).



ANDREA DADU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Instrucciones de uso: pretratamiento y protocolos

Las sondas Kreatech FISH probes se han validado usando el BOND FISH kit, reactivos complementarios BOND y los protocolos predeterminados de pretratamiento y tinción BOND mostrados en la tabla 2. El protocolo final puede variar en función del tejido empleado por el usuario. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Tabla 2: protocolos para procesar las sondas Kreatech FISH probes

Parte del protocolo BOND	Nombre del protocolo	Tipo de protocolo
Staining – ISH Detection	*FISH Protocol D	Lavado tras la hibridación
Prestaining – Preparation	*Dewax	Eliminación de la parafina
Prestaining – Heat Pretreatment	HIER 25 min with ER2 (100) ⁽¹⁾	Pretratamiento térmico, Recuperación del epítipo
Prestaining – Enzyme Pretreatment	Enzyme 5 for 25 min ⁽²⁾	Digestión enzimática
Prestaining – ISH denaturation	*D10	Desnaturalización durante 10 minutos.
Prestaining – ISH detection	*ISH Hybridization (12Hr)	Hibridación durante 12

- (1) La (1) No se trata de un protocolo predefinido. Para crear el protocolo HIER de 25 minutos, consulte la sección “Protocolos” de la documentación del usuario del sistema BOND.
- (2) La enzima 5 se deriva del Enzyme Concentrate 1 disponible en el BOND Enzyme Pretreatment Kit (AR9551). Consulte información más detallada en la sección “Solución de problemas”.

Patrones de las señales

La sonda RET (10q11) Break – XL for BOND puede utilizarse para detectar traslocaciones asociadas al gen RET en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés) usando los protocolos mostrados en la tabla 2.

La sonda RET (10q11) Break – XL for BOND se ha diseñado como ensayo bicromático para detectar traslocaciones de la región del gen RET en 10q11. El patrón normal de las señales presenta dos señales rojas/verdes de fusión (2F), mientras que una traslocación asociada al gen RET causa una señal de fusión para el cromosoma 10 normal y una señal roja y una señal verde para la traslocación (1F1R1G). Una sola señal de color verde (1F1G) debido a la delección de la región distal cubierta por la sonda roja también está descrita como reordenamiento del gen RET ⁵.

Se recomienda realizar pruebas de seguimiento si se observan patrones atípicos.

	Patrón normal de las señales	Traslocación asociada al gen RET	
Patrón esperado	2F	1F1R1G	1F1G

Consulte las pautas locales o generales para la interpretación de patrones de señal distintos a los mostrados en la tabla.

Exención de responsabilidad: El rendimiento de la sonda RET (10q11) Break – XL for BOND se ha establecido usando los procedimientos descritos en este folleto. Si se modifican estos procedimientos, se puede alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Almacenamiento y estabilidad

Proteja las sondas de la luz directa intensa.

Almacénese a una temperatura de 2 - 8 °C. El producto sin abrir se mantiene estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Vuelva a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C el reactivo no diluido inmediatamente tras el uso.

El reactivo de la sonda diluido/mezclado almacenado en un contenedor BOND se debe volver a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C tras haberlo procesado.

Tras la dilución de la sonda, las mezclas de sondas se mantienen estables durante 30 días. Una vez transcurrido este periodo, la mezcla diluida puede causar resultados incorrectos. No hay indicios evidentes que indiquen la contaminación y/o la inestabilidad de la sonda. El usuario debe verificar las condiciones de almacenamiento diferentes a las indicadas anteriormente.

Solución de problemas

Pretratamiento (sobredigestión): en las instrucciones de uso del BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551) se recomienda que se registre una dilución de 1 gota de Enzyme Concentrate 1 en 7 ml de Diluent como *Enzyme 1 en el software BOND.

Esta *Enzyme 1 puede ser demasiado potente para determinadas muestras cuando se usa en combinación con Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) y tiene como consecuencia un tejido digerido en exceso. Se recomienda realizar una dilución secundaria de *Enzyme 1 (una dilución de hasta 1:300) y un registro independiente del reactivo en el sistema BOND como *Enzyme 5 para evitar confusiones. Como alternativa, se puede usar una dilución directa de hasta 1:3000 del Enzyme concentrate 1 en lugar de la dilución sucesiva de *Enzyme 1.

Dilución de la sonda e intensidad de la señal: se recomienda una concentración final de la sonda 1 x, sin embargo, el equilibrio adecuado

de la sonda depende de factores como la edad y la fijación del tejido, el protocolo de pretratamiento y las preferencias personales. Las concentraciones óptimas y las relaciones de la sonda pueden variar, y el usuario final las debe determinar de forma práctica.

Reactivo	Volumen usado (recomendado)	Ejemplo: reducir la potencia de la señal verde	
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml	Roja a 1 x:	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml	Verde a 0,5 x:	0,5 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml		8,5 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml		10 ml
Número de pruebas	hasta 40 pruebas		hasta 40 pruebas

Póngase en contacto con su distribuidor local o el Servicio de atención al cliente de la oficina regional de Leica Biosystems para comunicar cualquier tinción anormal.

Limitaciones específicas del producto

Los usuarios que se desvían de los procedimientos de prueba recomendados tienen que responsabilizarse de la interpretación de los resultados de los pacientes en estas circunstancias. Los tiempos de los protocolos pueden variar debido a las variaciones de los tipos de tejido, fijación y procesamiento. Además, es posible que la concentración y el tiempo de incubación de las enzimas BOND tengan que optimizarse en función del tipo de tejido y las condiciones de procesamiento y fijación.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la hibridación in situ con los reactivos BOND en la documentación del usuario del sistema BOND.

Advertencias y precauciones

- Este producto está diseñado exclusivamente para su uso diagnóstico in vitro.
- Exclusivamente para uso en laboratorio y por profesional cualificado
- Las sondas Kreatech FISH probes están diseñadas para su uso en sistemas BOND.
- No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Lleve prendas, guantes, gafas y protección para la cara adecuados.
- Las sondas Kreatech FISH probes contienen formamida y, por lo tanto, se deben registrar en el software BOND como residuos peligrosos.
- La formamida puede tener efectos adversos en la reproducción humana. Evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel no protegida. Si se produce contacto con la piel, lávese con agua abundante durante al menos 15 minutos.

ES

PELIGRO**FORMAMIDE**

Indicación de peligro

H360D Puede dañar al feto.

Precauciones

P201 Pedir instrucciones especiales para su uso.

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

P308+P313 en caso de exposición manifiesta o presunta:


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

consultar con un médico.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Desechar el contenido/recipiente en un vertedero autorizado de productos químicos o en el caso de contenido orgánico mediante incineración a alta temperatura.

- Consulte información más detallada en la hoja de datos de seguridad. Para obtener una copia de la hoja de datos de seguridad, póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems. Las hojas de datos de seguridad están disponibles en el sitio web de Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a estas, así como el volumen de sonda sobrante, se deben manipular como si fueran capaces de transmitir infecciones y desechar de acuerdo con las precauciones adecuadas.
- No pipetee nunca con la boca los reactivos y evite que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante. Consulte con un médico.
- Limpie inmediatamente las salpicaduras usando materiales desechables adecuados.
- Todos los materiales se deben eliminar de acuerdo a las normas locales.
- Los pasos de recuperación o los tiempos o las temperaturas de incubación diferentes a los indicados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of in situ hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) in situ Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.1 - 13.
4. FISH on BOND User Guide (Guía del usuario para FISH en el sistema BOND).
5. Lee, S., Lee, B., Hong, M. et al. Comprehensive analysis of RET and ROS1 rearrangement in lung adenocarcinoma. Mod Pathol 28, 468–479 (2015).



ANDREA DADU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Kreatech™ FISH probes

MYC (8q24) Break – XL for BOND

N.º de catálogo: KBI-XL006

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*

La sonda MYC (8q24) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de linfomas. Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH MYC (8q24) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen MYC en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las sondas Kreatech FISH probes se utilizan para realizar un procedimiento de tinción mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) en tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina. Tras un pretratamiento adecuado, la hibridación de las sondas Kreatech FISH probes y el lavado astringente tras la hibridación usando el BOND FISH kit, los cortes de tejidos se deben deshidratar y montar con DAPI manualmente. Los resultados se interpretan mediante microscopía de fluorescencia usando los filtros recomendados con las longitudes de onda adecuadas.

Reactivos proporcionados

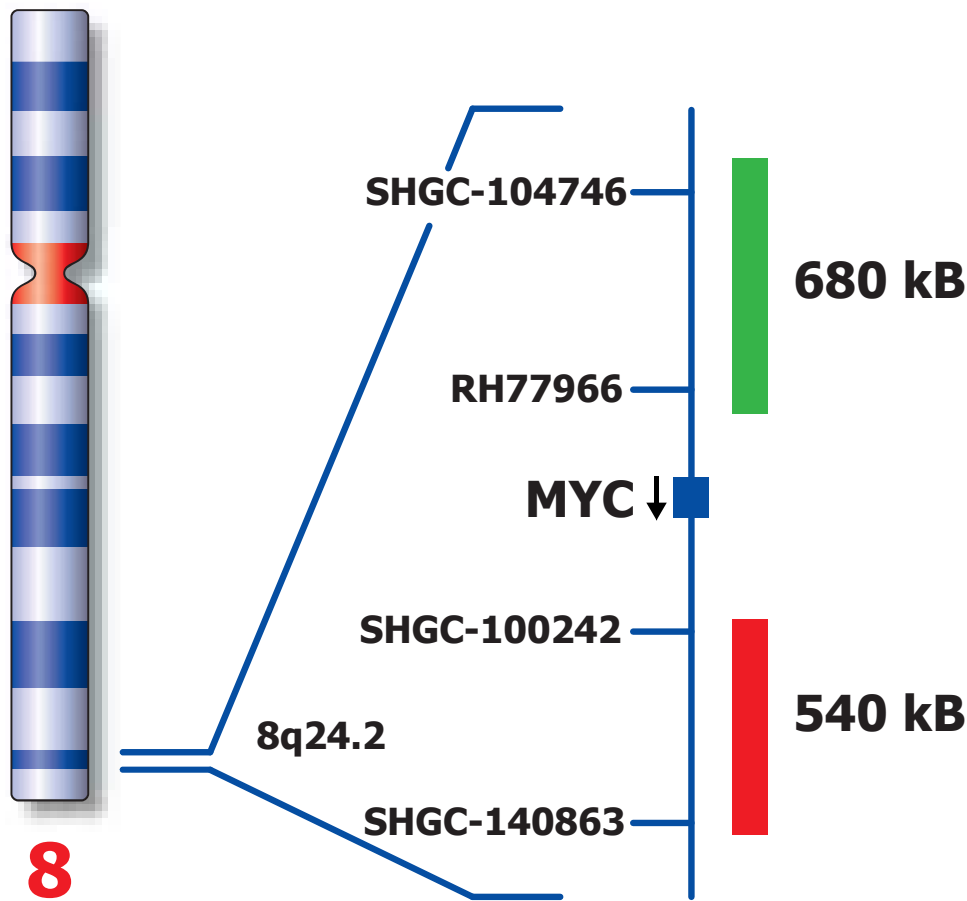
Descripción del producto	N.º de producto	Volumen	Composición
MYC (8q24) Proximal – XL	pKBI-XL006G	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN Platinum <i>Bright</i> ™ 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50%
MYC (8q24) Distal – XL	pKBI-XL006R	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN Platinum <i>Bright</i> ™ 550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

La sonda MYC (8q24) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen MYC.

La sonda MYC (8q24) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen MYC.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al gen MYC en 8q24.

Tabla 1: mapas cromosómicos en los que se muestran el tamaño de las sondas en kilopares de bases (kB), la banda cromosómica y la posición genómica definida por los marcadores STS¹. La flecha situada junto al gen indica la dirección de transcripción del gen. En verde, la sonda MYC (8q24) Proximal – XL. En rojo, la sonda MYC (8q24) Distal – XL. Consulte el sitio web de Leica para obtener más información sobre los mapas cromosómicos.



ES

1) Los mapas y las ubicaciones se basan en UCSC genome browser, build GRCh37/hg19, Feb.2009.

Material necesario que no se suministra

Consulte la sección “Uso de los reactivos BOND” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación *in situ* usando el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Además de los reactivos BOND genéricos, los reactivos siguientes son necesarios específicamente para el análisis del material del paciente adecuado con sondas Kreatech FISH probes en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

- BOND FISH kit (DS9636)

Las sondas Kreatech FISH probes se procesan en un sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III) en combinación con el BOND FISH kit (DS9636). El BOND FISH kit, en combinación con el *FISH Protocol D, instalado previamente en el sistema BOND con BDZ v62 o superior, es necesario para el procesamiento de FISH en el sistema BOND. Este protocolo se ha diseñado para el lavado tras la hibridación, con el fin de reducir la hibridación no específica de las sondas de ácido nucleico. El BOND FISH kit contiene el tampón de lavado tras la hibridación; un kit es suficiente para realizar 60 pruebas.

- BOND Hybridization solution (AR9037)

Las sondas se deben diluir a la concentración preferida usando la BOND Hybridization solution.

- BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551)

Es preciso realizar la digestión enzimática en combinación con un pretratamiento térmico para obtener resultados óptimos con FISH.

- DAPI (p. ej., LK-095A o LK-096A)

La contratinción DAPI no se lleva a cabo automáticamente como parte del protocolo FISH en el sistema BOND, por lo que se tiene que realizar manualmente usando la concentración preferida de DAPI counterstain / antifade.

Muestras

Las sondas Kreatech FISH probes se han analizado con tejidos FFPE con un grosor de ~ 5 μm . Para obtener resultados óptimos, los bloques y los portaobjetos cortados de tejidos se deben almacenar de acuerdo con las condiciones recomendadas de almacenamiento y manipulación. Consulte el sitio web de Leica.

El termoendurecimiento se puede realizar en el sistema BOND con el *Bake and Dewax protocol o bien por separado en un horno o una incubadora. La temperatura y el tiempo recomendados para el termoendurecimiento es de hasta 16 horas a 56 °C o de 60-120 minutos a 80 °C.

Instrucciones de uso: dilución y mezclado

Las sondas Kreatech FISH probes se suministran a una concentración 10 x y se deben combinar y diluir para obtener una concentración final 1 x usando BOND Hybridization solution (AR9037).

Reactivo	Volumen usado (recomendado)
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml
N.º de pruebas	Hasta 40 pruebas

Tras la dilución de la sonda, la mezcla se debe transferir a un contenedor BOND adecuado (contenedor de titulación, contenedor abierto de 7 ml o contenedor abierto de 30 ml, dependiendo de los volúmenes preparados) y registrar como "DNA probe" en el sistema BOND. Cuando prepare diluciones para la valoración, asegúrese de que obtiene cantidad suficiente para el volumen muerto del BOND Open Container adecuado (consulte los valores de la documentación del usuario del sistema BOND). El número exacto de pruebas de un vial depende del volumen muerto del contenedor usado y la calibración del sistema BOND.

Consulte en la sección "Solución de problemas" el uso de concentraciones finales diferentes a 1 x.

Consulte la sección "Gestión de reactivos" de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener más información sobre el registro de reactivos nuevos en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Instrucciones de uso: pretratamiento y protocolos

Las sondas Kreatech FISH probes se han validado usando el BOND FISH kit, reactivos complementarios BOND y los protocolos predeterminados de pretratamiento y tinción BOND mostrados en la tabla 2. El protocolo final puede variar en función del tejido empleado por el usuario. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Tabla 2: protocolos para procesar las sondas Kreatech FISH probes

Parte del protocolo BOND	Nombre del protocolo	Tipo de protocolo
Staining – ISH Detection	*FISH Protocol D	Lavado tras la hibridación
Prestaining – Preparation	*Dewax	Eliminación de la parafina
Prestaining – Heat Pretreatment	HIER 25 min with ER2 (100) ⁽¹⁾	Pretratamiento térmico, Recuperación del epítipo
Prestaining – Enzyme Pretreatment	Enzyme 5 for 20 min ^(1,2)	Digestión enzimática
Prestaining – ISH denaturation	*D10	Desnaturalización durante 10 minutos.
Prestaining – ISH detection	*ISH Hybridization (12Hr)	Hibridación durante 12

- (1) No se trata de un protocolo predefinido. Para crear un protocolo nuevo, consulte la sección “Protocolos” de la documentación del usuario del sistema BOND.
- (2) La enzima 5 se deriva del Enzyme Concentrate 1 disponible en el BOND Enzyme Pretreatment Kit (AR9551). Consulte información más detallada en la sección “Solución de problemas”.

Patrones de las señales

La sonda MYC (8q24) Break – XL for BOND puede utilizarse para detectar traslocaciones asociadas al gen MYC en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas usando los protocolos mostrados en la tabla 2.

La sonda MYC (8q24) Break – XL for BOND se ha diseñado como ensayo bicromático para detectar traslocaciones de la región del gen MYC en 8q24. El patrón normal de las señales presenta dos señales rojas/verdes de fusión (2F), mientras que una traslocación asociada al gen MYC causa una señal de fusión para el cromosoma 8 normal y una señal roja y una señal verde para la traslocación (1F1R1G). Se recomienda realizar pruebas de seguimiento si se observan patrones atípicos.

	Patrón normal de las señales	Traslocación asociada al gen MYC en 8q24.
Patrón esperado	2F	1F1R1G

Exención de responsabilidad: El rendimiento de la sonda MYC (8q24) Break – XL for BOND se ha establecido usando los procedimientos descritos en este folleto. Si se modifican estos procedimientos, se puede alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Almacenamiento y estabilidad

Proteja las sondas de la luz directa intensa.

Almacénese a una temperatura de 2 - 8 °C. El producto sin abrir se mantiene estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Vuelva a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C el reactivo no diluido inmediatamente tras el uso. El reactivo de la sonda diluido/mezclado almacenado en un contenedor

BOND se debe volver a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C tras haberlo procesado.

Tras la dilución de la sonda, las mezclas de sondas se mantienen estables durante 30 días. Una vez transcurrido este periodo, la mezcla diluida puede causar resultados incorrectos. No hay indicios evidentes que indiquen la contaminación y/o la inestabilidad de la sonda. El usuario debe verificar las condiciones de almacenamiento diferentes a las indicadas anteriormente.

Solución de problemas

Pretratamiento (sobredigestión): en las instrucciones de uso del BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551) se recomienda que se registre una dilución de 1 gota de Enzyme Concentrate 1 en 7 ml de Diluent como *Enzyme 1 en el software BOND.

Esta *Enzyme 1 puede ser demasiado potente para determinadas muestras cuando se usa en combinación con Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) y tiene como consecuencia un tejido digerido en exceso. Se recomienda realizar una dilución secundaria de *Enzyme 1 (una dilución de hasta 1:300) y un registro independiente del reactivo en el sistema BOND como *Enzyme 5 para evitar confusiones. Como alternativa, se puede usar una dilución directa de hasta 1:3000 del Enzyme concentrate 1 en lugar de la dilución sucesiva de *Enzyme 1.

Dilución de la sonda e intensidad de la señal: se recomienda una concentración final de la sonda 1 x, sin embargo, el equilibrio adecuado de la sonda depende de factores como la edad y la fijación del tejido, el protocolo de pretratamiento y las preferencias personales. Las concentraciones óptimas y las relaciones de la sonda pueden variar, y el usuario final las debe determinar de forma práctica.

Reactivo	Volumen usado (recomendado)	Ejemplo: reducir la potencia de la señal verde	
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml	Roja a 1 x:	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml	Verde a 0,5 x:	0,5 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml		8,5 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml		10 ml
Número de pruebas	hasta 40 pruebas		hasta 40 pruebas

Póngase en contacto con su distribuidor local o el Servicio de atención al cliente de la oficina regional de Leica Biosystems para comunicar cualquier tinción anormal.

Limitaciones específicas del producto

Los usuarios que se desvían de los procedimientos de prueba recomendados tienen que responsabilizarse de la interpretación de los resultados de los pacientes en estas circunstancias. Los tiempos de los protocolos pueden variar debido a las variaciones de los tipos de tejido, fijación y procesamiento. Además, es posible que la concentración y el tiempo de incubación de las enzimas BOND tengan que optimizarse en función del tipo de tejido y las condiciones de procesamiento y fijación.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la hibridación *in situ* con los reactivos BOND en la documentación del usuario del sistema BOND.

Advertencias y precauciones

- Este producto está diseñado exclusivamente para su uso diagnóstico *in vitro*.
- Exclusivamente para uso en laboratorio y por profesional cualificado.
- Las sondas Kreatech FISH probes están diseñadas para su uso en sistemas BOND.
- No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Lleve prendas, guantes, gafas y protección para la cara adecuados.
- Las sondas Kreatech FISH probes contienen formamida y, por lo tanto, se deben registrar en el software BOND como residuos peligrosos.
- La formamida puede tener efectos adversos en la reproducción humana. Evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel no protegida. Si se produce contacto con la piel, lávese con agua abundante durante al menos 15 minutos.

PELIGRO



FORMAMIDE

Indicación de peligro

H360D Puede dañar al feto.

Precauciones

P201 Pedir instrucciones especiales para su uso.

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

P308+P313 en caso de exposición manifiesta o presunta:
consultar con un médico.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Desechar el contenido/recipiente en un vertedero autorizado de productos químicos o en el caso de contenido orgánico mediante incineración a alta temperatura.

ES


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.F. 18941
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

- Consulte información más detallada en la hoja de datos de seguridad. Para obtener una copia de la hoja de datos de seguridad, póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems. Las hojas de datos de seguridad están disponibles en el sitio web de Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a estas, así como el volumen de sonda sobrante, se deben manipular como si fueran capaces de transmitir infecciones y desechar de acuerdo con las precauciones adecuadas.
- No pipetee nunca con la boca los reactivos y evite que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante. Consulte con un médico.
- Limpie inmediatamente las salpicaduras usando materiales desechables adecuados.
- Todos los materiales se deben eliminar de acuerdo a las normas locales.
- Los pasos de recuperación o los tiempos o las temperaturas de incubación diferentes a los indicados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *in situ* Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.1 - 13.
4. FISH on BOND User Guide (Guía del usuario para FISH en el sistema BOND).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Kreatech™ FISH probes

IGH (14q32) Break – XL for BOND

N.º de catálogo: KBI-XL007

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*

La sonda IGH (14q32) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de linfomas. Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH IGH (14q32) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen IGH en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las sondas Kreatech FISH probes se utilizan para realizar un procedimiento de tinción mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) en tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina. Tras un pretratamiento adecuado, la hibridación de las sondas Kreatech FISH probes y el lavado astringente tras la hibridación usando el BOND FISH kit, los cortes de tejidos se deben deshidratar y montar con DAPI manualmente. Los resultados se interpretan mediante microscopía de fluorescencia usando los filtros recomendados con las longitudes de onda adecuadas.

Reactivos proporcionados

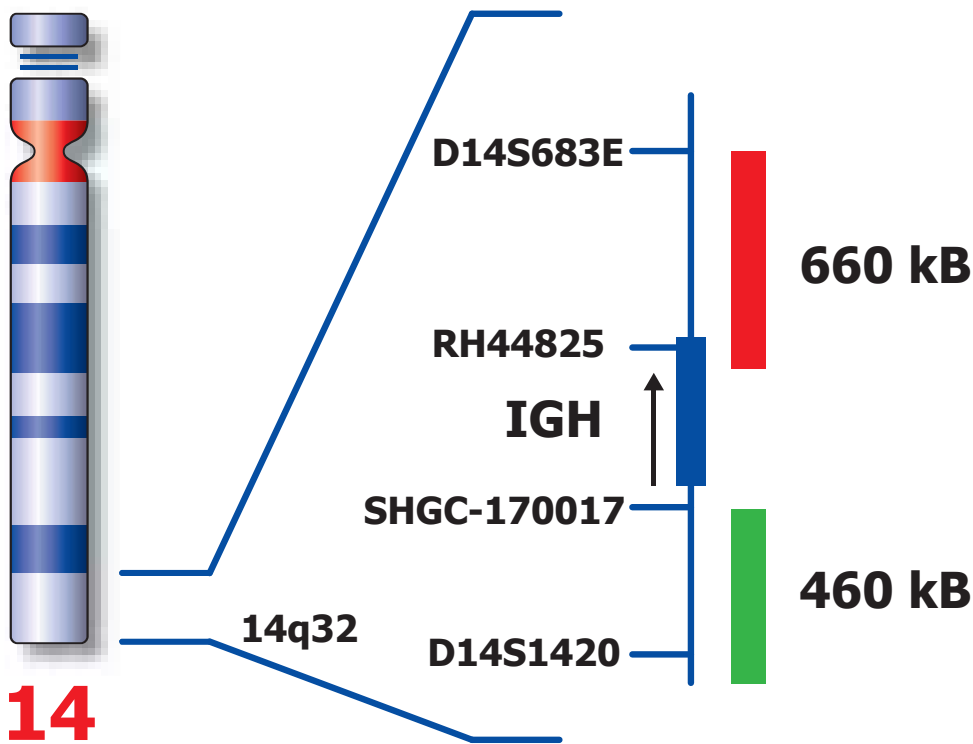
Descripción del producto	N.º de producto	Volumen	Composición
IGH (14q32) Distal – XL	pKBI- XL007G	1 ml, con- centración de 10 x	Las sondas de ADN Platinum <i>Bright</i> ™ 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %
IGH (14q32) Proximal – XL	pKBI- XL007R	1 ml, con- centración de 10 x	Las sondas de ADN Platinum <i>Bright</i> ™ 550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

La sonda IGH (14q32) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen IGH.

La sonda IGH (14q32) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen IGH.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al gen IGH en 14q32.

Tabla 1: mapas cromosómicos en los que se muestran el tamaño de las sondas en kilopares de bases (kB), la banda cromosómica y la posición genómica definida por los marcadores STS¹. La flecha situada junto al gen indica la dirección de transcripción del gen. En verde, la sonda IGH (14q32) Distal – XL. En rojo, la sonda IGH (14q32) Proximal – XL. Consulte el sitio web de Leica para obtener más información sobre los mapas cromosómicos.



ES

1) Los mapas y las ubicaciones se basan en UCSC genome browser, build GRCh37/hg19, Feb.2009.

Material necesario que no se suministra

Consulte la sección “Uso de los reactivos BOND” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación *in situ* usando el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Además de los reactivos BOND genéricos, los reactivos siguientes son necesarios específicamente para el análisis del material del paciente adecuado con sondas Kreatech FISH probes en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

- BOND FISH kit (DS9636)

Las sondas Kreatech FISH probes se procesan en un sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III) en combinación con el BOND FISH kit (DS9636). El BOND FISH kit, en combinación con el *FISH Protocol D, instalado previamente en el sistema BOND con BDZ v62 o superior, es necesario para el procesamiento de FISH en el sistema BOND. Este protocolo se ha diseñado para el lavado tras la hibridación, con el fin de reducir la hibridación no específica de las sondas de ácido nucleico. El BOND FISH kit contiene el tampón de lavado tras la hibridación; un kit es suficiente para realizar 60 pruebas.

- BOND Hybridization solution (AR9037)

Las sondas se deben diluir a la concentración preferida usando la BOND Hybridization solution.

- BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551)

Es preciso realizar la digestión enzimática en combinación con un pretratamiento térmico para obtener resultados óptimos con FISH.

- DAPI (p. ej., LK-095A o LK-096A)

La contratinción DAPI no se lleva a cabo automáticamente como parte del protocolo FISH en el sistema BOND, por lo que se tiene que realizar manualmente usando la concentración preferida de DAPI counterstain / antifade.

Muestras

Las sondas Kreatech FISH probes se han analizado con tejidos FFPE con un grosor de ~ 5 μm . Para obtener resultados óptimos, los bloques y los portaobjetos cortados de tejidos se deben almacenar de acuerdo con las condiciones recomendadas de almacenamiento y manipulación. Consulte el sitio web de Leica.

El termoendurecimiento se puede realizar en el sistema BOND con el *Bake and Dewax protocol o bien por separado en un horno o una incubadora. La temperatura y el tiempo recomendados para el termoendurecimiento es de hasta 16 horas a 56 °C o de 60-120 minutos a 80 °C.

Instrucciones de uso: dilución y mezclado

Las sondas Kreatech FISH probes se suministran a una concentración 10 x y se deben combinar y diluir para obtener una concentración final 1 x usando BOND Hybridization solution (AR9037).

Reactivo	Volumen usado (recomendado)
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml
N.º de pruebas	Hasta 40 pruebas


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18342
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Tras la dilución de la sonda, la mezcla se debe transferir a un contenedor BOND adecuado (contenedor de titulación, contenedor abierto de 7 ml o contenedor abierto de 30 ml, dependiendo de los volúmenes preparados) y registrar como "DNA probe" en el sistema BOND. Cuando prepare diluciones para la valoración, asegúrese de que obtiene cantidad suficiente para el volumen muerto del BOND Open Container adecuado (consulte los valores de la documentación del usuario del sistema BOND). El número exacto de pruebas de un vial depende del volumen muerto del contenedor usado y la calibración del sistema BOND.

Consulte en la sección "Solución de problemas" el uso de concentraciones finales diferentes a 1 x.

Consulte la sección "Gestión de reactivos" de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener más información sobre el registro de reactivos nuevos en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Instrucciones de uso: pretratamiento y protocolos

Las sondas Kreatech FISH probes se han validado usando el BOND FISH kit, reactivos complementarios BOND y los protocolos predeterminados de pretratamiento y tinción BOND mostrados en la tabla 2. El protocolo final puede variar en función del tejido empleado por el usuario. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Tabla 2: protocolos para procesar las sondas Kreatech FISH probes

Parte del protocolo BOND	Nombre del protocolo	Tipo de protocolo
Staining – ISH Detection	*FISH Protocol D	Lavado tras la hibridación
Prestaining – Preparation	*Dewax	Eliminación de la parafina
Prestaining – Heat Pretreatment	HIER 25 min with ER2 (100) ⁽¹⁾	Pretratamiento térmico, Recuperación del epítipo
Prestaining – Enzyme Pretreatment	Enzyme 5 for 20 min ^(1,2)	Digestión enzimática
Prestaining – ISH denaturation	*D10	Desnaturalización durante 10 minutos.
Prestaining – ISH detection	*ISH Hybridization (12Hr)	Hibridación durante 12

- (1) No se trata de un protocolo predefinido. Para crear un protocolo nuevo, consulte la sección “Protocolos” de la documentación del usuario del sistema BOND.
- (2) La enzima 5 se deriva del Enzyme Concentrate 1 disponible en el BOND Enzyme Pretreatment Kit (AR9551). Consulte información más detallada en la sección “Solución de problemas”.

Patrones de las señales

La sonda IGH (14q32) Break – XL for BOND puede utilizarse para detectar traslocaciones asociadas al gen IGH en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas usando los protocolos mostrados en la tabla 2.

La sonda IGH (14q32) Break – XL for BOND se ha diseñado como ensayo bicromático para detectar traslocaciones de la región del gen IGH en 14q32. El patrón normal de las señales presenta dos señales rojas/verdes de fusión (2F), mientras que una traslocación asociada al gen IGH causa una señal de fusión para el cromosoma 14 normal y una señal roja y una señal verde para la traslocación (1F1R1G).

Se recomienda realizar pruebas de seguimiento si se observan patrones atípicos.

	Patrón normal de las señales	Traslocación asociada al gen IGH en 14q32
Patrón esperado	2F	1F1R1G

Exención de responsabilidad: El rendimiento de la sonda IGH (14q32) Break – XL for BOND se ha establecido usando los procedimientos descritos en este folleto. Si se modifican estos procedimientos, se puede alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Almacenamiento y estabilidad

Proteja las sondas de la luz directa intensa.

Almacénese a una temperatura de 2 - 8 °C. El producto sin abrir se mantiene estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Vuelva a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C el reactivo no diluido inmediatamente tras el uso. El reactivo de la sonda diluido/mezclado almacenado en un contenedor

BOND se debe volver a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C tras haberlo procesado.

Tras la dilución de la sonda, las mezclas de sondas se mantienen estables durante 30 días. Una vez transcurrido este periodo, la mezcla diluida puede causar resultados incorrectos. No hay indicios evidentes que indiquen la contaminación y/o la inestabilidad de la sonda. El usuario debe verificar las condiciones de almacenamiento diferentes a las indicadas anteriormente.

Solución de problemas

Pretratamiento (sobredigestión): en las instrucciones de uso del BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551) se recomienda que se registre una dilución de 1 gota de Enzyme Concentrate 1 en 7 ml de Diluent como *Enzyme 1 en el software BOND.

Esta *Enzyme 1 puede ser demasiado potente para determinadas muestras cuando se usa en combinación con Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) y tiene como consecuencia un tejido digerido en exceso. Se recomienda realizar una dilución secundaria de *Enzyme 1 (una dilución de hasta 1:300) y un registro independiente del reactivo en el sistema BOND como *Enzyme 5 para evitar confusiones. Como alternativa, se puede usar una dilución directa de hasta 1:3000 del Enzyme concentrate 1 en lugar de la dilución sucesiva de *Enzyme 1.

Dilución de la sonda e intensidad de la señal: se recomienda una concentración final de la sonda 1 x, sin embargo, el equilibrio adecuado de la sonda depende de factores como la edad y la fijación del tejido, el protocolo de pretratamiento y las preferencias personales. Las concentraciones óptimas y las relaciones de la sonda pueden variar, y el usuario final las debe determinar de forma práctica.

Reactivo	Volumen usado (recomendado)	Ejemplo: reducir la potencia de la señal verde	
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml	Roja a 1 x:	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml	Verde a 0,5 x:	0,5 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml		8,5 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml		10 ml
Número de pruebas	hasta 40 pruebas		hasta 40 pruebas

Póngase en contacto con su distribuidor local o el Servicio de atención al cliente de la oficina regional de Leica Biosystems para comunicar cualquier tinción anormal.

Limitaciones específicas del producto

Los usuarios que se desvían de los procedimientos de prueba recomendados tienen que responsabilizarse de la interpretación de los resultados de los pacientes en estas circunstancias. Los tiempos de los protocolos pueden variar debido a las variaciones de los tipos de tejido, fijación y procesamiento. Además, es posible que la concentración y el tiempo de incubación de las enzimas BOND tengan que optimizarse en función del tipo de tejido y las condiciones de procesamiento y fijación.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la hibridación *in situ* con los reactivos BOND en la documentación del usuario del sistema BOND.

Advertencias y precauciones

- Este producto está diseñado exclusivamente para su uso diagnóstico *in vitro*.
- Exclusivamente para uso en laboratorio y por profesional cualificado
- Las sondas Kreatech FISH probes están diseñadas para su uso en sistemas BOND.
- No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Lleve prendas, guantes, gafas y protección para la cara adecuados.
- Las sondas Kreatech FISH probes contienen formamida y, por lo tanto, se deben registrar en el software BOND como residuos peligrosos.
- La formamida puede tener efectos adversos en la reproducción humana. Evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel no protegida. Si se produce contacto con la piel, lávese con agua abundante durante al menos 15 minutos.

ES

PELIGRO



FORMAMIDE

Indicación de peligro

H360D Puede dañar al feto.

Precauciones

P201 Pedir instrucciones especiales para su uso

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

P308+P313 en caso de exposición manifiesta o presunta:
consultar con un médico.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Desechar el contenido/recipiente en un vertedero autorizado de productos químicos o en el caso de contenido orgánico mediante incineración a alta temperatura.


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

- Consulte información más detallada en la hoja de datos de seguridad. Para obtener una copia de la hoja de datos de seguridad, póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems. Las hojas de datos de seguridad están disponibles en el sitio web de Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a estas, así como el volumen de sonda sobrante, se deben manipular como si fueran capaces de transmitir infecciones y desechar de acuerdo con las precauciones adecuadas.
- No pipetee nunca con la boca los reactivos y evite que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante. Consulte con un médico.
- Limpie inmediatamente las salpicaduras usando materiales desechables adecuados.
- Todos los materiales se deben eliminar de acuerdo a las normas locales.
- Los pasos de recuperación o los tiempos o las temperaturas de incubación diferentes a los indicados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *in situ* Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.1 - 13.
4. FISH on BOND User Guide (Guía del usuario para FISH en el sistema BOND).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Kreatech™ FISH probes

BCL2 (18q21) Break – XL for BOND

N.º de catálogo: KBI-XL008

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*

La sonda BCL2 (18q21) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de linfomas. Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH BCL2 (18q21) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen BCL2 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las sondas Kreatech FISH probes se utilizan para realizar un procedimiento de tinción mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) en tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina. Tras un pretratamiento adecuado, la hibridación de las sondas Kreatech FISH probes y el lavado astringente tras la hibridación usando el BOND FISH kit, los cortes de tejidos se deben deshidratar y montar con DAPI manualmente. Los resultados se interpretan mediante microscopía de fluorescencia usando los filtros recomendados con las longitudes de onda adecuadas.

Reactivos proporcionados

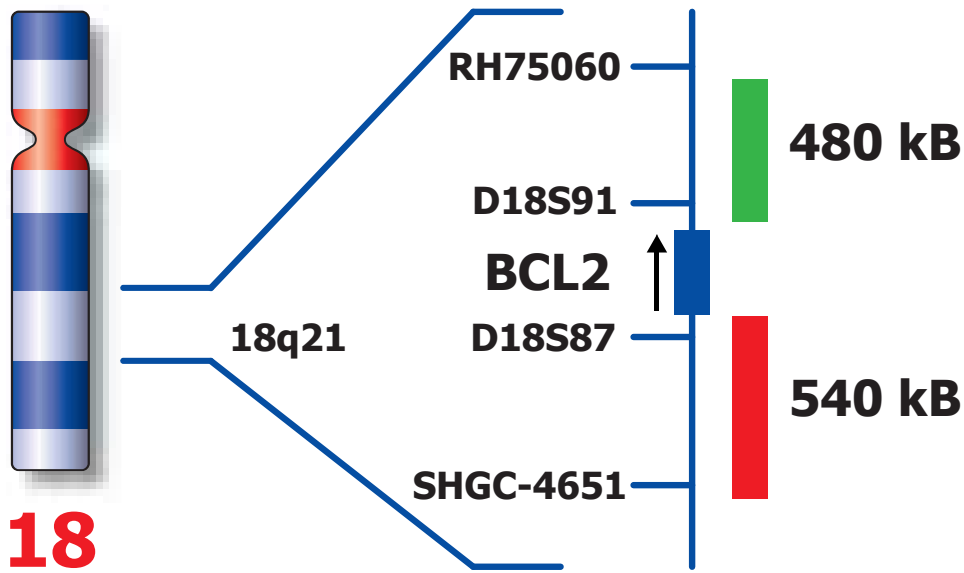
Descripción del producto	N.º de producto	Volumen	Composición
BCL2 (18q21) Proximal – XL	pKBI-XL008G	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN Platinum <i>Bright</i> ™ 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50%
BCL2 (18q21) Distal – XL	pKBI-XL008R	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN Platinum <i>Bright</i> ™ 550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

La sonda BCL2 (18q21) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen BCL2.

La sonda BCL2 (18q21) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen BCL2.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al gen BCL2 en 18q21.

Tabla 1: mapas cromosómicos en los que se muestran el tamaño de las sondas en kilopares de bases (kB), la banda cromosómica y la posición genómica definida por los marcadores STS¹. La flecha situada junto al gen indica la dirección de transcripción del gen. En verde, la sonda BCL2 (18q21) Proximal – XL. En rojo, la sonda BCL2 (18q21) Distal – XL. Consulte el sitio web de Leica para obtener más información sobre los mapas cromosómicos.



ES

1 Los mapas y las ubicaciones se basan en UCSC genome browser, build GRCh37/hg19, Feb.2009.

Material necesario que no se suministra

Consulte la sección “Uso de los reactivos BOND” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación *in situ* usando el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Además de los reactivos BOND genéricos, los reactivos siguientes son necesarios específicamente para el análisis del material del paciente adecuado con sondas Kreatech FISH probes en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

- BOND FISH kit (DS9636)

Las sondas Kreatech FISH probes se procesan en un sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III) en combinación con el BOND FISH kit (DS9636). El BOND FISH kit, en combinación con el *FISH Protocol D, instalado previamente en el sistema BOND con BDZ v62 o superior, es necesario para el procesamiento de FISH en el sistema BOND. Este protocolo se ha diseñado para el lavado tras la hibridación, con el fin de reducir la hibridación no específica de las sondas de ácido nucleico. El BOND FISH kit contiene el tampón de lavado tras la hibridación; un kit es suficiente para realizar 60 pruebas.

- BOND Hybridization solution (AR9037)

Las sondas se deben diluir a la concentración preferida usando la BOND Hybridization solution.

- BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551)

Es preciso realizar la digestión enzimática en combinación con un pretratamiento térmico para obtener resultados óptimos con FISH.

- DAPI (p. ej., LK-095A o LK-096A)

La contratinción DAPI no se lleva a cabo automáticamente como

parte del protocolo FISH en el sistema BOND, por lo que se tiene que realizar manualmente usando la concentración preferida de DAPI counterstain / antifade.

Muestras

Las sondas Kreatech FISH probes se han analizado con tejidos FFPE con un grosor de ~ 5 µm. Para obtener resultados óptimos, los bloques y los portaobjetos cortados de tejidos se deben almacenar de acuerdo con las condiciones recomendadas de almacenamiento y manipulación. Consulte el sitio web de Leica.

El termoendurecimiento se puede realizar en el sistema BOND con el *Bake and Dewax protocol o bien por separado en un horno o una incubadora. La temperatura y el tiempo recomendados para el termoendurecimiento es de hasta 16 horas a 56 °C o de 60-120 minutos a 80 °C.

Instrucciones de uso: dilución y mezclado

Las sondas Kreatech FISH probes se suministran a una concentración 10 x y se deben combinar y diluir para obtener una concentración final 1 x usando BOND Hybridization solution (AR9037).

Reactivo	Volumen usado (recomendado)
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml
N.º de pruebas	Hasta 40 pruebas

Tras la dilución de la sonda, la mezcla se debe transferir a un contenedor BOND adecuado (contenedor de titulación, contenedor abierto de 7 ml o contenedor abierto de 30 ml, dependiendo de los volúmenes preparados) y registrar como "DNA probe" en el sistema BOND. Cuando prepare diluciones para la valoración, asegúrese de que obtiene cantidad suficiente para el volumen muerto del BOND Open Container adecuado (consulte los valores de la documentación del usuario del sistema BOND). El número exacto de pruebas de un vial depende del volumen muerto del contenedor usado y la calibración del sistema BOND.

Consulte en la sección "Solución de problemas" el uso de concentraciones finales diferentes a 1 x.

Consulte la sección "Gestión de reactivos" de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener más información sobre el registro de reactivos nuevos en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Instrucciones de uso: pretratamiento y protocolos

Las sondas Kreatech FISH probes se han validado usando el BOND FISH kit, reactivos complementarios BOND y los protocolos predeterminados de pretratamiento y tinción BOND mostrados en la tabla 2. El protocolo final puede variar en función del tejido empleado por el usuario. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Tabla 2: protocolos para procesar las sondas Kreatech FISH probes

Parte del protocolo BOND	Nombre del protocolo	Tipo de protocolo
Staining – ISH Detection	*FISH Protocol D	Lavado tras la hibridación
Prestaining – Preparation	*Dewax	Eliminación de la parafina
Prestaining – Heat Pretreatment	HIER 25 min with ER2 (100) ⁽¹⁾	Pretratamiento térmico, Recuperación del epítipo
Prestaining – Enzyme Pretreatment	Enzyme 5 for 20 min ^(1,2)	Digestión enzimática
Prestaining – ISH denaturation	*D10	Desnaturalización durante 10 minutos.
Prestaining – ISH detection	*ISH Hybridization (12Hr)	Hibridación durante 12

- (1) No se trata de un protocolo predefinido. Para crear un protocolo nuevo, consulte la sección “Protocolos” de la documentación del usuario del sistema BOND.
- (2) La enzima 5 se deriva del Enzyme Concentrate 1 disponible en el BOND Enzyme Pretreatment Kit (AR9551). Consulte información más detallada en la sección “Solución de problemas”.

Patrones de las señales

La sonda BCL2 (18q21) Break – XL for BOND puede utilizarse para detectar traslocaciones asociadas al gen BCL2 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas usando los protocolos mostrados en la tabla 2.

La sonda BCL2 (18q21) Break – XL for BOND se ha diseñado como ensayo bicromático para detectar traslocaciones de la región del gen BCL2 en 18q21. El patrón normal de las señales presenta dos señales rojas/verdes de fusión (2F), mientras que una traslocación asociada al gen BCL2 causa una señal de fusión para el cromosoma 18 normal y una señal roja y una señal verde para la traslocación (1F1R1G).

Se recomienda realizar pruebas de seguimiento si se observan patrones atípicos.

	Patrón normal de las señales	Traslocación asociada al gen BCL2 en 18q21
Patrón esperado	2F	1F1R1G

Exención de responsabilidad: El rendimiento de la sonda BCL2 (18q21) Break – XL for BOND se ha establecido usando los procedimientos descritos en este folleto. Si se modifican estos procedimientos, se puede alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Almacenamiento y estabilidad

Proteja las sondas de la luz directa intensa.

Almacénese a una temperatura de 2 - 8 °C. El producto sin abrir se mantiene estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Vuelva a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C el reactivo no diluido inmediatamente tras el uso. El reactivo de la sonda diluido/mezclado almacenado en un contenedor

BOND se debe volver a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C tras haberlo procesado.

Tras la dilución de la sonda, las mezclas de sondas se mantienen estables durante 30 días. Una vez transcurrido este periodo, la mezcla diluida puede causar resultados incorrectos. No hay indicios evidentes que indiquen la contaminación y/o la inestabilidad de la sonda. El usuario debe verificar las condiciones de almacenamiento diferentes a las indicadas anteriormente.

Solución de problemas

Pretratamiento (sobredigestión): en las instrucciones de uso del BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551) se recomienda que se registre una dilución de 1 gota de Enzyme Concentrate 1 en 7 ml de Diluent como *Enzyme 1 en el software BOND.

Esta *Enzyme 1 puede ser demasiado potente para determinadas muestras cuando se usa en combinación con Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) y tiene como consecuencia un tejido digerido en exceso. Se recomienda realizar una dilución secundaria de *Enzyme 1 (una dilución de hasta 1:300) y un registro independiente del reactivo en el sistema BOND como *Enzyme 5 para evitar confusiones. Como alternativa, se puede usar una dilución directa de hasta 1:3000 del Enzyme concentrate 1 en lugar de la dilución sucesiva de *Enzyme 1.

Dilución de la sonda e intensidad de la señal: se recomienda una concentración final de la sonda 1 x, sin embargo, el equilibrio adecuado de la sonda depende de factores como la edad y la fijación del tejido, el protocolo de pretratamiento y las preferencias personales. Las concentraciones óptimas y las relaciones de la sonda pueden variar, y el usuario final las debe determinar de forma práctica.

Reactivo	Volumen usado (recomendado)	Ejemplo: reducir la potencia de la señal verde	
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml	Roja a 1 x:	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml	Verde a 0,5 x:	0,5 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml		8,5 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml		10 ml
Número de pruebas	hasta 40 pruebas		hasta 40 pruebas

Póngase en contacto con su distribuidor local o el Servicio de atención al cliente de la oficina regional de Leica Biosystems para comunicar cualquier tinción anormal.

Limitaciones específicas del producto

Los usuarios que se desvían de los procedimientos de prueba recomendados tienen que responsabilizarse de la interpretación de los resultados de los pacientes en estas circunstancias. Los tiempos de los protocolos pueden variar debido a las variaciones de los tipos de tejido, fijación y procesamiento. Además, es posible que la concentración y el tiempo de incubación de las enzimas BOND tengan que optimizarse en función del tipo de tejido y las condiciones de procesamiento y fijación.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la hibridación *in situ* con los reactivos BOND en la documentación del usuario del sistema BOND.

Advertencias y precauciones

- Este producto está diseñado exclusivamente para su uso diagnóstico *in vitro*.
- Exclusivamente para uso en laboratorio y por profesional cualificado
- Las sondas Kreatech FISH probes están diseñadas para su uso en sistemas BOND.
- No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Lleve prendas, guantes, gafas y protección para la cara adecuados.
- Las sondas Kreatech FISH probes contienen formamida y, por lo tanto, se deben registrar en el software BOND como residuos peligrosos.
- La formamida puede tener efectos adversos en la reproducción humana. Evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel no protegida. Si se produce contacto con la piel, lávese con agua abundante durante al menos 15 minutos.

ES

PELIGRO



FORMAMIDE

Indicación de peligro

H360D Puede dañar al feto.

Precauciones

P201 Pedir instrucciones especiales para su uso

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

P308+P313 en caso de exposición manifiesta o presunta:
consultar con un médico.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Desechar el contenido/recipiente en un vertedero autorizado de productos químicos o en el caso de contenido orgánico mediante incineración a alta temperatura.


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

- Consulte información más detallada en la hoja de datos de seguridad. Para obtener una copia de la hoja de datos de seguridad, póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems. Las hojas de datos de seguridad están disponibles en el sitio web de Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a estas, así como el volumen de sonda sobrante, se deben manipular como si fueran capaces de transmitir infecciones y desechar de acuerdo con las precauciones adecuadas.
- No pipetee nunca con la boca los reactivos y evite que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante. Consulte con un médico.
- Limpie inmediatamente las salpicaduras usando materiales desechables adecuados.
- Todos los materiales se deben eliminar de acuerdo a las normas locales.
- Los pasos de recuperación o los tiempos o las temperaturas de incubación diferentes a los indicados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *in situ* Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.1 - 13.
4. FISH on BOND User Guide (Guía del usuario para FISH en el sistema BOND).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Kreatech™ FISH probes

BCL6 (3q27) Break – XL for BOND

N.º de catálogo: KBI-XL009

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*

La sonda BCL6 (3q27) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de linfomas. Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH BCL6 (3q27) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen BCL6 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las sondas Kreatech FISH probes se utilizan para realizar un procedimiento de tinción mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) en tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina. Tras un pretratamiento adecuado, la hibridación de las sondas Kreatech FISH probes y el lavado astringente tras la hibridación usando el BOND FISH kit, los cortes de tejidos se deben deshidratar y montar con DAPI manualmente. Los resultados se interpretan mediante microscopía de fluorescencia usando los filtros recomendados con las longitudes de onda adecuadas.

Reactivos proporcionados

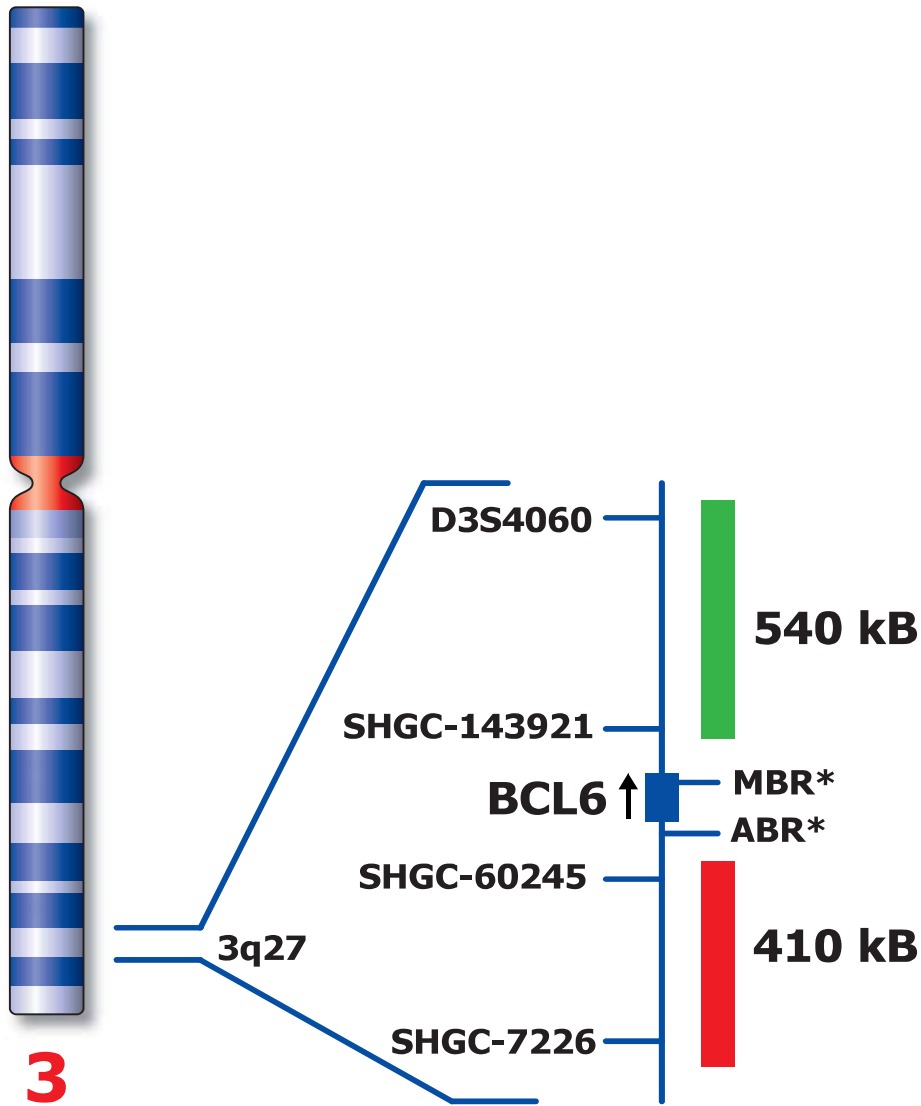
Descripción del producto	N.º de producto	Volumen	Composición
BCL6 (3q27) Proximal – XL	pKBI-XL009G	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN Platinum <i>Bright</i> ™ 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50%
BCL6 (3q27) Distal – XL	pKBI-XL009R	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN Platinum <i>Bright</i> ™ 550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

La sonda BCL6 (3q27) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen BCL6.

La sonda BCL6 (3q27) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen BCL6.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al gen BCL6 en 3q27.

Tabla 1: mapas cromosómicos en los que se muestran el tamaño de las sondas en kilopares de bases (kB), la banda cromosómica y la posición genómica definida por los marcadores STS¹. La flecha situada junto al gen indica la dirección de transcripción del gen. En verde, la sonda BCL6 (3q27) Proximal – XL. En rojo, la sonda BCL6 (3q27) Distal – XL. Consulte el sitio web de Leica para obtener más información sobre los mapas cromosómicos.



ABR* atypical breakpoint region
MBR* major breakpoint region

ES

1) Los mapas y las ubicaciones se basan en UCSC genome browser, build GRCh37/hg19, Feb.2009.

Material necesario que no se suministra

Consulte la sección “Uso de los reactivos BOND” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación *in situ* usando el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Además de los reactivos BOND genéricos, los reactivos siguientes son necesarios específicamente para el análisis del material del paciente adecuado con sondas Kreatech FISH probes en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

- BOND FISH kit (DS9636)

Las sondas Kreatech FISH probes se procesan en un sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III) en combinación con el BOND FISH kit (DS9636). El BOND FISH kit, en combinación con el *FISH Protocol D, instalado previamente en el sistema BOND con BDZ v62 o superior, es necesario para el procesamiento de FISH en el sistema BOND. Este protocolo se ha diseñado para el lavado tras la hibridación, con el fin de reducir la hibridación no específica de las sondas de ácido nucleico. El BOND FISH kit contiene el tampón de lavado tras la hibridación; un kit es suficiente para realizar 60 pruebas.

- BOND Hybridization solution (AR9037)

Las sondas se deben diluir a la concentración preferida usando la BOND Hybridization solution.

- BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551)

Es preciso realizar la digestión enzimática en combinación con un pretratamiento térmico para obtener resultados óptimos con FISH.

- DAPI (p. ej., LK-095A o LK-096A)

La contratinción DAPI no se lleva a cabo automáticamente como

parte del protocolo FISH en el sistema BOND, por lo que se tiene que realizar manualmente usando la concentración preferida de DAPI counterstain / antifade.

Muestras

Las sondas Kreatech FISH probes se han analizado con tejidos FFPE con un grosor de ~ 5 µm. Para obtener resultados óptimos, los bloques y los portaobjetos cortados de tejidos se deben almacenar de acuerdo con las condiciones recomendadas de almacenamiento y manipulación. Consulte el sitio web de Leica.

El termoendurecimiento se puede realizar en el sistema BOND con el *Bake and Dewax protocol o bien por separado en un horno o una incubadora. La temperatura y el tiempo recomendados para el termoendurecimiento es de hasta 16 horas a 56 °C o de 60-120 minutos a 80 °C.

Instrucciones de uso: dilución y mezclado

Las sondas Kreatech FISH probes se suministran a una concentración 10 x y se deben combinar y diluir para obtener una concentración final 1 x usando BOND Hybridization solution (AR9037).

Reactivo	Volumen usado (recomendado)
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml
N.º de pruebas	Hasta 40 pruebas

Tras la dilución de la sonda, la mezcla se debe transferir a un contenedor BOND adecuado (contenedor de titulación, contenedor abierto de 7 ml o contenedor abierto de 30 ml, dependiendo de los volúmenes preparados) y registrar como "DNA probe" en el sistema BOND. Cuando prepare diluciones para la valoración, asegúrese de que obtiene cantidad suficiente para el volumen muerto del BOND Open Container adecuado (consulte los valores de la documentación del usuario del sistema BOND). El número exacto de pruebas de un vial depende del volumen muerto del contenedor usado y la calibración del sistema BOND.

Consulte en la sección "Solución de problemas" el uso de concentraciones finales diferentes a 1 x.

Consulte la sección "Gestión de reactivos" de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener más información sobre el registro de reactivos nuevos en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Instrucciones de uso: pretratamiento y protocolos

Las sondas Kreatech FISH probes se han validado usando el BOND FISH kit, reactivos complementarios BOND y los protocolos predeterminados de pretratamiento y tinción BOND mostrados en la tabla 2. El protocolo final puede variar en función del tejido empleado por el usuario. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Tabla 2: protocolos para procesar las sondas Kreatech FISH probes

Parte del protocolo BOND	Nombre del protocolo	Tipo de protocolo
Staining – ISH Detection	*FISH Protocol D	Lavado tras la hibridación
Prestaining – Preparation	*Dewax	Eliminación de la parafina
Prestaining – Heat Pretreatment	HIER 25 min with ER2 (100) ⁽¹⁾	Pretratamiento térmico, Recuperación del epítipo
Prestaining – Enzyme Pretreatment	Enzyme 5 for 20 min ^(1,2)	Digestión enzimática
Prestaining – ISH denaturation	*D10	Desnaturalización durante 10 minutos.
Prestaining – ISH detection	*ISH Hybridization (12Hr)	Hibridación durante 12

- (1) No se trata de un protocolo predefinido. Para crear un protocolo nuevo, consulte la sección “Protocolos” de la documentación del usuario del sistema BOND.
- (2) La enzima 5 se deriva del Enzyme Concentrate 1 disponible en el BOND Enzyme Pretreatment Kit (AR9551). Consulte información más detallada en la sección “Solución de problemas”.

Patrones de las señales

La sonda BCL6 (3q27) Break – XL for BOND puede utilizarse para detectar traslocaciones asociadas al gen BCL6 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas usando los protocolos mostrados en la tabla 2.

La sonda BCL6 (3q27) Break – XL for BOND se ha diseñado como ensayo bicromático para detectar traslocaciones de la región del gen BCL6 en 3q27. El patrón normal de las señales presenta dos señales rojas/verdes de fusión (2F), mientras que una traslocación asociada al gen BCL6 causa una señal de fusión para el cromosoma 3 normal y una señal roja y una señal verde para la traslocación (1F1R1G).

Se recomienda realizar pruebas de seguimiento si se observan patrones atípicos.

	Patrón normal de las señales	Traslocación asociada al gen BCL6 en 3q27
Patrón esperado	2F	1F1R1G

Exención de responsabilidad: El rendimiento de la sonda BCL6 (3q27) Break – XL for BOND se ha establecido usando los procedimientos descritos en este folleto. Si se modifican estos procedimientos, se puede alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Almacenamiento y estabilidad

Proteja las sondas de la luz directa intensa.

Almacénese a una temperatura de 2 - 8 °C. El producto sin abrir se mantiene estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Vuelva a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C el reactivo no diluido inmediatamente tras el uso. El reactivo de la sonda diluido/mezclado almacenado en un contenedor

BOND se debe volver a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C tras haberlo procesado.

Tras la dilución de la sonda, las mezclas de sondas se mantienen estables durante 30 días. Una vez transcurrido este periodo, la mezcla diluida puede causar resultados incorrectos. No hay indicios evidentes que indiquen la contaminación y/o la inestabilidad de la sonda. El usuario debe verificar las condiciones de almacenamiento diferentes a las indicadas anteriormente.

Solución de problemas

Pretratamiento (sobredigestión): en las instrucciones de uso del BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551) se recomienda que se registre una dilución de 1 gota de Enzyme Concentrate 1 en 7 ml de Diluent como *Enzyme 1 en el software BOND.

Esta *Enzyme 1 puede ser demasiado potente para determinadas muestras cuando se usa en combinación con Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) y tiene como consecuencia un tejido digerido en exceso. Se recomienda realizar una dilución secundaria de *Enzyme 1 (una dilución de hasta 1:300) y un registro independiente del reactivo en el sistema BOND como *Enzyme 5 para evitar confusiones. Como alternativa, se puede usar una dilución directa de hasta 1:3000 del Enzyme concentrate 1 en lugar de la dilución sucesiva de *Enzyme 1.

Dilución de la sonda e intensidad de la señal: se recomienda una concentración final de la sonda 1 x, sin embargo, el equilibrio adecuado de la sonda depende de factores como la edad y la fijación del tejido, el protocolo de pretratamiento y las preferencias personales. Las concentraciones óptimas y las relaciones de la sonda pueden variar, y el usuario final las debe determinar de forma práctica.

Reactivo	Volumen usado (recomendado)	Ejemplo: reducir la potencia de la señal verde	
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml	Roja a 1 x:	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml	Verde a 0,5 x:	0,5 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml		8,5 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml		10 ml
Número de pruebas	hasta 40 pruebas		hasta 40 pruebas

Póngase en contacto con su distribuidor local o el Servicio de atención al cliente de la oficina regional de Leica Biosystems para comunicar cualquier tinción anormal.

Limitaciones específicas del producto

Los usuarios que se desvían de los procedimientos de prueba recomendados tienen que responsabilizarse de la interpretación de los resultados de los pacientes en estas circunstancias. Los tiempos de los protocolos pueden variar debido a las variaciones de los tipos de tejido, fijación y procesamiento. Además, es posible que la concentración y el tiempo de incubación de las enzimas BOND tengan que optimizarse en función del tipo de tejido y las condiciones de procesamiento y fijación.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la hibridación *in situ* con los reactivos BOND en la documentación del usuario del sistema BOND.

Advertencias y precauciones

- Este producto está diseñado exclusivamente para su uso diagnóstico *in vitro*.
- Exclusivamente para uso en laboratorio y por profesional cualificado
- Las sondas Kreatech FISH probes están diseñadas para su uso en sistemas BOND.
- No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Lleve prendas, guantes, gafas y protección para la cara adecuados.
- Las sondas Kreatech FISH probes contienen formamida y, por lo tanto, se deben registrar en el software BOND como residuos peligrosos.
- La formamida puede tener efectos adversos en la reproducción humana. Evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel no protegida. Si se produce contacto con la piel, lávese con agua abundante durante al menos 15 minutos.

ES

PELIGRO



FORMAMIDE

Indicación de peligro

H360D Puede dañar al feto.

Precauciones

P201 Pedir instrucciones especiales para su uso

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

P308+P313 en caso de exposición manifiesta o presunta:
consultar con un médico.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Desechar el contenido/recipiente en un vertedero autorizado de productos químicos o en el caso de contenido orgánico mediante incineración a alta temperatura.


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

- Consulte información más detallada en la hoja de datos de seguridad. Para obtener una copia de la hoja de datos de seguridad, póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems. Las hojas de datos de seguridad están disponibles en el sitio web de Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a estas, así como el volumen de sonda sobrante, se deben manipular como si fueran capaces de transmitir infecciones y desechar de acuerdo con las precauciones adecuadas.
- No pipetee nunca con la boca los reactivos y evite que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante. Consulte con un médico.
- Limpie inmediatamente las salpicaduras usando materiales desechables adecuados.
- Todos los materiales se deben eliminar de acuerdo a las normas locales.
- Los pasos de recuperación o los tiempos o las temperaturas de incubación diferentes a los indicados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *in situ* Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.1 - 13.
4. FISH on BOND User Guide (Guía del usuario para FISH en el sistema BOND).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Kreatech™ FISH probes

TP53 (17p13) / SE 17 – XL for BOND

N.º de catálogo: KBI-XL010

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*

La sonda TP53 (17p13) / SE 17 – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de linfomas. Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH TP53 (17p13) / SE 17 – XL for BOND detecta eliminaciones genómicas asociadas al gen TP53 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las sondas Kreatech FISH probes se utilizan para realizar un procedimiento de tinción mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) en tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina. Tras un pretratamiento adecuado, la hibridación de las sondas Kreatech FISH probes y el lavado astringente tras la hibridación usando el BOND FISH kit, los cortes de tejidos se deben deshidratar y montar con DAPI manualmente. Los resultados se interpretan mediante microscopía de fluorescencia usando los filtros recomendados con las longitudes de onda adecuadas.

Reactivos proporcionados

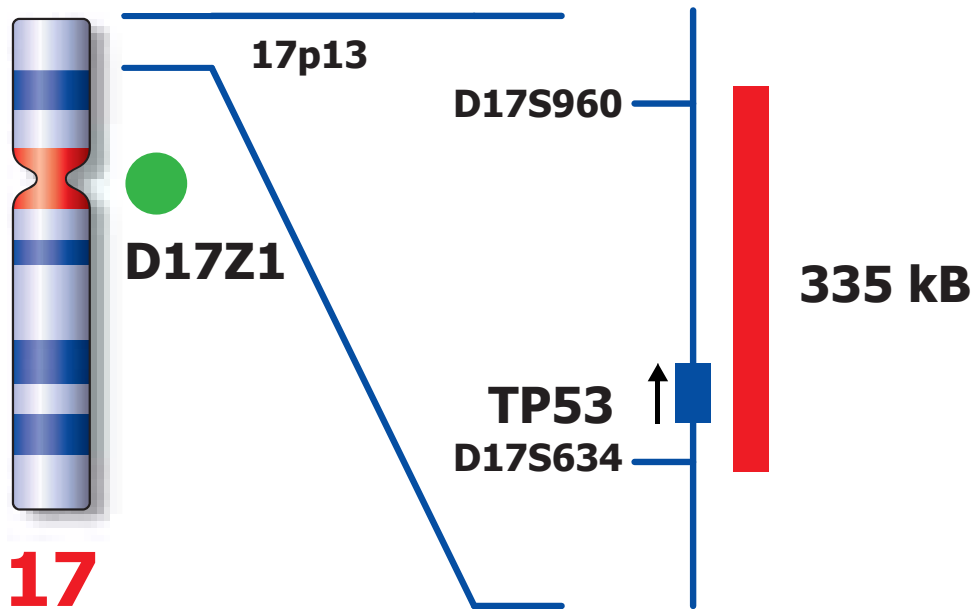
Descripción del producto	N.º de producto	Volumen	Composición
TP53 (17p13) – XL	pKBI-XL010R	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN Platinum <i>Bright</i> ™ 550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.
SE 17 (D17Z1) – XL	pKBI-XL010G	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN Platinum <i>Bright</i> ™ 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50%

La sonda TP53 (17p13) – XL se ha optimizado para detectar números de copias de la región del gen TP53 en 17p13.

La sonda SE 17 (D17Z1) – XL se ha optimizado para detectar números de copias de la región del centrómero del cromosoma 17.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar la eliminación del gen TP53 en 17p13, como control se emplea la sonda del centrómero.

Tabla 1: mapas cromosómicos en los que se muestran el tamaño de las sondas en kilopares de bases (kB), la banda cromosómica y la posición genómica definida por los marcadores STS¹. La flecha situada junto al gen indica la dirección de transcripción del gen. En verde, la sonda SE 17 (D17Z1) – XL. En rojo, la sonda TP53 (17p13) – XL. Consulte el sitio web de Leica para obtener más información sobre los mapas cromosómicos.



ES

1) Los mapas y las ubicaciones se basan en UCSC genome browser, build GRCh37/hg19, Feb.2009.

Material necesario que no se suministra

Consulte la sección “Uso de los reactivos BOND” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación *in situ* usando el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Además de los reactivos BOND genéricos, los reactivos siguientes son necesarios específicamente para el análisis del material del paciente adecuado con sondas Kreatech FISH probes en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

- BOND FISH kit (DS9636)

Las sondas Kreatech FISH probes se procesan en un sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III) en combinación con el BOND FISH kit (DS9636). El BOND FISH kit, en combinación con el *FISH Protocol D, instalado previamente en el sistema BOND con BDZ v62 o superior, es necesario para el procesamiento de FISH en el sistema BOND. Este protocolo se ha diseñado para el lavado tras la hibridación, con el fin de reducir la hibridación no específica de las sondas de ácido nucleico. El BOND FISH kit contiene el tampón de lavado tras la hibridación; un kit es suficiente para realizar 60 pruebas.

- BOND Hybridization solution (AR9037)

Las sondas se deben diluir a la concentración preferida usando la BOND Hybridization solution.

- BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551)

Es preciso realizar la digestión enzimática en combinación con un pretratamiento térmico para obtener resultados óptimos con FISH.

- DAPI (p. ej., LK-095A o LK-096A)

La contratinción DAPI no se lleva a cabo automáticamente como

parte del protocolo FISH en el sistema BOND, por lo que se tiene que realizar manualmente usando la concentración preferida de DAPI counterstain / antifade.

Muestras

Las sondas Kreatech FISH probes se han analizado con tejidos FFPE con un grosor de ~ 5 µm. Para obtener resultados óptimos, los bloques y los portaobjetos cortados de tejidos se deben almacenar de acuerdo con las condiciones recomendadas de almacenamiento y manipulación. Consulte el sitio web de Leica.

El termoendurecimiento se puede realizar en el sistema BOND con el *Bake and Dewax protocol o bien por separado en un horno o una incubadora. La temperatura y el tiempo recomendados para el termoendurecimiento es de hasta 16 horas a 56 °C o de 60-120 minutos a 80 °C.

Instrucciones de uso: dilución y mezclado

Las sondas Kreatech FISH probes se suministran a una concentración 10 x y se deben combinar y diluir para obtener una concentración final 1 x usando BOND Hybridization solution (AR9037).

Reactivo	Volumen usado (recomendado)
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml
N.º de pruebas	Hasta 40 pruebas

Tras la dilución de la sonda, la mezcla se debe transferir a un contenedor BOND adecuado (contenedor de titulación, contenedor abierto de 7 ml o contenedor abierto de 30 ml, dependiendo de los volúmenes preparados) y registrar como "DNA probe" en el sistema BOND. Cuando prepare diluciones para la valoración, asegúrese de que obtiene cantidad suficiente para el volumen muerto del BOND Open Container adecuado (consulte los valores de la documentación del usuario del sistema BOND). El número exacto de pruebas de un vial depende del volumen muerto del contenedor usado y la calibración del sistema BOND.

Consulte en la sección "Solución de problemas" el uso de concentraciones finales diferentes a 1 x.

Consulte la sección "Gestión de reactivos" de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener más información sobre el registro de reactivos nuevos en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Instrucciones de uso: pretratamiento y protocolos

Las sondas Kreatech FISH probes se han validado usando el BOND FISH kit, reactivos complementarios BOND y los protocolos predeterminados de pretratamiento y tinción BOND mostrados en la tabla 2. El protocolo final puede variar en función del tejido empleado por el usuario. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Tabla 2: protocolos para procesar las sondas Kreatech FISH probes

Parte del protocolo BOND	Nombre del protocolo	Tipo de protocolo
Staining – ISH Detection	*FISH Protocol D	Lavado tras la hibridación
Prestaining – Preparation	*Dewax	Eliminación de la parafina
Prestaining – Heat Pretreatment	HIER 25 min with ER2 (100) ⁽¹⁾	Pretratamiento térmico, Recuperación del epítipo
Prestaining – Enzyme Pretreatment	Enzyme 5 for 20 min ^(1,2)	Digestión enzimática
Prestaining – ISH denaturation	*D10	Desnaturalización durante 10 minutos.
Prestaining – ISH detection	*ISH Hybridization (12Hr)	Hibridación durante 12

- (1) No se trata de un protocolo predefinido. Para crear un protocolo nuevo, consulte la sección “Protocolos” de la documentación del usuario del sistema BOND.
- (2) La enzima 5 se deriva del Enzyme Concentrate 1 disponible en el BOND Enzyme Pretreatment Kit (AR9551). Consulte información más detallada en la sección “Solución de problemas”.

Patrones de las señales

La sonda TP53 (17p13) / SE 17 – XL for BOND puede utilizarse para detectar eliminaciones asociadas al gen TP53 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas usando los protocolos mostrados en la tabla 2.

La sonda TP53 (17p13) / SE 17 – XL for BOND se ha diseñado como ensayo bicromático para detectar traslocaciones de la región del gen TP53 en 17p13. El patrón normal de las señales presenta dos señales rojas y dos señales verdes (2R2G), mientras que una eliminación asociada al gen TP53 causa una señal roja y dos señales verdes.

Se recomienda realizar pruebas de seguimiento si se observan patrones atípicos.

	Patrón normal de las señales	Eliminación asociada al gen TP53 en 17p13
Patrón esperado	2R2G	1R2G

Exención de responsabilidad: El rendimiento de la sonda TP53 (17p13) / SE 17 – XL for BOND se ha establecido usando los procedimientos descritos en este folleto. Si se modifican estos procedimientos, se puede alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Almacenamiento y estabilidad

Proteja las sondas de la luz directa intensa.

Almacénese a una temperatura de 2 - 8 °C. El producto sin abrir se mantiene estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Vuelva a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C el reactivo no diluido inmediatamente tras el uso. El reactivo de la sonda diluido/mezclado almacenado en un contenedor

BOND se debe volver a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C tras haberlo procesado.

Tras la dilución de la sonda, las mezclas de sondas se mantienen estables durante 30 días. Una vez transcurrido este periodo, la mezcla diluida puede causar resultados incorrectos. No hay indicios evidentes que indiquen la contaminación y/o la inestabilidad de la sonda. El usuario debe verificar las condiciones de almacenamiento diferentes a las indicadas anteriormente.

Solución de problemas

Pretratamiento (sobredigestión): en las instrucciones de uso del BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551) se recomienda que se registre una dilución de 1 gota de Enzyme Concentrate 1 en 7 ml de Diluent como *Enzyme 1 en el software BOND.

Esta *Enzyme 1 puede ser demasiado potente para determinadas muestras cuando se usa en combinación con Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) y tiene como consecuencia un tejido digerido en exceso. Se recomienda realizar una dilución secundaria de *Enzyme 1 (una dilución de hasta 1:300) y un registro independiente del reactivo en el sistema BOND como *Enzyme 5 para evitar confusiones. Como alternativa, se puede usar una dilución directa de hasta 1:3000 del Enzyme concentrate 1 en lugar de la dilución sucesiva de *Enzyme 1.

Dilución de la sonda e intensidad de la señal: se recomienda una concentración final de la sonda 1 x, sin embargo, el equilibrio adecuado de la sonda depende de factores como la edad y la fijación del tejido, el protocolo de pretratamiento y las preferencias personales. Las concentraciones óptimas y las relaciones de la sonda pueden variar, y el usuario final las debe determinar de forma práctica.

Reactivo	Volumen usado (recomendado)	Ejemplo: reducir la potencia de la señal verde	
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml	Roja a 1 x:	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml	Verde a 0,5 x:	0,5 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml		8,5 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml		10 ml
Número de pruebas	hasta 40 pruebas		hasta 40 pruebas

Póngase en contacto con su distribuidor local o el Servicio de atención al cliente de la oficina regional de Leica Biosystems para comunicar cualquier tinción anormal.

Limitaciones específicas del producto

Los usuarios que se desvían de los procedimientos de prueba recomendados tienen que responsabilizarse de la interpretación de los resultados de los pacientes en estas circunstancias. Los tiempos de los protocolos pueden variar debido a las variaciones de los tipos de tejido, fijación y procesamiento. Además, es posible que la concentración y el tiempo de incubación de las enzimas BOND tengan que optimizarse en función del tipo de tejido y las condiciones de procesamiento y fijación.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la hibridación *in situ* con los reactivos BOND en la documentación del usuario del sistema BOND.

Advertencias y precauciones

- Este producto está diseñado exclusivamente para su uso diagnóstico *in vitro*.
- Exclusivamente para uso en laboratorio y por profesional cualificado
- Las sondas Kreatech FISH probes están diseñadas para su uso en sistemas BOND.
- No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Lleve prendas, guantes, gafas y protección para la cara adecuados.
- Las sondas Kreatech FISH probes contienen formamida y, por lo tanto, se deben registrar en el software BOND como residuos peligrosos.
- La formamida puede tener efectos adversos en la reproducción humana. Evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel no protegida. Si se produce contacto con la piel, lávese con agua abundante durante al menos 15 minutos.

ES

PELIGRO



FORMAMIDE

Indicación de peligro

H360D Puede dañar al feto.

Precauciones

P201 Pedir instrucciones especiales para su uso

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

P308+P313 en caso de exposición manifiesta o presunta:
consultar con un médico.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Desechar el contenido/recipiente en un vertedero autorizado de productos químicos o en el caso de contenido orgánico mediante incineración a alta temperatura.


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.F. 18341
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

- Consulte información más detallada en la hoja de datos de seguridad. Para obtener una copia de la hoja de datos de seguridad, póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems. Las hojas de datos de seguridad están disponibles en el sitio web de Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a estas, así como el volumen de sonda sobrante, se deben manipular como si fueran capaces de transmitir infecciones y desechar de acuerdo con las precauciones adecuadas.
- No pipetee nunca con la boca los reactivos y evite que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante. Consulte con un médico.
- Limpie inmediatamente las salpicaduras usando materiales desechables adecuados.
- Todos los materiales se deben eliminar de acuerdo a las normas locales.
- Los pasos de recuperación o los tiempos o las temperaturas de incubación diferentes a los indicados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *in situ* Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.1 - 13.
4. FISH on BOND User Guide (Guía del usuario para FISH en el sistema BOND).

Kreatech™ FISH probes

EGFR (7p11) / SE 7 (D7Z1)– XL for BOND

N.º de catálogo: KBI-XL011

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*

EGFR (7p11) / SE 7 (D7Z1) - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda EGFR (7p11) / SE 7 (D7Z1) - XL para BOND FISH detecta las amplificaciones genómicas que afectan al gen EGFR en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de CPCNP.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las sondas Kreatech FISH probes se utilizan para realizar un procedimiento de tinción mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) en tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina. Tras un pretratamiento adecuado, la

hibridación de las sondas Kreatech FISH probes y el lavado astringente tras la hibridación usando el BOND FISH kit, los cortes de tejidos se deben deshidratar y montar con DAPI manualmente. Los resultados se interpretan mediante microscopía de fluorescencia usando los filtros recomendados con las longitudes de onda adecuadas.

Reactivos proporcionados

Descripción del producto	N.º de producto	Volumen	Composición
EGFR (7p11) - XL	pKBI-XL011R	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN PlatinumBright™ 550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50%
SE 7 (D7Z1) - XL	pKBI-XL011G	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN PlatinumBright™ 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

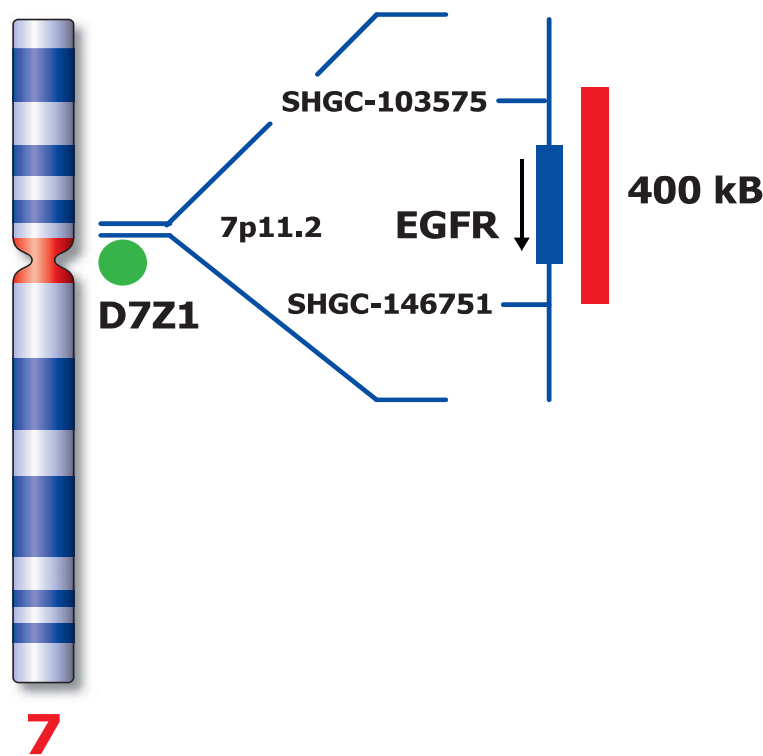
EGFR (7p11) - XL se ha optimizado para detectar los números de copias en la región del gen EGFR en 7p11.

SE 7 (D7Z1) se ha optimizado para detectar los números de copias de la región del centrómero del cromosoma 7.

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las

amplificaciones del gen EGFR en 7p11, con la sonda del centrómero como control.

Tabla 1: Mapas cromosómicos en los que se muestran el tamaño de las sondas en kilopares de bases (kB), la banda cromosómica y la posición genómica definida por los marcadores STS¹. La flecha situada junto al gen indica la dirección de transcripción del gen. En rojo EGFR (7p11). En verde SE 7 (D7Z1). Consulte el sitio web de Leica para obtener más información sobre los mapas cromosómicos.



ES

- 1) Los mapas y las ubicaciones se basan en UCSC genome browser, build GRCh37/hg19, Feb.2009.

Andrea Daou
 ANDREA DAOU
 DIRECTORA TÉCNICA
 M.P. 18941
 BIO-OPTIC SRL

Lucas M. Villegas
 LIC. LUCAS M. VILLEGAS
 SOCIO GERENTE

Material necesario que no se suministra

Consulte la sección “Uso de los reactivos BOND” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación *in situ* usando el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Además de los reactivos BOND genéricos, los reactivos siguientes son necesarios específicamente para el análisis del material del paciente adecuado con sondas Kreatech FISH probes en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

- BOND FISH kit (DS9636)

Las sondas Kreatech FISH probes se procesan en un sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III) en combinación con el BOND FISH kit (DS9636). El BOND FISH kit, en combinación con el *FISH Protocol D, instalado previamente en el sistema BOND con BDZ v62 o superior, es necesario para el procesamiento de FISH en el sistema BOND. Este protocolo se ha diseñado para el lavado tras la hibridación, con el fin de reducir la hibridación no específica de las sondas de ácido nucleico. El BOND FISH kit contiene el tampón de lavado tras la hibridación; un kit es suficiente para realizar 60 pruebas.

- BOND Hybridization solution (AR9037)

Las sondas se deben diluir a la concentración preferida usando la BOND Hybridization solution.

- BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551)

Es preciso realizar la digestión enzimática en combinación con un pretratamiento térmico para obtener resultados óptimos con FISH.

- DAPI (p. ej., LK-095A o LK-096A)

La contratinción DAPI no se lleva a cabo automáticamente como parte del protocolo FISH en el sistema BOND, por lo que se tiene que realizar manualmente usando la concentración preferida de DAPI counterstain / antifade.

Muestras

Las sondas Kreatech FISH probes se han analizado con tejidos FFPE con un grosor de ~ 5 µm. Para obtener resultados óptimos, los bloques y los portaobjetos cortados de tejidos se deben almacenar de acuerdo con las condiciones recomendadas de almacenamiento y manipulación. Consulte el sitio web de Leica.

El termoendurecimiento se puede realizar en el sistema BOND con el *Bake and Dewax protocol o bien por separado en un horno o una incubadora. La temperatura y el tiempo recomendados para el termoendurecimiento es de hasta 16 horas a 56 °C o de 60-120 minutos a 80 °C.

Instrucciones de uso: dilución y mezclado

Las sondas Kreatech FISH probes se suministran a una concentración 10 x y se deben combinar y diluir para obtener una concentración final 1 x usando BOND Hybridization solution (AR9037).


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Reactivo	Volumen usado (recomendado)
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml
N.º de pruebas	Hasta 40 pruebas

Tras la dilución de la sonda, la mezcla se debe transferir a un contenedor BOND adecuado (contenedor de titulación, contenedor abierto de 7 ml o contenedor abierto de 30 ml, dependiendo de los volúmenes preparados) y registrar como “DNA probe” en el sistema BOND.

Cuando prepare diluciones para la valoración, asegúrese de que obtiene cantidad suficiente para el volumen muerto del BOND Open Container adecuado (consulte los valores de la documentación del usuario del sistema BOND). El número exacto de pruebas de un vial depende del volumen muerto del contenedor usado y la calibración del sistema BOND.

Consulte en la sección “Solución de problemas” el uso de concentraciones finales diferentes a 1 x.

Consulte la sección “Gestión de reactivos” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener más información sobre el registro de reactivos nuevos en el sistema BOND (incluye los

sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Instrucciones de uso: pretratamiento y protocolos

Las sondas Kreatech FISH probes se han validado usando el BOND FISH kit, reactivos complementarios BOND y los protocolos predeterminados de pretratamiento y tinción BOND mostrados en la tabla 2. El protocolo final puede variar en función del tejido empleado por el usuario. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Tabla 2: protocolos para procesar las sondas Kreatech FISH probes

Parte del protocolo BOND	Nombre del protocolo	Tipo de protocolo
Staining – ISH Detection	*FISH Protocol D	Lavado tras la hibridación
Prestaining – Preparation	*Dewax	Eliminación de la parafina
Prestaining – Heat Pretreatment	HIER 25 min with ER2 (100) ⁽¹⁾	Pretratamiento térmico, Recuperación del epítipo
Prestaining – Enzyme Pretreatment	Enzyme 5 for 20 min ⁽²⁾	Digestión enzimática
Prestaining – ISH denaturation	*D10	Desnaturalización durante 10 minutos.
Prestaining – ISH detection	*ISH Hybridization (12Hr)	Hibridación durante 12

(1) No se trata de un protocolo predefinido. Para crear un protocolo nuevo, consulte la sección “Protocolos” de la documentación del usuario del sistema BOND.

(2) La enzima 5 se deriva del Enzyme Concentrate 1 disponible en el BOND Enzyme Pretreatment Kit (AR9551). Consulte información más detallada en la sección “Solución de problemas”.

Patrones de las señales

EGFR (7p11) / SE 7 (D7Z1) - XL para BOND puede usarse para detectar las amplificaciones que afectan al gen EGFR en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de CPCNP usando los protocolos de la tabla 2.

EGFR (7p11) / SE 7 (D7Z1) - XL para BOND se ha diseñado como un

ensayo de dos colores para detectar las amplificaciones de la región del gen EGFR en 7p11. El patrón de señal normal muestra dos señales rojas y dos verdes (2R2G), mientras que una amplificación que afecta al gen EGFR genera múltiples señales rojas y dos verdes (3+R2G). Se recomienda realizar pruebas de seguimiento si se observan patrones atípicos.

	Patrón normal de las señales	Amplificación asociada al gen EGFR en 7p11
Patrón esperado	2R2G	3+R2G

ES

Consulte las pautas locales o generales para la interpretación de patrones de señal distintos a los mostrados en la tabla.

Exención de responsabilidad: El rendimiento de la sonda EGFR (7p11) / SE 7 (D7Z1) – XL for BOND se ha establecido usando los procedimientos descritos en este folleto. Si se modifican estos procedimientos, se puede alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Almacenamiento y estabilidad

Proteja las sondas de la luz directa intensa.

Almacénese a una temperatura de 2 - 8 °C. El producto sin abrir se mantiene estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Vuelva a conservar a una temperatura


 ANDREA DAOU
 DIRECTORA TÉCNICA
 M.P. 18941
 BIO-OPTIC SRL


 LIC. LUCAS M. VILLEGAS
 SOCIO GERENTE

de 2 - 8 °C el reactivo no diluido inmediatamente tras el uso. El reactivo de la sonda diluido/mezclado almacenado en un contenedor BOND se debe volver a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C tras haberlo procesado.

Tras la dilución de la sonda, las mezclas de sondas se mantienen estables durante 30 días. Una vez transcurrido este periodo, la mezcla diluida puede causar resultados incorrectos. No hay indicios evidentes que indiquen la contaminación y/o la inestabilidad de la sonda. El usuario debe verificar las condiciones de almacenamiento diferentes a las indicadas anteriormente.

Solución de problemas

Pretratamiento (sobredigestión): en las instrucciones de uso del BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551) se recomienda que se registre una dilución de 1 gota de Enzyme Concentrate 1 en 7 ml de Diluent como *Enzyme 1 en el software BOND.

Esta *Enzyme 1 puede ser demasiado potente para determinadas muestras cuando se usa en combinación con Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) y tiene como consecuencia un tejido digerido en exceso. Se recomienda realizar una dilución secundaria de *Enzyme 1 (una dilución de hasta 1:300) y un registro independiente del reactivo en el sistema BOND como *Enzyme 5 para evitar confusiones. Como alternativa, se puede usar una dilución directa de hasta 1:3000 del Enzyme concentrate 1 en lugar de la dilución sucesiva de *Enzyme 1.

Dilución de la sonda e intensidad de la señal: se recomienda una

concentración final de la sonda 1 x, sin embargo, el equilibrio adecuado de la sonda depende de factores como la edad y la fijación del tejido, el protocolo de pretratamiento y las preferencias personales. Las concentraciones óptimas y las relaciones de la sonda pueden variar, y el usuario final las debe determinar de forma práctica.

Reactivo	Volumen usado (recomendado)	Ejemplo: reducir la potencia de la señal verde	
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml	Roja a 1 x:	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml	Verde a 0,5 x:	0,5 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml		8,5 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml		10 ml
Número de pruebas	hasta 40 pruebas		hasta 40 pruebas

ES

Póngase en contacto con su distribuidor local o el Servicio de atención al cliente de la oficina regional de Leica Biosystems para comunicar cualquier tinción anormal.

Limitaciones específicas del producto

Los usuarios que se desvían de los procedimientos de prueba recomendados tienen que responsabilizarse de la interpretación de los resultados de los pacientes en estas circunstancias. Los tiempos de los protocolos pueden variar debido a las variaciones de los tipos de tejido, fijación y procesamiento. Además, es posible que la concentración y el tiempo de incubación de las enzimas BOND tengan que optimizarse en función del tipo de tejido y las condiciones de procesamiento y fijación.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la hibridación *in situ* con los reactivos BOND en la documentación del usuario del sistema BOND.

Advertencias y precauciones

- Este producto está diseñado exclusivamente para su uso diagnóstico *in vitro*.
- Exclusivamente para uso en laboratorio y por profesional cualificado
- Las sondas Kreatech FISH probes están diseñadas para su uso en sistemas BOND.
- No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Lleve prendas, guantes, gafas y protección para la cara adecuados.

- Las sondas Kreatech FISH probes contienen formamida y, por lo tanto, se deben registrar en el software BOND como residuos peligrosos.
- La formamida puede tener efectos adversos en la reproducción humana. Evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel no protegida. Si se produce contacto con la piel, lávese con agua abundante durante al menos 15 minutos.

PELIGRO



FORMAMIDE

Indicación de peligro

H360D Puede dañar al feto.

Precauciones

P201 Pedir instrucciones especiales para su uso

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

P308+P313 en caso de exposición manifiesta o presunta:
consultar con un médico.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Desechar el contenido/recipiente en un vertedero autorizado de productos químicos o en el caso de contenido orgánico mediante incineración a alta temperatura.

- Consulte información más detallada en la hoja de datos de seguridad. Para obtener una copia de la hoja de datos de seguridad, póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems. Las hojas de datos de seguridad están disponibles en el sitio web de Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a estas, así como el volumen de sonda sobrante, se deben manipular como si fueran capaces de transmitir infecciones y desechar de acuerdo con las precauciones adecuadas.
- No pipetee nunca con la boca los reactivos y evite que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante. Consulte con un médico.
- Limpie inmediatamente las salpicaduras usando materiales desechables adecuados.
- Todos los materiales se deben eliminar de acuerdo a las normas locales.
- Los pasos de recuperación o los tiempos o las temperaturas de incubación diferentes a los indicados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *in situ* Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.1 - 13.
4. FISH on BOND User Guide (Guía del usuario para FISH en el sistema BOND).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Kreatech™ FISH probes

NTRK1 (1q23) Break– XL for BOND

N.º de catálogo: KBI-XL012

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*

NTRK1 (1q23) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda NTRK1 (1q23) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen NTRK1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de CPCNP.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las sondas Kreatech FISH probes se utilizan para realizar un procedimiento de tinción mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) en tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina. Tras un pretratamiento adecuado, la hibridación

de las sondas Kreatech FISH probes y el lavado astringente tras la hibridación usando el BOND FISH kit, los cortes de tejidos se deben deshidratar y montar con DAPI manualmente. Los resultados se interpretan mediante microscopía de fluorescencia usando los filtros recomendados con las longitudes de onda adecuadas.

Reactivos proporcionados

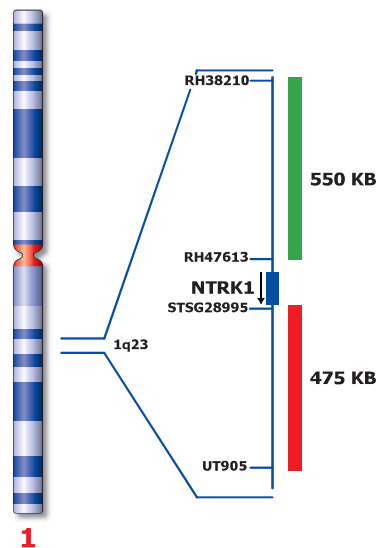
Descripción del producto	N.º de producto	Volumen	Composición
NTRK1 (1q23) Proximal - XL	pKBI-XL012G	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN PlatinumBright™ 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50%
NTRK1 (1q23) Distal - XL	pKBI-XL012R	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN PlatinumBright™ 550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

NTRK1 (1q23) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen NTRK1.

NTRK1 (1q23) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen NTRK1.

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las translocaciones que afectan al gen NTRK1 en 1q23.

Tabla 1: Mapas cromosómicos en los que se muestran el tamaño de las sondas en kilopares de bases (kB), la banda cromosómica y la posición genómica definida por los marcadores STS¹. La flecha situada junto al gen indica la dirección de transcripción del gen. En verde NTRK1 (1q23) Proximal - XL. En rojo NTRK1 (1q23) Distal - XL. Consulte el sitio web de Leica para obtener más información sobre los mapas cromosómicos.



ES

- 1) Los mapas y las ubicaciones se basan en UCSC genome browser, build GRCh37/hg19, Feb.2009.

Andrea Dadu
 ANDREA DADU
 DIRECTORA TÉCNICA
 M.P. 18941
 BIO-OPTIC SRL

Lucas M. Villegas
 LIC. LUCAS M. VILLEGAS
 SOCIO GERENTE

Material necesario que no se suministra

Consulte la sección “Uso de los reactivos BOND” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación *in situ* usando el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Además de los reactivos BOND genéricos, los reactivos siguientes son necesarios específicamente para el análisis del material del paciente adecuado con sondas Kreatech FISH probes en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

- BOND FISH kit (DS9636)

Las sondas Kreatech FISH probes se procesan en un sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III) en combinación con el BOND FISH kit (DS9636). El BOND FISH kit, en combinación con el *FISH Protocol D, instalado previamente en el sistema BOND con BDZ v62 o superior, es necesario para el procesamiento de FISH en el sistema BOND. Este protocolo se ha diseñado para el lavado tras la hibridación, con el fin de reducir la hibridación no específica de las sondas de ácido nucleico. El BOND FISH kit contiene el tampón de lavado tras la hibridación; un kit es suficiente para realizar 60 pruebas.

- BOND Hybridization solution (AR9037)

Las sondas se deben diluir a la concentración preferida usando la BOND Hybridization solution.

- BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551)

Es preciso realizar la digestión enzimática en combinación con un

pretratamiento térmico para obtener resultados óptimos con FISH.

- DAPI (p. ej., LK-095A o LK-096A)

La contratinción DAPI no se lleva a cabo automáticamente como parte del protocolo FISH en el sistema BOND, por lo que se tiene que realizar manualmente usando la concentración preferida de DAPI counterstain / antifade.

Muestras

Las sondas Kreatech FISH probes se han analizado con tejidos FFPE con un grosor de ~ 5 µm. Para obtener resultados óptimos, los bloques y los portaobjetos cortados de tejidos se deben almacenar de acuerdo con las condiciones recomendadas de almacenamiento y manipulación. Consulte el sitio web de Leica.

El termoendurecimiento se puede realizar en el sistema BOND con el *Bake and Dewax protocol o bien por separado en un horno o una incubadora. La temperatura y el tiempo recomendados para el termoendurecimiento es de hasta 16 horas a 56 °C o de 60-120 minutos a 80 °C.

Instrucciones de uso: dilución y mezclado

Las sondas Kreatech FISH probes se suministran a una concentración 10 x y se deben combinar y diluir para obtener una concentración final 1 x usando BOND Hybridization solution (AR9037).

Reactivo	Volumen usado (recomendado)
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml
N.º de pruebas	Hasta 40 pruebas

Tras la dilución de la sonda, la mezcla se debe transferir a un contenedor BOND adecuado (contenedor de titulación, contenedor abierto de 7 ml o contenedor abierto de 30 ml, dependiendo de los volúmenes preparados) y registrar como “DNA probe” en el sistema BOND.

Cuando prepare diluciones para la valoración, asegúrese de que obtiene cantidad suficiente para el volumen muerto del BOND Open Container adecuado (consulte los valores de la documentación del usuario del sistema BOND). El número exacto de pruebas de un vial depende del volumen muerto del contenedor usado y la calibración del sistema BOND.

Consulte en la sección “Solución de problemas” el uso de concentraciones finales diferentes a 1 x.

Consulte la sección “Gestión de reactivos” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener más información sobre el registro de reactivos nuevos en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Instrucciones de uso: pretratamiento y protocolos

Las sondas Kreatech FISH probes se han validado usando el BOND FISH kit, reactivos complementarios BOND y los protocolos predeterminados de pretratamiento y tinción BOND mostrados en la tabla 2. El protocolo final puede variar en función del tejido empleado por el usuario. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Tabla 2: protocolos para procesar las sondas Kreatech FISH probes

Parte del protocolo BOND	Nombre del protocolo	Tipo de protocolo
Staining – ISH Detection	*FISH Protocol D	Lavado tras la hibridación
Prestaining – Preparation	*Dewax	Eliminación de la parafina
Prestaining – Heat Pretreatment	HIER 25 min with ER2 (100) ⁽¹⁾	Pretratamiento térmico, Recuperación del epítipo
Prestaining – Enzyme Pretreatment	Enzyme 5 for 25 min ⁽²⁾	Digestión enzimática
Prestaining – ISH denaturation	*D10	Desnaturalización durante 10 minutos.
Prestaining – ISH detection	*ISH Hybridization (12Hr)	Hibridación durante 12

(1) No se trata de un protocolo predefinido. Para crear un protocolo nuevo, consulte la sección “Protocolos” de la documentación del usuario del sistema BOND.

(2) La enzima 5 se deriva del Enzyme Concentrate 1 disponible en el BOND Enzyme Pretreatment Kit (AR9551). Consulte información más detallada en la sección “Solución de problemas”.

Patrones de las señales

NTRK1 (1q23) Break - XL para BOND puede usarse para detectar las translocaciones que afectan al gen NTRK1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de CPCNP usando los protocolos de la tabla 2.

NTRK1 (1q23) Break - XL para BOND se ha diseñado como un ensayo

de dos colores para detectar las translocaciones de la región del gen NTRK1 en 1q23. El patrón de señal normal muestra dos señales de fusión rojas/verdes (2F), mientras que una translocación que afecta al gen NTRK1 genera una señal de fusión para el cromosoma 1 normal, y una señal roja y otra verde para la translocación (1F1R1G).

Se recomienda realizar pruebas de seguimiento si se observan patrones atípicos.

	Patrón normal de las señales	Traslocación asociada al gen NTRK1 en 1q23
Patrón esperado	2F	1F1R1G

ES

Consulte las pautas locales o generales para la interpretación de patrones de señal distintos a los mostrados en la tabla.

Exención de responsabilidad: El rendimiento de la sonda NTRK1 (1q23) Break – XL for BOND se ha establecido usando los procedimientos descritos en este folleto. Si se modifican estos procedimientos, se puede alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Almacenamiento y estabilidad

Proteja las sondas de la luz directa intensa.

Almacénese a una temperatura de 2 - 8 °C. El producto sin abrir se mantiene estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Vuelva a conservar a una temperatura


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

de 2 - 8 °C el reactivo no diluido inmediatamente tras el uso. El reactivo de la sonda diluido/mezclado almacenado en un contenedor BOND se debe volver a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C tras haberlo procesado.

Tras la dilución de la sonda, las mezclas de sondas se mantienen estables durante 30 días. Una vez transcurrido este periodo, la mezcla diluida puede causar resultados incorrectos. No hay indicios evidentes que indiquen la contaminación y/o la inestabilidad de la sonda. El usuario debe verificar las condiciones de almacenamiento diferentes a las indicadas anteriormente.

Solución de problemas

Pretratamiento (sobredigestión): en las instrucciones de uso del BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551) se recomienda que se registre una dilución de 1 gota de Enzyme Concentrate 1 en 7 ml de Diluent como *Enzyme 1 en el software BOND.

Esta *Enzyme 1 puede ser demasiado potente para determinadas muestras cuando se usa en combinación con Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) y tiene como consecuencia un tejido digerido en exceso. Se recomienda realizar una dilución secundaria de *Enzyme 1 (una dilución de hasta 1:300) y un registro independiente del reactivo en el sistema BOND como *Enzyme 5 para evitar confusiones. Como alternativa, se puede usar una dilución directa de hasta 1:3000 del Enzyme concentrate 1 en lugar de la dilución sucesiva de *Enzyme 1.

Dilución de la sonda e intensidad de la señal: se recomienda una

concentración final de la sonda 1 x, sin embargo, el equilibrio adecuado de la sonda depende de factores como la edad y la fijación del tejido, el protocolo de pretratamiento y las preferencias personales. Las concentraciones óptimas y las relaciones de la sonda pueden variar, y el usuario final las debe determinar de forma práctica.

Reactivo	Volumen usado (recomendado)	Ejemplo: reducir la potencia de la señal verde	
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml	Roja a 1 x:	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml	Verde a 0,5 x:	0,5 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml		8,5 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml		10 ml
Número de pruebas	hasta 40 pruebas		hasta 40 pruebas

ES

Póngase en contacto con su distribuidor local o el Servicio de atención al cliente de la oficina regional de Leica Biosystems para comunicar cualquier tinción anormal.


 ANDREA DAOU
 DIRECTORA TÉCNICA
 M.P. 18941
 BIO-OPTIC SRL


 LIC. LUCAS M. VILLEGAS
 SOCIO GERENTE

Limitaciones específicas del producto

Los usuarios que se desvían de los procedimientos de prueba recomendados tienen que responsabilizarse de la interpretación de los resultados de los pacientes en estas circunstancias. Los tiempos de los protocolos pueden variar debido a las variaciones de los tipos de tejido, fijación y procesamiento. Además, es posible que la concentración y el tiempo de incubación de las enzimas BOND tengan que optimizarse en función del tipo de tejido y las condiciones de procesamiento y fijación.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la hibridación *in situ* con los reactivos BOND en la documentación del usuario del sistema BOND.

Advertencias y precauciones

- Este producto está diseñado exclusivamente para su uso diagnóstico *in vitro*.
- Exclusivamente para uso en laboratorio y por profesional cualificado
- Las sondas Kreatech FISH probes están diseñadas para su uso en sistemas BOND.
- No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Lleve prendas, guantes, gafas y protección para la cara adecuados.
- Las sondas Kreatech FISH probes contienen formamida y, por

lo tanto, se deben registrar en el software BOND como residuos peligrosos.

- La formamida puede tener efectos adversos en la reproducción humana. Evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel no protegida. Si se produce contacto con la piel, lávese con agua abundante durante al menos 15 minutos.

PELIGRO



FORMAMIDE

Indicación de peligro

H360D Puede dañar al feto.

Precauciones

P201 Pedir instrucciones especiales para su uso

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

P308+P313 en caso de exposición manifiesta o presunta:
consultar con un médico.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Desechar el contenido/recipiente en un vertedero autorizado de productos químicos o en el caso de contenido orgánico mediante incineración a alta temperatura.

- Consulte información más detallada en la hoja de datos de seguridad. Para obtener una copia de la hoja de datos de seguridad, póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems. Las hojas de datos de seguridad están disponibles en el sitio web de Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a estas, así como el volumen de sonda sobrante, se deben manipular como si fueran capaces de transmitir infecciones y desechar de acuerdo con las precauciones adecuadas.
- No pipetee nunca con la boca los reactivos y evite que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante. Consulte con un médico.
- Limpie inmediatamente las salpicaduras usando materiales desechables adecuados.
- Todos los materiales se deben eliminar de acuerdo a las normas locales.
- Los pasos de recuperación o los tiempos o las temperaturas de incubación diferentes a los indicados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.

3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *in situ* Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.1 - 13.
4. FISH on BOND User Guide (Guía del usuario para FISH en el sistema BOND).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Kreatech™ FISH probes

CCND1 (11q13) Break– XL for BOND

N.º de catálogo: KBI-XL013

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*

CCND1 (11q13) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de linfoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda CCND1 (11q13) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen CCND1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de linfoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las sondas Kreatech FISH probes se utilizan para realizar un procedimiento de tinción mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) en tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina. Tras un pretratamiento adecuado, la hibridación de las sondas Kreatech FISH probes y el lavado astringente tras la

hibridación usando el BOND FISH kit, los cortes de tejidos se deben deshidratar y montar con DAPI manualmente. Los resultados se interpretan mediante microscopía de fluorescencia usando los filtros recomendados con las longitudes de onda adecuadas.

Reactivos proporcionados

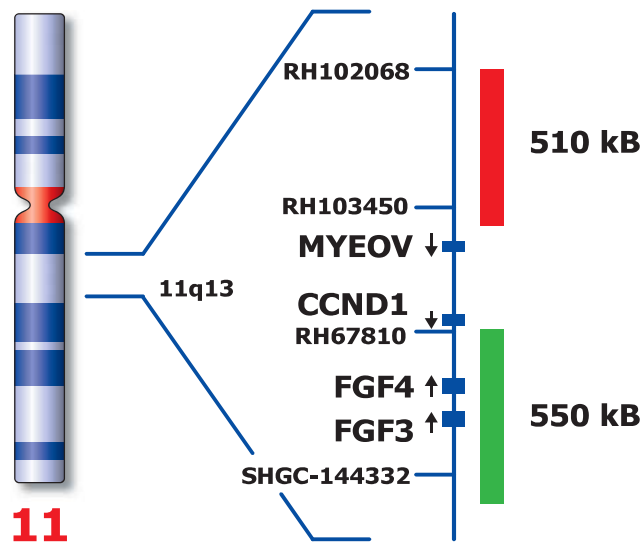
Descripción del producto	N.º de producto	Volumen	Composición
CCND1 (11q13) Distal - XL	pKBI-XL013G	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN PlatinumBright™ 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50%
CCND1 (11q13) Proximal - XL	pKBI-XL013R	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN PlatinumBright™ 550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

CCND1 (11q13) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen CCND1.

CCND1 (11q13) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen CCND1. Ambas sondas se usan en combinación para detectar las

translocaciones que afectan al gen CCND1 en 11q13.

Tabla 1: Mapas cromosómicos en los que se muestran el tamaño de las sondas en kilopares de bases (kB), la banda cromosómica y la posición genómica definida por los marcadores STS¹. La flecha situada junto al gen indica la dirección de transcripción del gen. En verde CCND1 (11q13) Distal - XL. En rojo CCND1 (11q13) Proximal - XL. Consulte el sitio web de Leica para obtener más información sobre los mapas cromosómicos.



- 1) Los mapas y las ubicaciones se basan en UCSC genome browser, build GRCh37/hg19, Feb.2009.

Material necesario que no se suministra

Consulte la sección “Uso de los reactivos BOND” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación *in situ* usando el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Además de los reactivos BOND genéricos, los reactivos siguientes son necesarios específicamente para el análisis del material del paciente adecuado con sondas Kreatech FISH probes en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

- BOND FISH kit (DS9636)

Las sondas Kreatech FISH probes se procesan en un sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III) en combinación con el BOND FISH kit (DS9636). El BOND FISH kit, en combinación con el *FISH Protocol D, instalado previamente en el sistema BOND con BDZ v62 o superior, es necesario para el procesamiento de FISH en el sistema BOND. Este protocolo se ha diseñado para el lavado tras la hibridación, con el fin de reducir la hibridación no específica de las sondas de ácido nucleico. El BOND FISH kit contiene el tampón de lavado tras la hibridación; un kit es suficiente para realizar 60 pruebas.

- BOND Hybridization solution (AR9037)

Las sondas se deben diluir a la concentración preferida usando la BOND Hybridization solution.

- BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551)

Es preciso realizar la digestión enzimática en combinación con un

pretratamiento térmico para obtener resultados óptimos con FISH.

- DAPI (p. ej., LK-095A o LK-096A)

La contratinción DAPI no se lleva a cabo automáticamente como parte del protocolo FISH en el sistema BOND, por lo que se tiene que realizar manualmente usando la concentración preferida de DAPI counterstain / antifade.

Muestras

Las sondas Kreatech FISH probes se han analizado con tejidos FFPE con un grosor de ~ 5 μm . Para obtener resultados óptimos, los bloques y los portaobjetos cortados de tejidos se deben almacenar de acuerdo con las condiciones recomendadas de almacenamiento y manipulación. Consulte el sitio web de Leica.

El termoendurecimiento se puede realizar en el sistema BOND con el *Bake and Dewax protocol o bien por separado en un horno o una incubadora. La temperatura y el tiempo recomendados para el termoendurecimiento es de hasta 16 horas a 56 °C o de 60-120 minutos a 80 °C.

Instrucciones de uso: dilución y mezclado

Las sondas Kreatech FISH probes se suministran a una concentración 10 x y se deben combinar y diluir para obtener una concentración final 1 x usando BOND Hybridization solution (AR9037).

Reactivo	Volumen usado (recomendado)
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml
N.º de pruebas	Hasta 40 pruebas

Tras la dilución de la sonda, la mezcla se debe transferir a un contenedor BOND adecuado (contenedor de titulación, contenedor abierto de 7 ml o contenedor abierto de 30 ml, dependiendo de los volúmenes preparados) y registrar como “DNA probe” en el sistema BOND.

Cuando prepare diluciones para la valoración, asegúrese de que obtiene cantidad suficiente para el volumen muerto del BOND Open Container adecuado (consulte los valores de la documentación del usuario del sistema BOND). El número exacto de pruebas de un vial depende del volumen muerto del contenedor usado y la calibración del sistema BOND.

Consulte en la sección “Solución de problemas” el uso de concentraciones finales diferentes a 1 x.

Consulte la sección “Gestión de reactivos” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener más información sobre el registro de reactivos nuevos en el sistema BOND (incluye los sistemas

BOND-MAX y BOND-III).

Instrucciones de uso: pretratamiento y protocolos

Las sondas Kreatech FISH probes se han validado usando el BOND FISH kit, reactivos complementarios BOND y los protocolos predeterminados de pretratamiento y tinción BOND mostrados en la tabla 2. El protocolo final puede variar en función del tejido empleado por el usuario. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

ES



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Tabla 2: protocolos para procesar las sondas Kreatech FISH probes

Parte del protocolo BOND	Nombre del protocolo	Tipo de protocolo
Staining – ISH Detection	*FISH Protocol D	Lavado tras la hibridación
Prestaining – Preparation	*Dewax	Eliminación de la parafina
Prestaining – Heat Pretreatment	HIER 25 min with ER2 (100) ⁽¹⁾	Pretratamiento térmico, Recuperación del epítipo
Prestaining – Enzyme Pretreatment	Enzyme 5 for 20 min ^(1, 2)	Digestión enzimática
Prestaining – ISH denaturation	*D10	Desnaturalización durante 10 minutos.
Prestaining – ISH detection	*ISH Hybridization (12Hr)	Hibridación durante 12

- (1) No se trata de un protocolo predefinido. Para crear un protocolo nuevo, consulte la sección “Protocolos” de la documentación del usuario del sistema BOND.
- (2) La enzima 5 se deriva del Enzyme Concentrate 1 disponible en el BOND Enzyme Pretreatment Kit (AR9551). Consulte información más detallada en la sección “Solución de problemas”.

Patrones de las señales

CCND1 (11q13) Break - XL para BOND puede usarse para detectar las translocaciones que afectan al gen CCND1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de linfoma usando los protocolos de la tabla 2.

CCND1 (11q13) Break - XL para BOND se ha diseñado como un ensayo

de dos colores para detectar las translocaciones de la región del gen CCND1 en 11q13. El patrón de señal normal muestra dos señales de fusión rojas/verdes (2F), mientras que una translocación que afecta al gen CCND1 genera una señal de fusión para el cromosoma 11 normal, y una señal roja y otra verde para la translocación (1F1R1G).

Se recomienda realizar pruebas de seguimiento si se observan patrones atípicos.

	Patrón normal de las señales	Traslocación asociada al gen CCND1 en 11q13
Patrón esperado	2F	1F1R1G

ES

Consulte las pautas locales o generales para la interpretación de patrones de señal distintos a los mostrados en la tabla.

Exención de responsabilidad: El rendimiento de la sonda CCND1 (11q13) Break – XL for BOND se ha establecido usando los procedimientos descritos en este folleto. Si se modifican estos procedimientos, se puede alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Almacenamiento y estabilidad

Proteja las sondas de la luz directa intensa.

Almacénese a una temperatura de 2 - 8 °C. El producto sin abrir se mantiene estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

indicada en la etiqueta del vial. Vuelva a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C el reactivo no diluido inmediatamente tras el uso. El reactivo de la sonda diluido/mezclado almacenado en un contenedor BOND se debe volver a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C tras haberlo procesado.

Tras la dilución de la sonda, las mezclas de sondas se mantienen estables durante 30 días. Una vez transcurrido este periodo, la mezcla diluida puede causar resultados incorrectos. No hay indicios evidentes que indiquen la contaminación y/o la inestabilidad de la sonda. El usuario debe verificar las condiciones de almacenamiento diferentes a las indicadas anteriormente.

Solución de problemas

Pretratamiento (sobredigestión): en las instrucciones de uso del BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551) se recomienda que se registre una dilución de 1 gota de Enzyme Concentrate 1 en 7 ml de Diluent como *Enzyme 1 en el software BOND.

Esta *Enzyme 1 puede ser demasiado potente para determinadas muestras cuando se usa en combinación con Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) y tiene como consecuencia un tejido digerido en exceso. Se recomienda realizar una dilución secundaria de *Enzyme 1 (una dilución de hasta 1:300) y un registro independiente del reactivo en el sistema BOND como *Enzyme 5 para evitar confusiones. Como alternativa, se puede usar una dilución directa de hasta 1:3000 del Enzyme concentrate 1 en lugar de la dilución sucesiva de *Enzyme 1.

Dilución de la sonda e intensidad de la señal: se recomienda una concentración final de la sonda 1 x, sin embargo, el equilibrio adecuado de la sonda depende de factores como la edad y la fijación del tejido, el protocolo de pretratamiento y las preferencias personales. Las concentraciones óptimas y las relaciones de la sonda pueden variar, y el usuario final las debe determinar de forma práctica.

Reactivo	Volumen usado (recomendado)	Ejemplo: reducir la potencia de la señal verde	
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml	Roja a 1 x:	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml	Verde a 0,5 x:	0,5 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml		8,5 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml		10 ml
Número de pruebas	hasta 40 pruebas		hasta 40 pruebas

ES

Póngase en contacto con su distribuidor local o el Servicio de atención al cliente de la oficina regional de Leica Biosystems para comunicar cualquier tinción anormal.


 ANDREA DAOU
 DIRECTORA TÉCNICA
 M.P. 18941
 BIO-OPTIC SRL


 LIC. LUCAS M. VILLEGAS
 SOCIO GERENTE

Limitaciones específicas del producto

Los usuarios que se desvían de los procedimientos de prueba recomendados tienen que responsabilizarse de la interpretación de los resultados de los pacientes en estas circunstancias. Los tiempos de los protocolos pueden variar debido a las variaciones de los tipos de tejido, fijación y procesamiento. Además, es posible que la concentración y el tiempo de incubación de las enzimas BOND tengan que optimizarse en función del tipo de tejido y las condiciones de procesamiento y fijación.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la hibridación *in situ* con los reactivos BOND en la documentación del usuario del sistema BOND.

Advertencias y precauciones

- Este producto está diseñado exclusivamente para su uso diagnóstico *in vitro*.
- Exclusivamente para uso en laboratorio y por profesional cualificado
- Las sondas Kreatech FISH probes están diseñadas para su uso en sistemas BOND.
- No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Lleve prendas, guantes, gafas y protección para la cara adecuados.
- Las sondas Kreatech FISH probes contienen formamida y, por

lo tanto, se deben registrar en el software BOND como residuos peligrosos.

- La formamida puede tener efectos adversos en la reproducción humana. Evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel no protegida. Si se produce contacto con la piel, lávese con agua abundante durante al menos 15 minutos.

PELIGRO



FORMAMIDE

Indicación de peligro

H360D Puede dañar al feto.

Precauciones

P201 Pedir instrucciones especiales para su uso

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

P308+P313 en caso de exposición manifiesta o presunta:
consultar con un médico.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Desechar el contenido/recipiente en un vertedero autorizado de productos químicos o en el caso de contenido orgánico mediante incineración a alta temperatura.

- Consulte información más detallada en la hoja de datos de seguridad. Para obtener una copia de la hoja de datos de seguridad, póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems. Las hojas de datos de seguridad están disponibles en el sitio web de Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a estas, así como el volumen de sonda sobrante, se deben manipular como si fueran capaces de transmitir infecciones y desechar de acuerdo con las precauciones adecuadas.
- No pipetee nunca con la boca los reactivos y evite que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante. Consulte con un médico.
- Limpie inmediatamente las salpicaduras usando materiales desechables adecuados.
- Todos los materiales se deben eliminar de acuerdo a las normas locales.
- Los pasos de recuperación o los tiempos o las temperaturas de incubación diferentes a los indicados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.

3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *in situ* Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.1 - 13.
4. FISH on BOND User Guide (Guía del usuario para FISH en el sistema BOND).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Kreatech™ FISH probes

MDM2 (12q15) / SE 12 (D12Z3)– XL for BOND

N.º de catálogo: KBI-XL014

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*

MDM2 (12q15) / SE 12 (D12Z3) - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de sarcoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda MDM2 (12q15) / SE 12 (D12Z3) - XL para BOND FISH detecta las amplificaciones genómicas que afectan al gen MDM2 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las sondas Kreatech FISH probes se utilizan para realizar un procedimiento de tinción mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) en tejidos embebidos en parafina y

fijados con formalina. Tras un pretratamiento adecuado, la hibridación de las sondas Kreatech FISH probes y el lavado astringente tras la hibridación usando el BOND FISH kit, los cortes de tejidos se deben deshidratar y montar con DAPI manualmente. Los resultados se interpretan mediante microscopía de fluorescencia usando los filtros recomendados con las longitudes de onda adecuadas.

Reactivos proporcionados

Descripción del producto	N.º de producto	Volumen	Composición
MDM2 (12q15) – XL	pKBI-XL014R	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN PlatinumBright™ 550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50%
SE 12 (D12Z3) – XL	pKBI-XL014G	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN PlatinumBright™ 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

MDM2 (12q15) - XL se ha optimizado para detectar los números de copias en la región del gen MDM2 en 12q15.

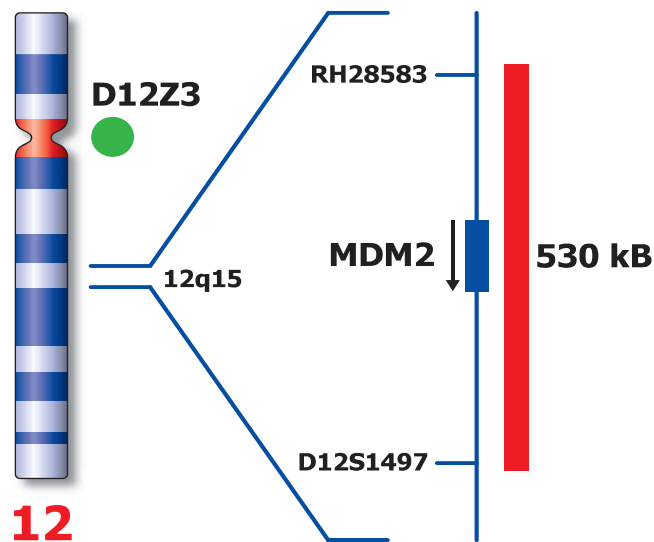
SE 12 (D12Z3) se ha optimizado para detectar los números de copias de la región del centrómero del cromosoma 12.


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18342
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las amplificaciones del gen MDM2 en 12q15, con la sonda del centrómero como control.

Tabla 1: Mapas cromosómicos en los que se muestran el tamaño de las sondas en kilopares de bases (kB), la banda cromosómica y la posición genómica definida por los marcadores STS¹. La flecha situada junto al gen indica la dirección de transcripción del gen. En rojo MDM2 (12q15) - XL. En verde SE 12 (D12Z3) - XL. Consulte el sitio web de Leica para obtener más información sobre los mapas cromosómicos.



ES

- 1) Los mapas y las ubicaciones se basan en UCSC genome browser, build GRCh37/hg19, Feb.2009.

Material necesario que no se suministra

Consulte la sección “Uso de los reactivos BOND” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación *in situ* usando el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Además de los reactivos BOND genéricos, los reactivos siguientes son necesarios específicamente para el análisis del material del paciente adecuado con sondas Kreatech FISH probes en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

- BOND FISH kit (DS9636)

Las sondas Kreatech FISH probes se procesan en un sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III) en combinación con el BOND FISH kit (DS9636). El BOND FISH kit, en combinación con el *FISH Protocol D, instalado previamente en el sistema BOND con BDZ v62 o superior, es necesario para el procesamiento de FISH en el sistema BOND. Este protocolo se ha diseñado para el lavado tras la hibridación, con el fin de reducir la hibridación no específica de las sondas de ácido nucleico. El BOND FISH kit contiene el tampón de lavado tras la hibridación; un kit es suficiente para realizar 60 pruebas.

- BOND Hybridization solution (AR9037)

Las sondas se deben diluir a la concentración preferida usando la BOND Hybridization solution.

- BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551)

Es preciso realizar la digestión enzimática en combinación con un

pretratamiento térmico para obtener resultados óptimos con FISH.

- DAPI (p. ej., LK-095A o LK-096A)

La contratinción DAPI no se lleva a cabo automáticamente como parte del protocolo FISH en el sistema BOND, por lo que se tiene que realizar manualmente usando la concentración preferida de DAPI counterstain / antifade.

Muestras

Las sondas Kreatech FISH probes se han analizado con tejidos FFPE con un grosor de ~ 5 μm . Para obtener resultados óptimos, los bloques y los portaobjetos cortados de tejidos se deben almacenar de acuerdo con las condiciones recomendadas de almacenamiento y manipulación. Consulte el sitio web de Leica.

El termoendurecimiento se puede realizar en el sistema BOND con el *Bake and Dewax protocol o bien por separado en un horno o una incubadora. La temperatura y el tiempo recomendados para el termoendurecimiento es de hasta 16 horas a 56 °C o de 60-120 minutos a 80 °C.

Instrucciones de uso: dilución y mezclado

Las sondas Kreatech FISH probes se suministran a una concentración 10 x y se deben combinar y diluir para obtener una concentración final 1 x usando BOND Hybridization solution (AR9037).

Reactivo	Volumen usado (recomendado)
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml
N.º de pruebas	Hasta 40 pruebas

Tras la dilución de la sonda, la mezcla se debe transferir a un contenedor BOND adecuado (contenedor de titulación, contenedor abierto de 7 ml o contenedor abierto de 30 ml, dependiendo de los volúmenes preparados) y registrar como “DNA probe” en el sistema BOND.

Cuando prepare diluciones para la valoración, asegúrese de que obtiene cantidad suficiente para el volumen muerto del BOND Open Container adecuado (consulte los valores de la documentación del usuario del sistema BOND). El número exacto de pruebas de un vial depende del volumen muerto del contenedor usado y la calibración del sistema BOND.

Consulte en la sección “Solución de problemas” el uso de concentraciones finales diferentes a 1 x.

Consulte la sección “Gestión de reactivos” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener más información sobre el registro de reactivos nuevos en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Instrucciones de uso: pretratamiento y protocolos

Las sondas Kreatech FISH probes se han validado usando el BOND FISH kit, reactivos complementarios BOND y los protocolos predeterminados de pretratamiento y tinción BOND mostrados en la tabla 2. El protocolo final puede variar en función del tejido empleado por el usuario. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Tabla 2: protocolos para procesar las sondas Kreatech FISH probes

Parte del protocolo BOND	Nombre del protocolo	Tipo de protocolo
Staining – ISH Detection	*FISH Protocol D	Lavado tras la hibridación
Prestaining – Preparation	*Dewax	Eliminación de la parafina
Prestaining – Heat Pretreatment	HIER 25 min with ER2 (100) ⁽¹⁾	Pretratamiento térmico, Recuperación del epítipo
Prestaining – Enzyme Pretreatment	Enzyme 5 for 35 min ⁽²⁾	Digestión enzimática
Prestaining – ISH denaturation	*D10	Desnaturalización durante 10 minutos.
Prestaining – ISH detection	*ISH Hybridization (12Hr)	Hibridación durante 12

(1) No se trata de un protocolo predefinido. Para crear un protocolo nuevo, consulte la sección “Protocolos” de la documentación del usuario del sistema BOND.

(2) La enzima 5 se deriva del Enzyme Concentrate 1 disponible en el BOND Enzyme Pretreatment Kit (AR9551). Consulte información más detallada en la sección “Solución de problemas”.

Patrones de las señales

MDM2 (12q15) / SE 12 (D12Z3) - XL para BOND puede usarse para detectar las amplificaciones que afectan al gen MDM2 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma usando los protocolos de la tabla 2.

MDM2 (12q15) / SE 12 (D12Z3) - XL para BOND se ha diseñado

como un ensayo de dos colores para detectar las amplificaciones de la región del gen MDM2 en 12q15. El patrón de señal normal muestra dos señales rojas y dos verdes (2R2G), mientras que una amplificación que afecta al gen MDM2 genera múltiples señales rojas y dos verdes (3+R2G).

Se recomienda realizar pruebas de seguimiento si se observan patrones atípicos.

	Patrón normal de las señales	Amplificación asociada al gen MDM2 en 12q15
Patrón esperado	2R2G	3+R2G

ES

Consulte las pautas locales o generales para la interpretación de patrones de señal distintos a los mostrados en la tabla.

Exención de responsabilidad: El rendimiento de la sonda MDM2 (12q15) / SE 12 (D12Z3) – XL for BOND se ha establecido usando los procedimientos descritos en este folleto. Si se modifican estos procedimientos, se puede alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Almacenamiento y estabilidad

Proteja las sondas de la luz directa intensa.

Almacénese a una temperatura de 2 - 8 °C. El producto sin abrir se mantiene estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

indicada en la etiqueta del vial. Vuelva a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C el reactivo no diluido inmediatamente tras el uso. El reactivo de la sonda diluido/mezclado almacenado en un contenedor BOND se debe volver a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C tras haberlo procesado.

Tras la dilución de la sonda, las mezclas de sondas se mantienen estables durante 30 días. Una vez transcurrido este periodo, la mezcla diluida puede causar resultados incorrectos. No hay indicios evidentes que indiquen la contaminación y/o la inestabilidad de la sonda. El usuario debe verificar las condiciones de almacenamiento diferentes a las indicadas anteriormente.

Solución de problemas

Pretratamiento (sobredigestión): en las instrucciones de uso del BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551) se recomienda que se registre una dilución de 1 gota de Enzyme Concentrate 1 en 7 ml de Diluent como *Enzyme 1 en el software BOND.

Esta *Enzyme 1 puede ser demasiado potente para determinadas muestras cuando se usa en combinación con Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) y tiene como consecuencia un tejido digerido en exceso. Se recomienda realizar una dilución secundaria de *Enzyme 1 (una dilución de hasta 1:300) y un registro independiente del reactivo en el sistema BOND como *Enzyme 5 para evitar confusiones. Como alternativa, se puede usar una dilución directa de hasta 1:3000 del Enzyme concentrate 1 en lugar de la dilución sucesiva de *Enzyme 1.

Dilución de la sonda e intensidad de la señal: se recomienda una concentración final de la sonda 1 x, sin embargo, el equilibrio adecuado de la sonda depende de factores como la edad y la fijación del tejido, el protocolo de pretratamiento y las preferencias personales. Las concentraciones óptimas y las relaciones de la sonda pueden variar, y el usuario final las debe determinar de forma práctica.

Reactivo	Volumen usado (recomendado)	Ejemplo: reducir la potencia de la señal verde	
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml	Roja a 1 x:	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml	Verde a 0,5 x:	0,5 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml		8,5 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml		10 ml
Número de pruebas	hasta 40 pruebas		hasta 40 pruebas

ES

Póngase en contacto con su distribuidor local o el Servicio de atención al cliente de la oficina regional de Leica Biosystems para comunicar cualquier tinción anormal.


 ANDREA DAOU
 DIRECTORA TÉCNICA
 M.P. 18941
 BIO-OPTIC SRL


 LIC. LUCAS M. VILLEGAS
 SOCIO GERENTE

Limitaciones específicas del producto

Los usuarios que se desvían de los procedimientos de prueba recomendados tienen que responsabilizarse de la interpretación de los resultados de los pacientes en estas circunstancias. Los tiempos de los protocolos pueden variar debido a las variaciones de los tipos de tejido, fijación y procesamiento. Además, es posible que la concentración y el tiempo de incubación de las enzimas BOND tengan que optimizarse en función del tipo de tejido y las condiciones de procesamiento y fijación.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la hibridación *in situ* con los reactivos BOND en la documentación del usuario del sistema BOND.

Advertencias y precauciones

- Este producto está diseñado exclusivamente para su uso diagnóstico *in vitro*.
- Exclusivamente para uso en laboratorio y por profesional cualificado
- Las sondas Kreatech FISH probes están diseñadas para su uso en sistemas BOND.
- No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Lleve prendas, guantes, gafas y protección para la cara adecuados.

- Las sondas Kreatech FISH probes contienen formamida y, por lo tanto, se deben registrar en el software BOND como residuos peligrosos.
- La formamida puede tener efectos adversos en la reproducción humana. Evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel no protegida. Si se produce contacto con la piel, lávese con agua abundante durante al menos 15 minutos.

PELIGRO



FORMAMIDE

Indicación de peligro

H360D Puede dañar al feto.

Precauciones

P201 Pedir instrucciones especiales para su uso

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

P308+P313 en caso de exposición manifiesta o presunta:
consultar con un médico.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Desechar el contenido/recipiente en un vertedero autorizado de productos químicos o en el caso de contenido orgánico mediante incineración a alta temperatura.

- Consulte información más detallada en la hoja de datos de seguridad. Para obtener una copia de la hoja de datos de seguridad, póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems. Las hojas de datos de seguridad están disponibles en el sitio web de Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a estas, así como el volumen de sonda sobrante, se deben manipular como si fueran capaces de transmitir infecciones y desechar de acuerdo con las precauciones adecuadas.
- No pipetee nunca con la boca los reactivos y evite que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante. Consulte con un médico.
- Limpie inmediatamente las salpicaduras usando materiales desechables adecuados.
- Todos los materiales se deben eliminar de acuerdo a las normas locales.
- Los pasos de recuperación o los tiempos o las temperaturas de incubación diferentes a los indicados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *in situ* Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.1 - 13.
4. FISH on BOND User Guide (Guía del usuario para FISH en el sistema BOND).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Kreatech™ FISH probes

DDIT3 (12q13) Break– XL for BOND

N.º de catálogo: KBI-XL015

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*

DDIT3 (12q13) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de sarcoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda DDIT3 (12q13) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen DDIT3 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las sondas Kreatech FISH probes se utilizan para realizar un procedimiento de tinción mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) en tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina. Tras un pretratamiento adecuado, la hibridación de las sondas Kreatech FISH probes y el lavado astringente tras la

hibridación usando el BOND FISH kit, los cortes de tejidos se deben deshidratar y montar con DAPI manualmente. Los resultados se interpretan mediante microscopía de fluorescencia usando los filtros recomendados con las longitudes de onda adecuadas.

Reactivos proporcionados

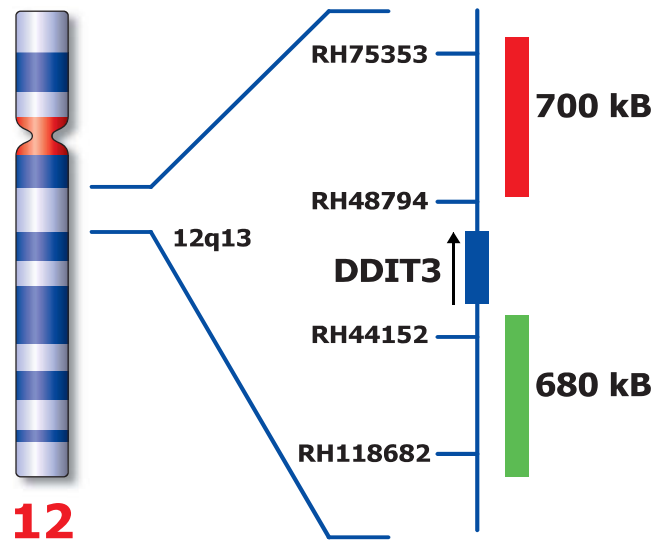
Descripción del producto	N.º de producto	Volumen	Composición
DDIT3 (12q13) Proximal - XL	pKBI-XL015R	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN PlatinumBright™ 550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50%
DDIT3 (12q13) Distal - XL	pKBI-XL015G	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN PlatinumBright™ 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

DDIT3 (12q13) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen DDIT3.

DDIT3 (12q13) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen DDIT3. Ambas sondas se usan en combinación para detectar las

translocaciones que afectan al gen DDIT3 en 12q13.

Tabla 1: Mapas cromosómicos en los que se muestran el tamaño de las sondas en kilopares de bases (kB), la banda cromosómica y la posición genómica definida por los marcadores STS¹. La flecha situada junto al gen indica la dirección de transcripción del gen. En verde DDIT3 (12q13) Distal-XL. En rojo DDIT3 (12q13) Proximal-XL. Consulte el sitio web de Leica para obtener más información sobre los mapas cromosómicos.



- 1) Los mapas y las ubicaciones se basan en UCSC genome browser, build GRCh37/hg19, Feb.2009.

Material necesario que no se suministra

Consulte la sección “Uso de los reactivos BOND” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación *in situ* usando el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Además de los reactivos BOND genéricos, los reactivos siguientes son necesarios específicamente para el análisis del material del paciente adecuado con sondas Kreatech FISH probes en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

- BOND FISH kit (DS9636)

Las sondas Kreatech FISH probes se procesan en un sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III) en combinación con el BOND FISH kit (DS9636). El BOND FISH kit, en combinación con el *FISH Protocol D, instalado previamente en el sistema BOND con BDZ v62 o superior, es necesario para el procesamiento de FISH en el sistema BOND. Este protocolo se ha diseñado para el lavado tras la hibridación, con el fin de reducir la hibridación no específica de las sondas de ácido nucleico. El BOND FISH kit contiene el tampón de lavado tras la hibridación; un kit es suficiente para realizar 60 pruebas.

- BOND Hybridization solution (AR9037)

Las sondas se deben diluir a la concentración preferida usando la BOND Hybridization solution.

- BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551)

Es preciso realizar la digestión enzimática en combinación con un

pretratamiento térmico para obtener resultados óptimos con FISH.

- DAPI (p. ej., LK-095A o LK-096A)

La contratinción DAPI no se lleva a cabo automáticamente como parte del protocolo FISH en el sistema BOND, por lo que se tiene que realizar manualmente usando la concentración preferida de DAPI counterstain / antifade.

Muestras

Las sondas Kreatech FISH probes se han analizado con tejidos FFPE con un grosor de ~ 5 µm. Para obtener resultados óptimos, los bloques y los portaobjetos cortados de tejidos se deben almacenar de acuerdo con las condiciones recomendadas de almacenamiento y manipulación. Consulte el sitio web de Leica.

El termoendurecimiento se puede realizar en el sistema BOND con el *Bake and Dewax protocol o bien por separado en un horno o una incubadora. La temperatura y el tiempo recomendados para el termoendurecimiento es de hasta 16 horas a 56 °C o de 60-120 minutos a 80 °C.

Instrucciones de uso: dilución y mezclado

Las sondas Kreatech FISH probes se suministran a una concentración 10 x y se deben combinar y diluir para obtener una concentración final 1 x usando BOND Hybridization solution (AR9037).

Reactivo	Volumen usado (recomendado)
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml
N.º de pruebas	Hasta 40 pruebas

Tras la dilución de la sonda, la mezcla se debe transferir a un contenedor BOND adecuado (contenedor de titulación, contenedor abierto de 7 ml o contenedor abierto de 30 ml, dependiendo de los volúmenes preparados) y registrar como “DNA probe” en el sistema BOND.

Cuando prepare diluciones para la valoración, asegúrese de que obtiene cantidad suficiente para el volumen muerto del BOND Open Container adecuado (consulte los valores de la documentación del usuario del sistema BOND). El número exacto de pruebas de un vial depende del volumen muerto del contenedor usado y la calibración del sistema BOND.

Consulte en la sección “Solución de problemas” el uso de concentraciones finales diferentes a 1 x.

Consulte la sección “Gestión de reactivos” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener más información sobre el registro de reactivos nuevos en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Instrucciones de uso: pretratamiento y protocolos

Las sondas Kreatech FISH probes se han validado usando el BOND FISH kit, reactivos complementarios BOND y los protocolos predeterminados de pretratamiento y tinción BOND mostrados en la tabla 2. El protocolo final puede variar en función del tejido empleado por el usuario. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Tabla 2: protocolos para procesar las sondas Kreatech FISH probes

Parte del protocolo BOND	Nombre del protocolo	Tipo de protocolo
Staining – ISH Detection	*FISH Protocol D	Lavado tras la hibridación
Prestaining – Preparation	*Dewax	Eliminación de la parafina
Prestaining – Heat Pretreatment	HIER 25 min with ER2 (100) ⁽¹⁾	Pretratamiento térmico, Recuperación del epítipo
Prestaining – Enzyme Pretreatment	Enzyme 5 for 35 min ⁽²⁾	Digestión enzimática
Prestaining – ISH denaturation	*D10	Desnaturalización durante 10 minutos.
Prestaining – ISH detection	*ISH Hybridization (12Hr)	Hibridación durante 12

(1) No se trata de un protocolo predefinido. Para crear un protocolo nuevo, consulte la sección “Protocolos” de la documentación del usuario del sistema BOND.

(2) La enzima 5 se deriva del Enzyme Concentrate 1 disponible en el BOND Enzyme Pretreatment Kit (AR9551). Consulte información más detallada en la sección “Solución de problemas”.

Patrones de las señales

DDIT3 (12q13) Break - XL para BOND puede usarse para detectar las translocaciones que afectan al gen DDIT3 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma usando los protocolos de la tabla 2.

DDIT3 (12q13) Break - XL para BOND se ha diseñado como un ensayo

de dos colores para detectar las translocaciones de la región del gen DDIT3 en 12q13. El patrón de señal normal muestra dos señales de fusión rojas/verdes (2F), mientras que una translocación que afecta al gen DDIT3 genera una señal de fusión para el cromosoma 12 normal, y una señal roja y otra verde para la translocación (1F1R1G).

Se recomienda realizar pruebas de seguimiento si se observan patrones atípicos.

	Patrón normal de las señales	Traslocación asociada al gen DDIT3 en 12q13
Patrón esperado	2F	1F1R1G

ES

Consulte las pautas locales o generales para la interpretación de patrones de señal distintos a los mostrados en la tabla.

Exención de responsabilidad: El rendimiento de la sonda DDIT3 (12q13) Break – XL for BOND se ha establecido usando los procedimientos descritos en este folleto. Si se modifican estos procedimientos, se puede alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Almacenamiento y estabilidad

Proteja las sondas de la luz directa intensa.

Almacénese a una temperatura de 2 - 8 °C. El producto sin abrir se mantiene estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Vuelva a conservar a una temperatura


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

de 2 - 8 °C el reactivo no diluido inmediatamente tras el uso. El reactivo de la sonda diluido/mezclado almacenado en un contenedor BOND se debe volver a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C tras haberlo procesado.

Tras la dilución de la sonda, las mezclas de sondas se mantienen estables durante 30 días. Una vez transcurrido este periodo, la mezcla diluida puede causar resultados incorrectos. No hay indicios evidentes que indiquen la contaminación y/o la inestabilidad de la sonda. El usuario debe verificar las condiciones de almacenamiento diferentes a las indicadas anteriormente.

Solución de problemas

Pretratamiento (sobredigestión): en las instrucciones de uso del BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551) se recomienda que se registre una dilución de 1 gota de Enzyme Concentrate 1 en 7 ml de Diluent como *Enzyme 1 en el software BOND.

Esta *Enzyme 1 puede ser demasiado potente para determinadas muestras cuando se usa en combinación con Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) y tiene como consecuencia un tejido digerido en exceso. Se recomienda realizar una dilución secundaria de *Enzyme 1 (una dilución de hasta 1:300) y un registro independiente del reactivo en el sistema BOND como *Enzyme 5 para evitar confusiones. Como alternativa, se puede usar una dilución directa de hasta 1:3000 del Enzyme concentrate 1 en lugar de la dilución sucesiva de *Enzyme 1.

Dilución de la sonda e intensidad de la señal: se recomienda una

concentración final de la sonda 1 x, sin embargo, el equilibrio adecuado de la sonda depende de factores como la edad y la fijación del tejido, el protocolo de pretratamiento y las preferencias personales. Las concentraciones óptimas y las relaciones de la sonda pueden variar, y el usuario final las debe determinar de forma práctica.

Reactivo	Volumen usado (recomendado)	Ejemplo: reducir la potencia de la señal verde	
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml	Roja a 1 x:	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml	Verde a 0,5 x:	0,5 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml		8,5 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml		10 ml
Número de pruebas	hasta 40 pruebas		hasta 40 pruebas

ES

Póngase en contacto con su distribuidor local o el Servicio de atención al cliente de la oficina regional de Leica Biosystems para comunicar cualquier tinción anormal.


 ANDREA DAOU
 DIRECTORA TÉCNICA
 M.P. 18941
 BIO-OPTIC SRL


 LIC. LUCAS M. VILLEGAS
 SOCIO GERENTE

Limitaciones específicas del producto

Los usuarios que se desvían de los procedimientos de prueba recomendados tienen que responsabilizarse de la interpretación de los resultados de los pacientes en estas circunstancias. Los tiempos de los protocolos pueden variar debido a las variaciones de los tipos de tejido, fijación y procesamiento. Además, es posible que la concentración y el tiempo de incubación de las enzimas BOND tengan que optimizarse en función del tipo de tejido y las condiciones de procesamiento y fijación.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la hibridación *in situ* con los reactivos BOND en la documentación del usuario del sistema BOND.

Advertencias y precauciones

- Este producto está diseñado exclusivamente para su uso diagnóstico *in vitro*.
- Exclusivamente para uso en laboratorio y por profesional cualificado
- Las sondas Kreatech FISH probes están diseñadas para su uso en sistemas BOND.
- No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Lleve prendas, guantes, gafas y protección para la cara adecuados.
- Las sondas Kreatech FISH probes contienen formamida y, por

lo tanto, se deben registrar en el software BOND como residuos peligrosos.

- La formamida puede tener efectos adversos en la reproducción humana. Evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel no protegida. Si se produce contacto con la piel, lávese con agua abundante durante al menos 15 minutos.

PELIGRO



FORMAMIDE

Indicación de peligro

H360D Puede dañar al feto.

Precauciones

P201 Pedir instrucciones especiales para su uso

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

P308+P313 en caso de exposición manifiesta o presunta:
consultar con un médico.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Desechar el contenido/recipiente en un vertedero autorizado de productos químicos o en el caso de contenido orgánico mediante incineración a alta temperatura.

- Consulte información más detallada en la hoja de datos de seguridad. Para obtener una copia de la hoja de datos de seguridad, póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems. Las hojas de datos de seguridad están disponibles en el sitio web de Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a estas, así como el volumen de sonda sobrante, se deben manipular como si fueran capaces de transmitir infecciones y desechar de acuerdo con las precauciones adecuadas.
- No pipetee nunca con la boca los reactivos y evite que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante. Consulte con un médico.
- Limpie inmediatamente las salpicaduras usando materiales desechables adecuados.
- Todos los materiales se deben eliminar de acuerdo a las normas locales.
- Los pasos de recuperación o los tiempos o las temperaturas de incubación diferentes a los indicados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.

3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *in situ* Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.1 - 13.
4. FISH on BOND User Guide (Guía del usuario para FISH en el sistema BOND).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Kreatech™ FISH probes

FOX01 (13q14) Break– XL for BOND

N.º de catálogo: KBI-XL016

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*

FOX01 (13q14) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de sarcoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FOX01 (13q14) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen FOX01 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las sondas Kreatech FISH probes se utilizan para realizar un procedimiento de tinción mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) en tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina. Tras un pretratamiento adecuado, la hibridación de las sondas Kreatech FISH probes y el lavado astringente tras la

hibridación usando el BOND FISH kit, los cortes de tejidos se deben deshidratar y montar con DAPI manualmente. Los resultados se interpretan mediante microscopía de fluorescencia usando los filtros recomendados con las longitudes de onda adecuadas.

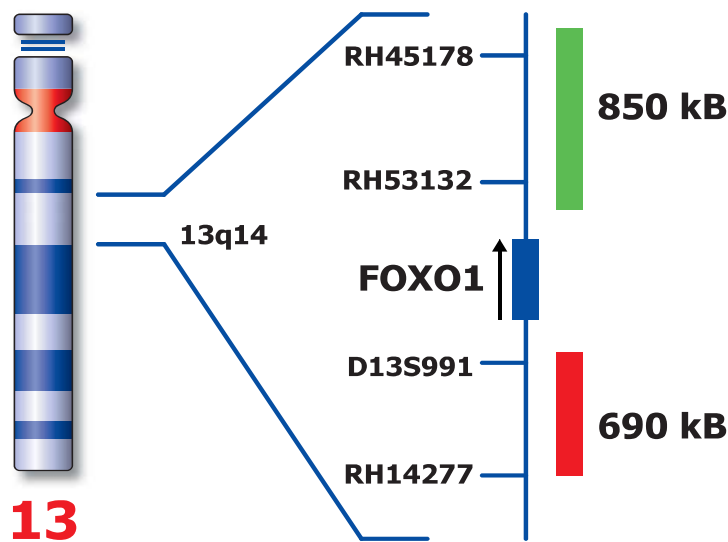
Reactivos proporcionados

Descripción del producto	N.º de producto	Volumen	Composición
FOX01 (13q14) Proximal - XL	pKBI-XL016G	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN PlatinumBright™ 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50%
FOX01 (13q14) Distal - XL	pKBI-XL016R	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN PlatinumBright™ 550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

FOX01 (13q14) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen FOX01.

FOX01 (13q14) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen FOX01. Ambas sondas se usan en combinación para detectar las translocaciones que afectan al gen FOX01 en 13q14.

Tabla 1: Mapas cromosómicos en los que se muestran el tamaño de las sondas en kilopares de bases (kB), la banda cromosómica y la posición genómica definida por los marcadores STS¹. La flecha situada junto al gen indica la dirección de transcripción del gen. En verde FOXO1 (13q14) Proximal - XL. En rojo FOXO1 (13q14) Distal - XL. Consulte el sitio web de Leica para obtener más información sobre los mapas cromosómicos.



- 1) Los mapas y las ubicaciones se basan en UCSC genome browser, build GRCh37/hg19, Feb.2009.

Material necesario que no se suministra

Consulte la sección “Uso de los reactivos BOND” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación *in situ* usando el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Además de los reactivos BOND genéricos, los reactivos siguientes son necesarios específicamente para el análisis del material del paciente adecuado con sondas Kreatech FISH probes en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

- BOND FISH kit (DS9636)

Las sondas Kreatech FISH probes se procesan en un sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III) en combinación con el BOND FISH kit (DS9636). El BOND FISH kit, en combinación con el *FISH Protocol D, instalado previamente en el sistema BOND con BDZ v62 o superior, es necesario para el procesamiento de FISH en el sistema BOND. Este protocolo se ha diseñado para el lavado tras la hibridación, con el fin de reducir la hibridación no específica de las sondas de ácido nucleico. El BOND FISH kit contiene el tampón de lavado tras la hibridación; un kit es suficiente para realizar 60 pruebas.

- BOND Hybridization solution (AR9037)

Las sondas se deben diluir a la concentración preferida usando la BOND Hybridization solution.

- BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551)

Es preciso realizar la digestión enzimática en combinación con un

pretratamiento térmico para obtener resultados óptimos con FISH.

- DAPI (p. ej., LK-095A o LK-096A)

La contratinción DAPI no se lleva a cabo automáticamente como parte del protocolo FISH en el sistema BOND, por lo que se tiene que realizar manualmente usando la concentración preferida de DAPI counterstain / antifade.

Muestras

Las sondas Kreatech FISH probes se han analizado con tejidos FFPE con un grosor de ~ 5 µm. Para obtener resultados óptimos, los bloques y los portaobjetos cortados de tejidos se deben almacenar de acuerdo con las condiciones recomendadas de almacenamiento y manipulación. Consulte el sitio web de Leica.

El termoendurecimiento se puede realizar en el sistema BOND con el *Bake and Dewax protocol o bien por separado en un horno o una incubadora. La temperatura y el tiempo recomendados para el termoendurecimiento es de hasta 16 horas a 56 °C o de 60-120 minutos a 80 °C.

Instrucciones de uso: dilución y mezclado

Las sondas Kreatech FISH probes se suministran a una concentración 10 x y se deben combinar y diluir para obtener una concentración final 1 x usando BOND Hybridization solution (AR9037).

Reactivo	Volumen usado (recomendado)
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml
N.º de pruebas	Hasta 40 pruebas

Tras la dilución de la sonda, la mezcla se debe transferir a un contenedor BOND adecuado (contenedor de titulación, contenedor abierto de 7 ml o contenedor abierto de 30 ml, dependiendo de los volúmenes preparados) y registrar como “DNA probe” en el sistema BOND.

Cuando prepare diluciones para la valoración, asegúrese de que obtiene cantidad suficiente para el volumen muerto del BOND Open Container adecuado (consulte los valores de la documentación del usuario del sistema BOND). El número exacto de pruebas de un vial depende del volumen muerto del contenedor usado y la calibración del sistema BOND.

Consulte en la sección “Solución de problemas” el uso de concentraciones finales diferentes a 1 x.

Consulte la sección “Gestión de reactivos” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener más información sobre el registro de reactivos nuevos en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Instrucciones de uso: pretratamiento y protocolos

Las sondas Kreatech FISH probes se han validado usando el BOND FISH kit, reactivos complementarios BOND y los protocolos predeterminados de pretratamiento y tinción BOND mostrados en la tabla 2. El protocolo final puede variar en función del tejido empleado por el usuario. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Tabla 2: protocolos para procesar las sondas Kreatech FISH probes

Parte del protocolo BOND	Nombre del protocolo	Tipo de protocolo
Staining – ISH Detection	*FISH Protocol D	Lavado tras la hibridación
Prestaining – Preparation	*Dewax	Eliminación de la parafina
Prestaining – Heat Pretreatment	HIER 25 min with ER2 (100) ⁽¹⁾	Pretratamiento térmico, Recuperación del epítipo
Prestaining – Enzyme Pretreatment	Enzyme 5 for 35 min ⁽²⁾	Digestión enzimática
Prestaining – ISH denaturation	*D10	Desnaturalización durante 10 minutos.
Prestaining – ISH detection	*ISH Hybridization (12Hr)	Hibridación durante 12

(1) No se trata de un protocolo predefinido. Para crear un protocolo nuevo, consulte la sección “Protocolos” de la documentación del usuario del sistema BOND.

(2) La enzima 5 se deriva del Enzyme Concentrate 1 disponible en el BOND Enzyme Pretreatment Kit (AR9551). Consulte información más detallada en la sección “Solución de problemas”.

Patrones de las señales

FOXO1 (13q14) Break - XL para BOND puede usarse para detectar las translocaciones que afectan al gen FOXO1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma usando los protocolos de la tabla 2.

FOXO1 (13q14) Break - XL para BOND se ha diseñado como un ensayo

de dos colores para detectar las translocaciones de la región del gen FOXO1 en 13q14. El patrón de señal normal muestra dos señales de fusión rojas/verdes (2F), mientras que una translocación que afecta al gen FOXO1 genera una señal de fusión para el cromosoma 13 normal, y una señal roja y otra verde para la translocación (1F1R1G).

Se recomienda realizar pruebas de seguimiento si se observan patrones atípicos.

	Patrón normal de las señales	Traslocación asociada al gen FOXO1 en 13q14
Patrón esperado	2F	1F1R1G

ES

Consulte las pautas locales o generales para la interpretación de patrones de señal distintos a los mostrados en la tabla.

Exención de responsabilidad: El rendimiento de la sonda FOXO1 (13q14) Break – XL for BOND se ha establecido usando los procedimientos descritos en este folleto. Si se modifican estos procedimientos, se puede alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Almacenamiento y estabilidad

Proteja las sondas de la luz directa intensa.

Almacénese a una temperatura de 2 - 8 °C. El producto sin abrir se mantiene estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

indicada en la etiqueta del vial. Vuelva a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C el reactivo no diluido inmediatamente tras el uso. El reactivo de la sonda diluido/mezclado almacenado en un contenedor BOND se debe volver a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C tras haberlo procesado.

Tras la dilución de la sonda, las mezclas de sondas se mantienen estables durante 30 días. Una vez transcurrido este periodo, la mezcla diluida puede causar resultados incorrectos. No hay indicios evidentes que indiquen la contaminación y/o la inestabilidad de la sonda. El usuario debe verificar las condiciones de almacenamiento diferentes a las indicadas anteriormente.

Solución de problemas

Pretratamiento (sobredigestión): en las instrucciones de uso del BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551) se recomienda que se registre una dilución de 1 gota de Enzyme Concentrate 1 en 7 ml de Diluent como *Enzyme 1 en el software BOND.

Esta *Enzyme 1 puede ser demasiado potente para determinadas muestras cuando se usa en combinación con Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) y tiene como consecuencia un tejido digerido en exceso. Se recomienda realizar una dilución secundaria de *Enzyme 1 (una dilución de hasta 1:300) y un registro independiente del reactivo en el sistema BOND como *Enzyme 5 para evitar confusiones. Como alternativa, se puede usar una dilución directa de hasta 1:3000 del Enzyme concentrate 1 en lugar de la dilución sucesiva de *Enzyme 1.

Dilución de la sonda e intensidad de la señal: se recomienda una concentración final de la sonda 1 x, sin embargo, el equilibrio adecuado de la sonda depende de factores como la edad y la fijación del tejido, el protocolo de pretratamiento y las preferencias personales. Las concentraciones óptimas y las relaciones de la sonda pueden variar, y el usuario final las debe determinar de forma práctica.

Reactivo	Volumen usado (recomendado)	Ejemplo: reducir la potencia de la señal verde	
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml	Roja a 1 x:	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml	Verde a 0,5 x:	0,5 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml		8,5 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml		10 ml
Número de pruebas	hasta 40 pruebas		hasta 40 pruebas

ES

Póngase en contacto con su distribuidor local o el Servicio de atención al cliente de la oficina regional de Leica Biosystems para comunicar cualquier tinción anormal.


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Limitaciones específicas del producto

Los usuarios que se desvían de los procedimientos de prueba recomendados tienen que responsabilizarse de la interpretación de los resultados de los pacientes en estas circunstancias. Los tiempos de los protocolos pueden variar debido a las variaciones de los tipos de tejido, fijación y procesamiento. Además, es posible que la concentración y el tiempo de incubación de las enzimas BOND tengan que optimizarse en función del tipo de tejido y las condiciones de procesamiento y fijación.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la hibridación *in situ* con los reactivos BOND en la documentación del usuario del sistema BOND.

Advertencias y precauciones

- Este producto está diseñado exclusivamente para su uso diagnóstico *in vitro*.
- Exclusivamente para uso en laboratorio y por profesional cualificado
- Las sondas Kreatech FISH probes están diseñadas para su uso en sistemas BOND.
- No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Lleve prendas, guantes, gafas y protección para la cara adecuados.
- Las sondas Kreatech FISH probes contienen formamida y, por

lo tanto, se deben registrar en el software BOND como residuos peligrosos.

- La formamida puede tener efectos adversos en la reproducción humana. Evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel no protegida. Si se produce contacto con la piel, lávese con agua abundante durante al menos 15 minutos.

PELIGRO



FORMAMIDE

Indicación de peligro

H360D Puede dañar al feto.

Precauciones

P201 Pedir instrucciones especiales para su uso

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

P308+P313 en caso de exposición manifiesta o presunta:
consultar con un médico.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Desechar el contenido/recipiente en un vertedero autorizado de productos químicos o en el caso de contenido orgánico mediante incineración a alta temperatura.

- Consulte información más detallada en la hoja de datos de seguridad. Para obtener una copia de la hoja de datos de seguridad, póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems. Las hojas de datos de seguridad están disponibles en el sitio web de Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a estas, así como el volumen de sonda sobrante, se deben manipular como si fueran capaces de transmitir infecciones y desechar de acuerdo con las precauciones adecuadas.
- No pipetee nunca con la boca los reactivos y evite que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante. Consulte con un médico.
- Limpie inmediatamente las salpicaduras usando materiales desechables adecuados.
- Todos los materiales se deben eliminar de acuerdo a las normas locales.
- Los pasos de recuperación o los tiempos o las temperaturas de incubación diferentes a los indicados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.

3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *in situ* Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.1 - 13.
4. FISH on BOND User Guide (Guía del usuario para FISH en el sistema BOND).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Kreatech™ FISH probes

FUS (16p11) Break– XL for BOND

N.º de catálogo: KBI-XL017

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*

FUS (16p11) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de sarcoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FUS (16p11) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen FUS en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las sondas Kreatech FISH probes se utilizan para realizar un procedimiento de tinción mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) en tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina. Tras un pretratamiento adecuado, la hibridación de las sondas Kreatech FISH probes y el lavado astringente tras la

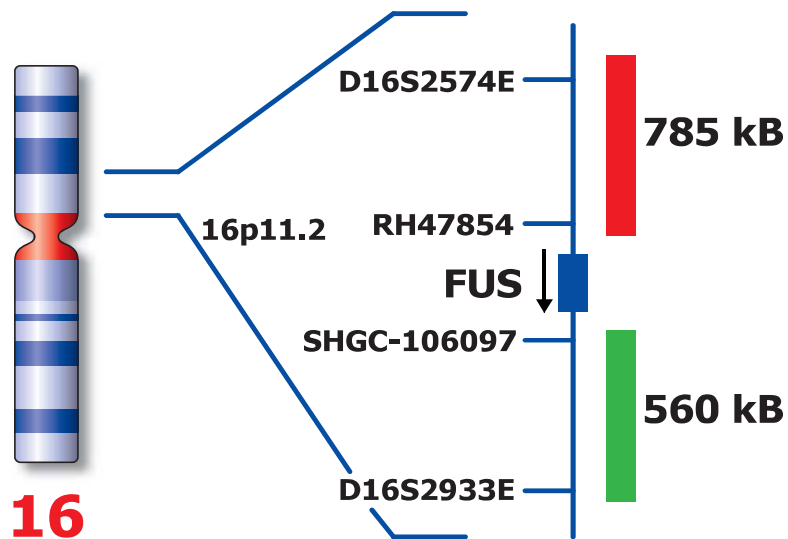
hibridación usando el BOND FISH kit, los cortes de tejidos se deben deshidratar y montar con DAPI manualmente. Los resultados se interpretan mediante microscopía de fluorescencia usando los filtros recomendados con las longitudes de onda adecuadas.

Reactivos proporcionados

Descripción del producto	N.º de producto	Volumen	Composición
FUS (16p11) Proximal - XL	pKBI-XL017G	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN PlatinumBright™ 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50%
FUS (16p11) Distal - XL	pKBI-XL017R	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN PlatinumBright™ 550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

FUS (16p11) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen FUS. FUS (16p11) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen FUS. Ambas sondas se usan en combinación para detectar las translocaciones que afectan al gen FUS en 16p11.

Tabla 1: Mapas cromosómicos en los que se muestran el tamaño de las sondas en kilopares de bases (kB), la banda cromosómica y la posición genómica definida por los marcadores STS¹. La flecha situada junto al gen indica la dirección de transcripción del gen. En verde FUS (16p11) Proximal - XL. En rojo FUS (16p11) Distal - XL. Consulte el sitio web de Leica para obtener más información sobre los mapas cromosómicos.



- 1) Los mapas y las ubicaciones se basan en UCSC genome browser, build GRCh37/hg19, Feb.2009.

Material necesario que no se suministra

Consulte la sección “Uso de los reactivos BOND” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación *in situ* usando el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Además de los reactivos BOND genéricos, los reactivos siguientes son necesarios específicamente para el análisis del material del paciente adecuado con sondas Kreatech FISH probes en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

- BOND FISH kit (DS9636)

Las sondas Kreatech FISH probes se procesan en un sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III) en combinación con el BOND FISH kit (DS9636). El BOND FISH kit, en combinación con el *FISH Protocol D, instalado previamente en el sistema BOND con BDZ v62 o superior, es necesario para el procesamiento de FISH en el sistema BOND. Este protocolo se ha diseñado para el lavado tras la hibridación, con el fin de reducir la hibridación no específica de las sondas de ácido nucleico. El BOND FISH kit contiene el tampón de lavado tras la hibridación; un kit es suficiente para realizar 60 pruebas.

- BOND Hybridization solution (AR9037)

Las sondas se deben diluir a la concentración preferida usando la BOND Hybridization solution.

- BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551)

Es preciso realizar la digestión enzimática en combinación con un

pretratamiento térmico para obtener resultados óptimos con FISH.

- DAPI (p. ej., LK-095A o LK-096A)

La contratinción DAPI no se lleva a cabo automáticamente como parte del protocolo FISH en el sistema BOND, por lo que se tiene que realizar manualmente usando la concentración preferida de DAPI counterstain / antifade.

Muestras

Las sondas Kreatech FISH probes se han analizado con tejidos FFPE con un grosor de ~ 5 µm. Para obtener resultados óptimos, los bloques y los portaobjetos cortados de tejidos se deben almacenar de acuerdo con las condiciones recomendadas de almacenamiento y manipulación. Consulte el sitio web de Leica.

El termoendurecimiento se puede realizar en el sistema BOND con el *Bake and Dewax protocol o bien por separado en un horno o una incubadora. La temperatura y el tiempo recomendados para el termoendurecimiento es de hasta 16 horas a 56 °C o de 60-120 minutos a 80 °C.

Instrucciones de uso: dilución y mezclado

Las sondas Kreatech FISH probes se suministran a una concentración 10 x y se deben combinar y diluir para obtener una concentración final 1 x usando BOND Hybridization solution (AR9037).

Reactivo	Volumen usado (recomendado)
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml
N.º de pruebas	Hasta 40 pruebas

Tras la dilución de la sonda, la mezcla se debe transferir a un contenedor BOND adecuado (contenedor de titulación, contenedor abierto de 7 ml o contenedor abierto de 30 ml, dependiendo de los volúmenes preparados) y registrar como “DNA probe” en el sistema BOND.

Cuando prepare diluciones para la valoración, asegúrese de que obtiene cantidad suficiente para el volumen muerto del BOND Open Container adecuado (consulte los valores de la documentación del usuario del sistema BOND). El número exacto de pruebas de un vial depende del volumen muerto del contenedor usado y la calibración del sistema BOND.

Consulte en la sección “Solución de problemas” el uso de concentraciones finales diferentes a 1 x.

Consulte la sección “Gestión de reactivos” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener más información sobre el registro de reactivos nuevos en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Instrucciones de uso: pretratamiento y protocolos

Las sondas Kreatech FISH probes se han validado usando el BOND FISH kit, reactivos complementarios BOND y los protocolos predeterminados de pretratamiento y tinción BOND mostrados en la tabla 2. El protocolo final puede variar en función del tejido empleado por el usuario. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Tabla 2: protocolos para procesar las sondas Kreatech FISH probes

Parte del protocolo BOND	Nombre del protocolo	Tipo de protocolo
Staining – ISH Detection	*FISH Protocol D	Lavado tras la hibridación
Prestaining – Preparation	*Dewax	Eliminación de la parafina
Prestaining – Heat Pretreatment	HIER 25 min with ER2 (100) ⁽¹⁾	Pretratamiento térmico, Recuperación del epítipo
Prestaining – Enzyme Pretreatment	Enzyme 5 for 35 min ⁽²⁾	Digestión enzimática
Prestaining – ISH denaturation	*D10	Desnaturalización durante 10 minutos.
Prestaining – ISH detection	*ISH Hybridization (12Hr)	Hibridación durante 12

(1) No se trata de un protocolo predefinido. Para crear un protocolo nuevo, consulte la sección “Protocolos” de la documentación del usuario del sistema BOND.

(2) La enzima 5 se deriva del Enzyme Concentrate 1 disponible en el BOND Enzyme Pretreatment Kit (AR9551). Consulte información más detallada en la sección “Solución de problemas”.

Patrones de las señales

FUS (16p11) Break - XL para BOND puede usarse para detectar las translocaciones que afectan al gen FUS en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma usando los protocolos de la tabla 2. FUS (16p11) Break - XL para BOND se ha diseñado como un ensayo de dos colores para detectar las translocaciones de la región del gen FUS

en 16p11. El patrón de señal normal muestra dos señales de fusión rojas/verdes (2F), mientras que una translocación que afecta al gen FUS genera una señal de fusión para el cromosoma 16 normal, y una señal roja y otra verde para la translocación (1F1R1G).

Se recomienda realizar pruebas de seguimiento si se observan patrones atípicos.

	Patrón normal de las señales	Traslocación asociada al gen FUS en 16p11
Patrón esperado	2F	1F1R1G

ES

Consulte las pautas locales o generales para la interpretación de patrones de señal distintos a los mostrados en la tabla.

Exención de responsabilidad: El rendimiento de la sonda FUS (16p11) Break – XL for BOND se ha establecido usando los procedimientos descritos en este folleto. Si se modifican estos procedimientos, se puede alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Almacenamiento y estabilidad

Proteja las sondas de la luz directa intensa.

Almacénese a una temperatura de 2 - 8 °C. El producto sin abrir se mantiene estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Vuelva a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C el reactivo no diluido inmediatamente tras el uso. El


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

reactivo de la sonda diluido/mezclado almacenado en un contenedor BOND se debe volver a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C tras haberlo procesado.

Tras la dilución de la sonda, las mezclas de sondas se mantienen estables durante 30 días. Una vez transcurrido este periodo, la mezcla diluida puede causar resultados incorrectos. No hay indicios evidentes que indiquen la contaminación y/o la inestabilidad de la sonda. El usuario debe verificar las condiciones de almacenamiento diferentes a las indicadas anteriormente.

Solución de problemas

Pretratamiento (sobredigestión): en las instrucciones de uso del BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551) se recomienda que se registre una dilución de 1 gota de Enzyme Concentrate 1 en 7 ml de Diluent como *Enzyme 1 en el software BOND.

Esta *Enzyme 1 puede ser demasiado potente para determinadas muestras cuando se usa en combinación con Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) y tiene como consecuencia un tejido digerido en exceso. Se recomienda realizar una dilución secundaria de *Enzyme 1 (una dilución de hasta 1:300) y un registro independiente del reactivo en el sistema BOND como *Enzyme 5 para evitar confusiones. Como alternativa, se puede usar una dilución directa de hasta 1:3000 del Enzyme concentrate 1 en lugar de la dilución sucesiva de *Enzyme 1.

Dilución de la sonda e intensidad de la señal: se recomienda una concentración final de la sonda 1 x, sin embargo, el equilibrio

adecuado de la sonda depende de factores como la edad y la fijación del tejido, el protocolo de pretratamiento y las preferencias personales. Las concentraciones óptimas y las relaciones de la sonda pueden variar, y el usuario final las debe determinar de forma práctica.

Reactivo	Volumen usado (recomendado)	Ejemplo: reducir la potencia de la señal verde	
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml	Roja a 1 x:	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml	Verde a 0,5 x:	0,5 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml		8,5 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml		10 ml
Número de pruebas	hasta 40 pruebas		hasta 40 pruebas

ES

Póngase en contacto con su distribuidor local o el Servicio de atención al cliente de la oficina regional de Leica Biosystems para comunicar cualquier tinción anormal.

Limitaciones específicas del producto

Los usuarios que se desvían de los procedimientos de prueba recomendados tienen que responsabilizarse de la interpretación de


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

los resultados de los pacientes en estas circunstancias. Los tiempos de los protocolos pueden variar debido a las variaciones de los tipos de tejido, fijación y procesamiento. Además, es posible que la concentración y el tiempo de incubación de las enzimas BOND tengan que optimizarse en función del tipo de tejido y las condiciones de procesamiento y fijación.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la hibridación *in situ* con los reactivos BOND en la documentación del usuario del sistema BOND.

Advertencias y precauciones

- Este producto está diseñado exclusivamente para su uso diagnóstico *in vitro*.
- Exclusivamente para uso en laboratorio y por profesional cualificado
- Las sondas Kreatech FISH probes están diseñadas para su uso en sistemas BOND.
- No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Lleve prendas, guantes, gafas y protección para la cara adecuados.
- Las sondas Kreatech FISH probes contienen formamida y, por lo tanto, se deben registrar en el software BOND como residuos peligrosos.
- La formamida puede tener efectos adversos en la reproducción


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

humana. Evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel no protegida. Si se produce contacto con la piel, lávese con agua abundante durante al menos 15 minutos.

PELIGRO



FORMAMIDE

Indicación de peligro

H360D Puede dañar al feto.

Precauciones

P201 Pedir instrucciones especiales para su uso

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

P308+P313 en caso de exposición manifiesta o presunta:
consultar con un médico.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Desechar el contenido/recipiente en un vertedero autorizado de productos químicos o en el caso de contenido orgánico mediante incineración a alta temperatura.

- Consulte información más detallada en la hoja de datos de seguridad. Para obtener una copia de la hoja de datos de seguridad, póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica

Biosystems. Las hojas de datos de seguridad están disponibles en el sitio web de Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.

- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a estas, así como el volumen de sonda sobrante, se deben manipular como si fueran capaces de transmitir infecciones y desechar de acuerdo con las precauciones adecuadas.
- No pipetee nunca con la boca los reactivos y evite que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante. Consulte con un médico.
- Limpie inmediatamente las salpicaduras usando materiales desechables adecuados.
- Todos los materiales se deben eliminar de acuerdo a las normas locales.
- Los pasos de recuperación o los tiempos o las temperaturas de incubación diferentes a los indicados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.

3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *in situ* Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.1 - 13.
4. FISH on BOND User Guide (Guía del usuario para FISH en el sistema BOND).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Kreatech™ FISH probes

SS18 (18q11) Break- XL for BOND

N.º de catálogo: KBI-XL018

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*

SS18 (18q11) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de sarcoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda SS18 (18q11) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen SS18 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las sondas Kreatech FISH probes se utilizan para realizar un procedimiento de tinción mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) en tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina. Tras un pretratamiento adecuado, la hibridación de las sondas Kreatech FISH probes y el lavado astringente tras la

hibridación usando el BOND FISH kit, los cortes de tejidos se deben deshidratar y montar con DAPI manualmente. Los resultados se interpretan mediante microscopía de fluorescencia usando los filtros recomendados con las longitudes de onda adecuadas.

Reactivos proporcionados

Descripción del producto	N.º de producto	Volumen	Composición
SS18 (18q11) Proximal - XL	pKBI-XL018G	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN PlatinumBright™ 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50%
SS18 (18q11) Distal - XL	pKBI-XL018R	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN PlatinumBright™ 550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

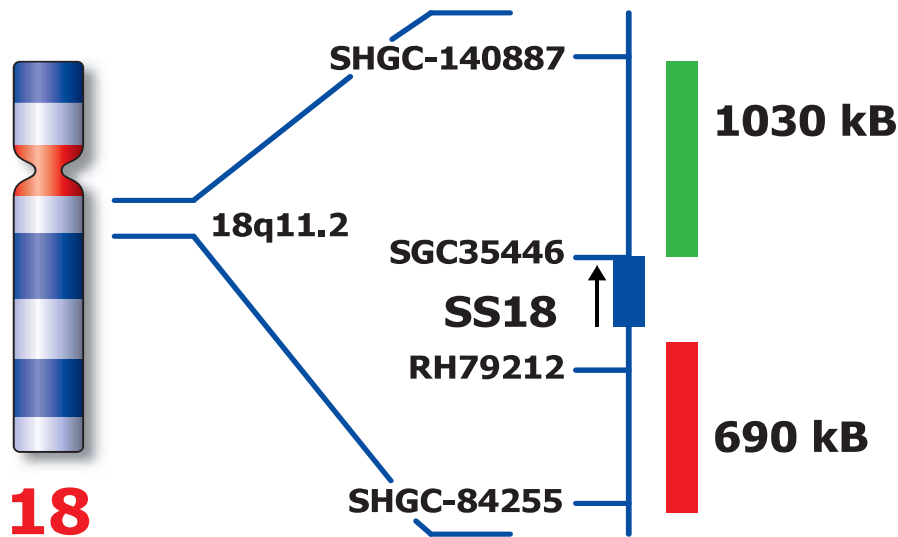
SS18 (18q11) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen SS18.

SS18 (18q11) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen SS18.

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las

translocaciones que afectan al gen SS18 en 18q11.

Tabla 1: Mapas cromosómicos en los que se muestran el tamaño de las sondas en kilopares de bases (kB), la banda cromosómica y la posición genómica definida por los marcadores STS¹. La flecha situada junto al gen indica la dirección de transcripción del gen. En verde SS18 (18q11) Proximal - XL. En rojo SS18 (18q11) Distal - XL. Consulte el sitio web de Leica para obtener más información sobre los mapas cromosómicos.



- 1) Los mapas y las ubicaciones se basan en UCSC genome browser, build GRCh37/hg19, Feb.2009.

Material necesario que no se suministra

Consulte la sección “Uso de los reactivos BOND” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación *in situ* usando el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Además de los reactivos BOND genéricos, los reactivos siguientes son necesarios específicamente para el análisis del material del paciente adecuado con sondas Kreatech FISH probes en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

- BOND FISH kit (DS9636)

Las sondas Kreatech FISH probes se procesan en un sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III) en combinación con el BOND FISH kit (DS9636). El BOND FISH kit, en combinación con el *FISH Protocol D, instalado previamente en el sistema BOND con BDZ v62 o superior, es necesario para el procesamiento de FISH en el sistema BOND. Este protocolo se ha diseñado para el lavado tras la hibridación, con el fin de reducir la hibridación no específica de las sondas de ácido nucleico. El BOND FISH kit contiene el tampón de lavado tras la hibridación; un kit es suficiente para realizar 60 pruebas.

- BOND Hybridization solution (AR9037)

Las sondas se deben diluir a la concentración preferida usando la BOND Hybridization solution.

- BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551)

Es preciso realizar la digestión enzimática en combinación con un

pretratamiento térmico para obtener resultados óptimos con FISH.

- DAPI (p. ej., LK-095A o LK-096A)

La contratinción DAPI no se lleva a cabo automáticamente como parte del protocolo FISH en el sistema BOND, por lo que se tiene que realizar manualmente usando la concentración preferida de DAPI counterstain / antifade.

Muestras

Las sondas Kreatech FISH probes se han analizado con tejidos FFPE con un grosor de ~ 5 µm. Para obtener resultados óptimos, los bloques y los portaobjetos cortados de tejidos se deben almacenar de acuerdo con las condiciones recomendadas de almacenamiento y manipulación. Consulte el sitio web de Leica.

El termoendurecimiento se puede realizar en el sistema BOND con el *Bake and Dewax protocol o bien por separado en un horno o una incubadora. La temperatura y el tiempo recomendados para el termoendurecimiento es de hasta 16 horas a 56 °C o de 60-120 minutos a 80 °C.

Instrucciones de uso: dilución y mezclado

Las sondas Kreatech FISH probes se suministran a una concentración 10 x y se deben combinar y diluir para obtener una concentración final 1 x usando BOND Hybridization solution (AR9037).

Reactivo	Volumen usado (recomendado)
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml
N.º de pruebas	Hasta 40 pruebas

Tras la dilución de la sonda, la mezcla se debe transferir a un contenedor BOND adecuado (contenedor de titulación, contenedor abierto de 7 ml o contenedor abierto de 30 ml, dependiendo de los volúmenes preparados) y registrar como “DNA probe” en el sistema BOND.

Cuando prepare diluciones para la valoración, asegúrese de que obtiene cantidad suficiente para el volumen muerto del BOND Open Container adecuado (consulte los valores de la documentación del usuario del sistema BOND). El número exacto de pruebas de un vial depende del volumen muerto del contenedor usado y la calibración del sistema BOND.

Consulte en la sección “Solución de problemas” el uso de concentraciones finales diferentes a 1 x.

Consulte la sección “Gestión de reactivos” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener más información sobre el registro de reactivos nuevos en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Instrucciones de uso: pretratamiento y protocolos

Las sondas Kreatech FISH probes se han validado usando el BOND FISH kit, reactivos complementarios BOND y los protocolos predeterminados de pretratamiento y tinción BOND mostrados en la tabla 2. El protocolo final puede variar en función del tejido empleado por el usuario. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Tabla 2: protocolos para procesar las sondas Kreatech FISH probes

Parte del protocolo BOND	Nombre del protocolo	Tipo de protocolo
Staining – ISH Detection	*FISH Protocol D	Lavado tras la hibridación
Prestaining – Preparation	*Dewax	Eliminación de la parafina
Prestaining – Heat Pretreatment	HIER 25 min with ER2 (100) ⁽¹⁾	Pretratamiento térmico, Recuperación del epítipo
Prestaining – Enzyme Pretreatment	Enzyme 5 for 35 min ⁽²⁾	Digestión enzimática
Prestaining – ISH denaturation	*D10	Desnaturalización durante 10 minutos.
Prestaining – ISH detection	*ISH Hybridization (12Hr)	Hibridación durante 12

- (1) No se trata de un protocolo predefinido. Para crear un protocolo nuevo, consulte la sección “Protocolos” de la documentación del usuario del sistema BOND.
- (2) La enzima 5 se deriva del Enzyme Concentrate 1 disponible en el BOND Enzyme Pretreatment Kit (AR9551). Consulte información más detallada en la sección “Solución de problemas”.

Patrones de las señales

SS18 (18q11) Break - XL para BOND puede usarse para detectar las translocaciones que afectan al gen SS18 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma usando los protocolos de la tabla 2. SS18 (18q11) Break - XL para BOND se ha diseñado como un ensayo de dos colores para detectar las translocaciones de la región del gen

SS18 en 18q11. El patrón de señal normal muestra dos señales de fusión rojas/verdes (2F), mientras que una translocación que afecta al gen SS18 genera una señal de fusión para el cromosoma 18 normal, y una señal roja y otra verde para la translocación (1F1R1G).

Se recomienda realizar pruebas de seguimiento si se observan patrones atípicos.

	Patrón normal de las señales	Traslocación asociada al gen SS18 en 18q11
Patrón esperado	2F	1F1R1G

ES

Consulte las pautas locales o generales para la interpretación de patrones de señal distintos a los mostrados en la tabla.

Exención de responsabilidad: El rendimiento de la sonda SS18 (18q11) Break – XL for BOND se ha establecido usando los procedimientos descritos en este folleto. Si se modifican estos procedimientos, se puede alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Almacenamiento y estabilidad

Proteja las sondas de la luz directa intensa.

Almacénese a una temperatura de 2 - 8 °C. El producto sin abrir se mantiene estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Vuelva a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C el reactivo no diluido inmediatamente tras el uso. El


 ANDREA DAOU
 DIRECTORA TÉCNICA
 M.P. 18341
 BIO-OPTIC SRL


 LIC. LUCAS M. VILLEGAS
 SOCIO GERENTE

reactivo de la sonda diluido/mezclado almacenado en un contenedor BOND se debe volver a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C tras haberlo procesado.

Tras la dilución de la sonda, las mezclas de sondas se mantienen estables durante 30 días. Una vez transcurrido este periodo, la mezcla diluida puede causar resultados incorrectos. No hay indicios evidentes que indiquen la contaminación y/o la inestabilidad de la sonda. El usuario debe verificar las condiciones de almacenamiento diferentes a las indicadas anteriormente.

Solución de problemas

Pretratamiento (sobredigestión): en las instrucciones de uso del BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551) se recomienda que se registre una dilución de 1 gota de Enzyme Concentrate 1 en 7 ml de Diluent como *Enzyme 1 en el software BOND.

Esta *Enzyme 1 puede ser demasiado potente para determinadas muestras cuando se usa en combinación con Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) y tiene como consecuencia un tejido digerido en exceso. Se recomienda realizar una dilución secundaria de *Enzyme 1 (una dilución de hasta 1:300) y un registro independiente del reactivo en el sistema BOND como *Enzyme 5 para evitar confusiones. Como alternativa, se puede usar una dilución directa de hasta 1:3000 del Enzyme concentrate 1 en lugar de la dilución sucesiva de *Enzyme 1.

Dilución de la sonda e intensidad de la señal: se recomienda una concentración final de la sonda 1 x, sin embargo, el equilibrio

adecuado de la sonda depende de factores como la edad y la fijación del tejido, el protocolo de pretratamiento y las preferencias personales. Las concentraciones óptimas y las relaciones de la sonda pueden variar, y el usuario final las debe determinar de forma práctica.

Reactivo	Volumen usado (recomendado)	Ejemplo: reducir la potencia de la señal verde	
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml	Roja a 1 x:	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml	Verde a 0,5 x:	0,5 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml		8,5 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml		10 ml
Número de pruebas	hasta 40 pruebas		hasta 40 pruebas

ES

Póngase en contacto con su distribuidor local o el Servicio de atención al cliente de la oficina regional de Leica Biosystems para comunicar cualquier tinción anormal.

Limitaciones específicas del producto

Los usuarios que se desvían de los procedimientos de prueba recomendados tienen que responsabilizarse de la interpretación de


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

los resultados de los pacientes en estas circunstancias. Los tiempos de los protocolos pueden variar debido a las variaciones de los tipos de tejido, fijación y procesamiento. Además, es posible que la concentración y el tiempo de incubación de las enzimas BOND tengan que optimizarse en función del tipo de tejido y las condiciones de procesamiento y fijación.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la hibridación *in situ* con los reactivos BOND en la documentación del usuario del sistema BOND.

Advertencias y precauciones

- Este producto está diseñado exclusivamente para su uso diagnóstico *in vitro*.
- Exclusivamente para uso en laboratorio y por profesional cualificado
- Las sondas Kreatech FISH probes están diseñadas para su uso en sistemas BOND.
- No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Lleve prendas, guantes, gafas y protección para la cara adecuados.
- Las sondas Kreatech FISH probes contienen formamida y, por lo tanto, se deben registrar en el software BOND como residuos peligrosos.
- La formamida puede tener efectos adversos en la reproducción


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

humana. Evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel no protegida. Si se produce contacto con la piel, lávese con agua abundante durante al menos 15 minutos.

PELIGRO



FORMAMIDE

Indicación de peligro

H360D Puede dañar al feto.

Precauciones

P201 Pedir instrucciones especiales para su uso

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

P308+P313 en caso de exposición manifiesta o presunta:
consultar con un médico.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Desechar el contenido/recipiente en un vertedero autorizado de productos químicos o en el caso de contenido orgánico mediante incineración a alta temperatura.

- Consulte información más detallada en la hoja de datos de seguridad. Para obtener una copia de la hoja de datos de seguridad, póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica

Biosystems. Las hojas de datos de seguridad están disponibles en el sitio web de Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.

- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a estas, así como el volumen de sonda sobrante, se deben manipular como si fueran capaces de transmitir infecciones y desechar de acuerdo con las precauciones adecuadas.
- No pipetee nunca con la boca los reactivos y evite que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante. Consulte con un médico.
- Limpie inmediatamente las salpicaduras usando materiales desechables adecuados.
- Todos los materiales se deben eliminar de acuerdo a las normas locales.
- Los pasos de recuperación o los tiempos o las temperaturas de incubación diferentes a los indicados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.

3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *in situ* Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.1 - 13.
4. FISH on BOND User Guide (Guía del usuario para FISH en el sistema BOND).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Kreatech™ FISH probes

EWSR1 (22q12) Break– XL for BOND

N.º de catálogo: KBI-XL019

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*

EWSR1 (22q12) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de sarcoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda EWSR1 (22q12) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen EWSR1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las sondas Kreatech FISH probes se utilizan para realizar un procedimiento de tinción mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) en tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina. Tras un pretratamiento adecuado, la hibridación de las sondas Kreatech FISH probes y el lavado astringente tras la

hibridación usando el BOND FISH kit, los cortes de tejidos se deben deshidratar y montar con DAPI manualmente. Los resultados se interpretan mediante microscopía de fluorescencia usando los filtros recomendados con las longitudes de onda adecuadas.

Reactivos proporcionados

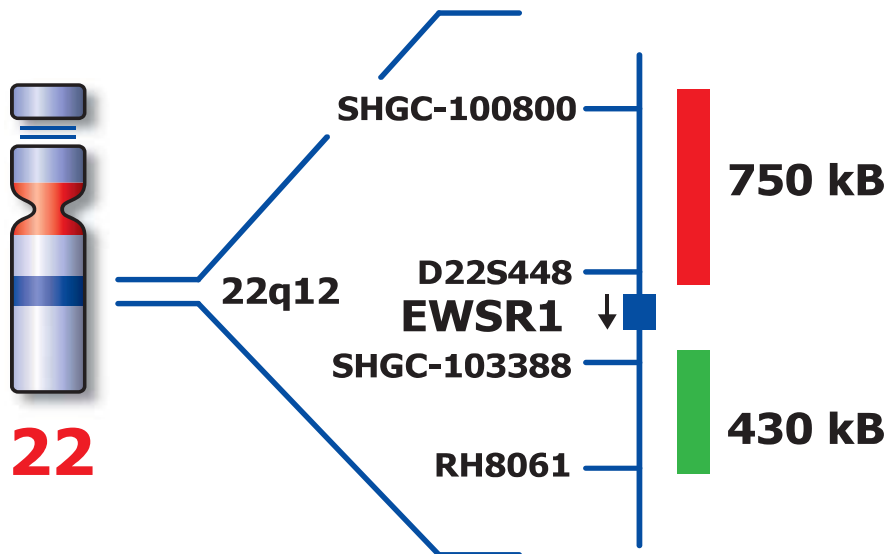
Descripción del producto	N.º de producto	Volumen	Composición
EWSR1 (22q12) Proximal - XL	pKBI-XL019R	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN PlatinumBright™ 550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50%
EWSR1 (22q12) Distal - XL	pKBI-XL019G	1 ml, concentración de 10 x	Las sondas de ADN PlatinumBright™ 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

EWSR1 (22q12) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen EWSR1.

EWSR1 (22q12) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen EWSR1. Ambas sondas se usan en combinación para detectar las

translocaciones que afectan al gen EWSR1 en 22q12.

Tabla 1: Mapas cromosómicos en los que se muestran el tamaño de las sondas en kilopares de bases (kB), la banda cromosómica y la posición genómica definida por los marcadores STS¹. La flecha situada junto al gen indica la dirección de transcripción del gen. En verde EWSR1 (22q12) Distal - XL. En rojo EWSR1 (22q12) Poximal - XL. Consulte el sitio web de Leica para obtener más información sobre los mapas cromosómicos.



ES

- 1) Los mapas y las ubicaciones se basan en UCSC genome browser, build GRCh37/hg19, Feb.2009.

Material necesario que no se suministra

Consulte la sección “Uso de los reactivos BOND” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación *in situ* usando el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Además de los reactivos BOND genéricos, los reactivos siguientes son necesarios específicamente para el análisis del material del paciente adecuado con sondas Kreatech FISH probes en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

- BOND FISH kit (DS9636)

Las sondas Kreatech FISH probes se procesan en un sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III) en combinación con el BOND FISH kit (DS9636). El BOND FISH kit, en combinación con el *FISH Protocol D, instalado previamente en el sistema BOND con BDZ v62 o superior, es necesario para el procesamiento de FISH en el sistema BOND. Este protocolo se ha diseñado para el lavado tras la hibridación, con el fin de reducir la hibridación no específica de las sondas de ácido nucleico. El BOND FISH kit contiene el tampón de lavado tras la hibridación; un kit es suficiente para realizar 60 pruebas.

- BOND Hybridization solution (AR9037)

Las sondas se deben diluir a la concentración preferida usando la BOND Hybridization solution.

- BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551)

Es preciso realizar la digestión enzimática en combinación con un

pretratamiento térmico para obtener resultados óptimos con FISH.

- DAPI (p. ej., LK-095A o LK-096A)

La contratinción DAPI no se lleva a cabo automáticamente como parte del protocolo FISH en el sistema BOND, por lo que se tiene que realizar manualmente usando la concentración preferida de DAPI counterstain / antifade.

Muestras

Las sondas Kreatech FISH probes se han analizado con tejidos FFPE con un grosor de ~ 5 μm . Para obtener resultados óptimos, los bloques y los portaobjetos cortados de tejidos se deben almacenar de acuerdo con las condiciones recomendadas de almacenamiento y manipulación. Consulte el sitio web de Leica.

El termoendurecimiento se puede realizar en el sistema BOND con el *Bake and Dewax protocol o bien por separado en un horno o una incubadora. La temperatura y el tiempo recomendados para el termoendurecimiento es de hasta 16 horas a 56 °C o de 60-120 minutos a 80 °C.

Instrucciones de uso: dilución y mezclado

Las sondas Kreatech FISH probes se suministran a una concentración 10 x y se deben combinar y diluir para obtener una concentración final 1 x usando BOND Hybridization solution (AR9037).

Reactivo	Volumen usado (recomendado)
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml
N.º de pruebas	Hasta 40 pruebas

Tras la dilución de la sonda, la mezcla se debe transferir a un contenedor BOND adecuado (contenedor de titulación, contenedor abierto de 7 ml o contenedor abierto de 30 ml, dependiendo de los volúmenes preparados) y registrar como “DNA probe” en el sistema BOND.

Cuando prepare diluciones para la valoración, asegúrese de que obtiene cantidad suficiente para el volumen muerto del BOND Open Container adecuado (consulte los valores de la documentación del usuario del sistema BOND). El número exacto de pruebas de un vial depende del volumen muerto del contenedor usado y la calibración del sistema BOND.

Consulte en la sección “Solución de problemas” el uso de concentraciones finales diferentes a 1 x.

Consulte la sección “Gestión de reactivos” de la documentación del usuario del sistema BOND para obtener más información sobre el registro de reactivos nuevos en el sistema BOND (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

Instrucciones de uso: pretratamiento y protocolos

Las sondas Kreatech FISH probes se han validado usando el BOND FISH kit, reactivos complementarios BOND y los protocolos predeterminados de pretratamiento y tinción BOND mostrados en la tabla 2. El protocolo final puede variar en función del tejido empleado por el usuario. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Tabla 2: protocolos para procesar las sondas Kreatech FISH probes

Parte del protocolo BOND	Nombre del protocolo	Tipo de protocolo
Staining – ISH Detection	*FISH Protocol D	Lavado tras la hibridación
Prestaining – Preparation	*Dewax	Eliminación de la parafina
Prestaining – Heat Pretreatment	HIER 25 min with ER2 (100) ⁽¹⁾	Pretratamiento térmico, Recuperación del epítipo
Prestaining – Enzyme Pretreatment	Enzyme 5 for 35 min ⁽²⁾	Digestión enzimática
Prestaining – ISH denaturation	*D10	Desnaturalización durante 10 minutos.
Prestaining – ISH detection	*ISH Hybridization (12Hr)	Hibridación durante 12

(1) No se trata de un protocolo predefinido. Para crear un protocolo nuevo, consulte la sección “Protocolos” de la documentación del usuario del sistema BOND.

(2) La enzima 5 se deriva del Enzyme Concentrate 1 disponible en el BOND Enzyme Pretreatment Kit (AR9551). Consulte información más detallada en la sección “Solución de problemas”.

Patrones de las señales

EWSR1 (22q12) Break - XL para BOND puede usarse para detectar las translocaciones que afectan al gen EWSR1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma usando los protocolos de la tabla 2.

EWSR1 (22q12) Break - XL para BOND se ha diseñado como un ensayo

de dos colores para detectar las translocaciones de la región del gen EWSR1 en 22q12. El patrón de señal normal muestra dos señales de fusión rojas/verdes (2F), mientras que una translocación que afecta al gen EWSR1 genera una señal de fusión para el cromosoma 22 normal, y una señal roja y otra verde para la translocación (1F1R1G).

Se recomienda realizar pruebas de seguimiento si se observan patrones atípicos.

	Patrón normal de las señales	Traslocación asociada al gen EWSR1 en 22q12
Patrón esperado	2F	1F1R1G

ES

Consulte las pautas locales o generales para la interpretación de patrones de señal distintos a los mostrados en la tabla.

Exención de responsabilidad: El rendimiento de la sonda EWSR1 (22q12) Break – XL for BOND se ha establecido usando los procedimientos descritos en este folleto. Si se modifican estos procedimientos, se puede alterar el rendimiento del ensayo. El usuario debe validar cualquier desviación de los protocolos indicados.

Almacenamiento y estabilidad

Proteja las sondas de la luz directa intensa.

Almacénese a una temperatura de 2 - 8 °C. El producto sin abrir se mantiene estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

indicada en la etiqueta del vial. Vuelva a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C el reactivo no diluido inmediatamente tras el uso. El reactivo de la sonda diluido/mezclado almacenado en un contenedor BOND se debe volver a conservar a una temperatura de 2 - 8 °C tras haberlo procesado.

Tras la dilución de la sonda, las mezclas de sondas se mantienen estables durante 30 días. Una vez transcurrido este periodo, la mezcla diluida puede causar resultados incorrectos. No hay indicios evidentes que indiquen la contaminación y/o la inestabilidad de la sonda. El usuario debe verificar las condiciones de almacenamiento diferentes a las indicadas anteriormente.

Solución de problemas

Pretratamiento (sobredigestión): en las instrucciones de uso del BOND Enzyme Pretreatment kit (AR9551) se recomienda que se registre una dilución de 1 gota de Enzyme Concentrate 1 en 7 ml de Diluent como *Enzyme 1 en el software BOND.

Esta *Enzyme 1 puede ser demasiado potente para determinadas muestras cuando se usa en combinación con Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) y tiene como consecuencia un tejido digerido en exceso. Se recomienda realizar una dilución secundaria de *Enzyme 1 (una dilución de hasta 1:300) y un registro independiente del reactivo en el sistema BOND como *Enzyme 5 para evitar confusiones. Como alternativa, se puede usar una dilución directa de hasta 1:3000 del Enzyme concentrate 1 en lugar de la dilución sucesiva de *Enzyme 1.

Dilución de la sonda e intensidad de la señal: se recomienda una concentración final de la sonda 1 x, sin embargo, el equilibrio adecuado de la sonda depende de factores como la edad y la fijación del tejido, el protocolo de pretratamiento y las preferencias personales. Las concentraciones óptimas y las relaciones de la sonda pueden variar, y el usuario final las debe determinar de forma práctica.

Reactivo	Volumen usado (recomendado)	Ejemplo: reducir la potencia de la señal verde	
Sonda 1 (10 x) - rojo	1,0 ml	Roja a 1 x:	1,0 ml
Sonda 2 (10 x) - verde	1,0 ml	Verde a 0,5 x:	0,5 ml
BOND Hybridization solution (AR9037)	8,0 ml		8,5 ml
Volumen total a una concentración final 1 x	10 ml		10 ml
Número de pruebas	hasta 40 pruebas		hasta 40 pruebas

ES

Póngase en contacto con su distribuidor local o el Servicio de atención al cliente de la oficina regional de Leica Biosystems para comunicar cualquier tinción anormal.


 ANDREA DAOU
 DIRECTORA TÉCNICA
 M.P. 18941
 BIO-OPTIC SRL


 LIC. LUCAS M. VILLEGAS
 SOCIO GERENTE

Limitaciones específicas del producto

Los usuarios que se desvían de los procedimientos de prueba recomendados tienen que responsabilizarse de la interpretación de los resultados de los pacientes en estas circunstancias. Los tiempos de los protocolos pueden variar debido a las variaciones de los tipos de tejido, fijación y procesamiento. Además, es posible que la concentración y el tiempo de incubación de las enzimas BOND tengan que optimizarse en función del tipo de tejido y las condiciones de procesamiento y fijación.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la hibridación *in situ* con los reactivos BOND en la documentación del usuario del sistema BOND.

Advertencias y precauciones

- Este producto está diseñado exclusivamente para su uso diagnóstico *in vitro*.
- Exclusivamente para uso en laboratorio y por profesional cualificado
- Las sondas Kreatech FISH probes están diseñadas para su uso en sistemas BOND.
- No use los reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Lleve prendas, guantes, gafas y protección para la cara adecuados.
- Las sondas Kreatech FISH probes contienen formamida y, por

lo tanto, se deben registrar en el software BOND como residuos peligrosos.

- La formamida puede tener efectos adversos en la reproducción humana. Evite la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel no protegida. Si se produce contacto con la piel, lávese con agua abundante durante al menos 15 minutos.

PELIGRO



FORMAMIDE

Indicación de peligro

H360D Puede dañar al feto.

Precauciones

P201 Pedir instrucciones especiales para su uso

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

P308+P313 en caso de exposición manifiesta o presunta:
consultar con un médico.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Desechar el contenido/recipiente en un vertedero autorizado de productos químicos o en el caso de contenido orgánico mediante incineración a alta temperatura.

- Consulte información más detallada en la hoja de datos de seguridad. Para obtener una copia de la hoja de datos de seguridad, póngase en contacto con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems. Las hojas de datos de seguridad están disponibles en el sitio web de Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a estas, así como el volumen de sonda sobrante, se deben manipular como si fueran capaces de transmitir infecciones y desechar de acuerdo con las precauciones adecuadas.
- No pipetee nunca con la boca los reactivos y evite que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y las membranas mucosas.
- Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávese con agua abundante. Consulte con un médico.
- Limpie inmediatamente las salpicaduras usando materiales desechables adecuados.
- Todos los materiales se deben eliminar de acuerdo a las normas locales.
- Los pasos de recuperación o los tiempos o las temperaturas de incubación diferentes a los indicados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18341
BIO-OPTIC SRL



L.C. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *in situ* Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.1 - 13.
4. FISH on BOND User Guide (Guía del usuario para FISH en el sistema BOND).



ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.P. 18941
BIO-OPTIC SRL



LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

BOND FISH Kit

Catálogo N°.: DS9636

Uso previsto

Este reactivo es para uso diagnóstico *in vitro*.

El BOND FISH Kit permite al usuario realizar hibridación *in situ* con fluorescencia (fluorescence *in situ* hybridization, FISH) en el sistema BOND automatizado (que incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III). Está indicado para utilizarse con sondas de ácidos nucleicos en tejido fijado con formol e incluido en parafina (formalin-fixed, paraffin-embedded, FFPE).

La interpretación clínica de toda tinción o de su ausencia deberá complementarse con estudios morfológicos que utilicen los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado deberá realizar su evaluación dentro del contexto de los antecedentes médicos del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

El BOND FISH Kit consiste en una mezcla de formamida recomendada para su uso en el sistema BOND (que incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III). Esta solución reduce la hibridación no específica de las sondas de ácidos nucleicos. El BOND FISH Kit permite realizar FISH en el sistema BOND automatizado.

Reactivos suministrados

Post Hybridization Wash 2 Solution

Volumen total = 18 mL, suficiente para 60 pruebas.

Dilución y mezcla

El BOND FISH Kit está listo para su uso. Este reactivo no requiere reconstitución, mezcla, dilución ni titulación.

Material necesario pero no suministrado

Consulte el apartado sobre el uso de los reactivos BOND de su documentación del usuario de BOND para obtener una lista completa de los materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la hibridación *in situ* utilizando el sistema BOND (que incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III).

Conservación y estabilidad

Conserve este producto a 2-8 °C. En estas condiciones, el producto se mantendrá estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.

No hay signos obvios que puedan indicar contaminación o inestabilidad.

Vuelva a guardar el producto a 2-8 °C inmediatamente después del uso.

Las condiciones de conservación diferentes a las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario¹.

Precauciones

- Este producto está indicado para uso diagnóstico *in vitro*.

POST HYBRIDIZATION WASH 2

Contiene Formamida (<50%).

GHS08: Peligro para la salud.

Palabras de

advertencia: Peligro.

H360D: Puede dañar al feto.

P201: Pedir instrucciones especiales antes del uso.

P202: No manipular la sustancia antes de haber leído y comprendido todas las Instrucciones de seguridad.

P260: No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.

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

P308+313: EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Consultar a un médico.

P314: Consultar a un médico en caso de malestar.

Limitado a usuarios profesionales.

- Para obtener un ejemplar de la Safety Data Sheet, póngase en contacto con su distribuidor local o con la sucursal regional de Leica Biosystems; también puede visitar el sitio web de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a ellas deberán manipularse como si pudieran transmitir infecciones y eliminarse con las precauciones adecuadas². Nunca pipetee reactivos con la boca; evite el contacto de la piel y las mucosas con reactivos o muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas sensibles, lave estas con agua abundante. Consulte a un médico.
- Consulte la normativa pertinente sobre la eliminación de componentes potencialmente tóxicos.
- Para evitar que se produzcan tinciones no específicas, es necesario tomar medidas para reducir al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos.
- La recuperación, los tiempos de incubación y las temperaturas distintos a los especificados pueden dar lugar a resultados erróneos. Cualquier cambio en ellos deberá ser validado por el usuario.

Instrucciones de uso

El BOND FISH Kit está concebido para uso en el sistema BOND automatizado (que incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III) para uso con los reactivos complementarios BOND y las sondas de FISH seleccionadas por el usuario, incluidas las Kreotech XL FISH Probes.

El BOND FISH Kit deberá utilizarse con el BOND FISH Protocol D. Este está diseñado como protocolo de lavado posthibridación, para reducir la hibridación no específica de sondas de ácidos nucleicos.


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.F. 18343
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE

Tenga en cuenta que es importante que el usuario establezca las condiciones adecuadas de tratamiento previo e hibridación. El protocolo de la prueba puede variar según la sonda seleccionada por el usuario y según el tipo de muestra; para obtener más información, consulte las instrucciones de uso pertinentes.

Limitaciones específicas del producto

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 pueden variar debido a la variación en el tipo de tejido, la fijación y el procesamiento. Además, es posible que haya que optimizar la concentración y el tiempo de incubación de BOND Enzyme dependiendo de la sonda, del tipo de tejido, del procesamiento y de las condiciones de la fijación.

Características de rendimiento

El rendimiento del BOND FISH Kit, DS9636, se ha verificado utilizando una serie de Kreatech XL FISH Probes. El producto se mantendrá estable hasta la fecha de caducidad indicada en su etiqueta.

Resolución de problemas

La referencia 3 puede ayudar a llevar a cabo acciones correctoras.

Las muestras de las pruebas deberán complementarse con los controles de tejidos adecuados.

Póngase en contacto con su distribuidor local o con la sucursal regional de Leica Biosystems para notificar tinciones anormales.

Más información

La documentación del usuario de BOND contiene información adicional sobre la hibridación *in situ* con reactivos BOND; consulte los subapartados sobre el principio del procedimiento, los materiales necesarios, la preparación de las muestras, el control de calidad, la verificación del ensayo, la interpretación de la tinción, la clave de los símbolos de las etiquetas y las limitaciones generales del apartado sobre uso de los reactivos BOND.

Bibliografía

1. Clinical laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Fecha de publicación

25 de septiembre de 2018


ANDREA DAOU
DIRECTORA TÉCNICA
M.F. 18342
BIO-OPTIC SRL


LIC. LUCAS M. VILLEGAS
SOCIO GERENTE



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: BIO-OPTIC S.R.L rótulos e instrucciones de uso

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 287 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2023.01.11 08:27:01 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2023.01.11 08:27:04 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-005778-22-9

**CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN
PRODUCTO MÉDICO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO**

Expediente N° 1-0047-3110-005778-22-9

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por BIO-OPTIC S.R.L. ; se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto con los siguientes datos identificatorios característicos:

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre Comercial: Sondas FISH

Marca(s) de (los) producto(s) médico(s): Kreatech

Indicación/es de uso:

- ALK (2p23) Break- XL for BOND (KBI-XL001): Para uso diagnóstico in vitro

La sonda ALK (2p23) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH ALK (2p23) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen ALK en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés).

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas. La sonda ALK (2p23) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen ALK.

La sonda ALK (2p23) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen ALK.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al al gen ALK en 2p23.

- ROS1 (6022) Break - XL for BOND (KBI-XL002): Para uso diagnóstico in vitro

La sonda ROS1 (6q22) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND

automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH ROS1 (6q22) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen ROS1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés).

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

La sonda ROS1 (6q22) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen ROS1.

La sonda ROS1 (6q22) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen ROS1.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al gen ROS1 en 6q22.

- MET (7q31) / SE 7 (D7Z1) – XL for BOND (KBI-XL003): Para uso diagnóstico in vitro

La sonda MET (7q31) / SE 7 (D7Z1) – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH MET (7q31) / SE 7 (D7Z1) – XL for BOND detecta amplificaciones genómicas asociadas al gen MET en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés).

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

La sonda MET (7q31) – XL se ha optimizado para detectar números de copias de la región del gen MET en 7q31.

La sonda SE 7 (D7Z1) – XL se ha optimizado para detectar números de copias de la región del centrómero del cromosoma 7.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar la amplificación del gen MET en 7q31, como control se emplea la sonda del centrómero.

• **FGFR1 (8p11) /SE 8 (D821) – XL for BOND (KBI-XL004):** Para uso diagnóstico in vitro

La sonda FGFR1 (8p11) / SE 8 (D8Z1) – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH FGFR1 (8p11) / SE 8 (D8Z1) – XL for BOND detecta amplificaciones genómicas asociadas al gen FGFR1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés).

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

La sonda FGFR1 (8p11) – XL se ha optimizado para detectar números de copias de la región del gen FGFR1 en 8p11.

La sonda SE 8 (D8Z1) – XL se ha optimizado para detectar números de copias de la región del centrómero del cromosoma 8.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar la amplificación del gen FGFR1 en 8p11; como se emplea la sonda del centrómero.

• **RET (10q11) Break- XL for BOND (KBI-XL005):** Para uso diagnóstico in vitro

La sonda RET (10q11) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema

La sonda FISH RET (10q11) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen RET en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de carcinomas pulmonares de células no pequeñas (NSCLC, por sus siglas en inglés).

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

La sonda RET (10q11) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen RET.

La sonda RET (10q11) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen RET.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al gen RET en 10q11.

• **MYC (8q24) Break - XL for BOND (KBI-XL006):** Para uso diagnóstico in vitro

La sonda MYC (8q24) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de linfomas. Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH MYC (8q24) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen MYC en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

La sonda MYC (8q24) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los

puntos de rotura en la región del gen MYC.

La sonda MYC (8q24) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen MYC.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al gen MYC en 8q24.

• IGH (14q32) Break - XL for BOND (KBI-XL007): Para uso diagnóstico in vitro

La sonda IGH (14q32) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de linfomas. Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH IGH (14q32) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen IGH en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

La sonda IGH (14q32) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen IGH.

La sonda IGH (14q32) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen IGH.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al gen IGH en 14q32.

• BCL2 (18q21) Break - XL for BOND (KBI-XL008): Para uso diagnóstico in vitro

La sonda BCL2 (18q21) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de linfomas. Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH BCL2 (18q21) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen BCL2 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

La sonda BCL2 (18q21) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen BCL2.

La sonda BCL2 (18q21) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen BCL2.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al gen BCL2 en 18q21.

• TP53 (17p13) / SE 17 - XL for BOND (KBI-XL009): Para uso diagnóstico in vitro

La sonda BCL6 (3q27) Break – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de linfomas. Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH BCL6 (3q27) Break – XL for BOND detecta traslocaciones genómicas asociadas al gen BCL6 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y

otras pruebas diagnósticas.

La sonda BCL6 (3q27) Proximal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen BCL6.

La sonda BCL6 (3q27) Distal – XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen BCL6.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar traslocaciones asociadas al gen BCL6 en 3q27.

• TP53 (17p13) / SE 17 - XL for BOND (KBI-XL010): Para uso diagnóstico in vitro

La sonda TP53 (17p13) / SE 17 – XL for BOND está diseñada para su uso en cortes de tejidos embebidos en parafina y fijados con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés) de linfomas. Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FISH TP53 (17p13) / SE 17 – XL for BOND detecta eliminaciones genómicas asociadas al gen TP53 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado con tejidos de linfomas.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

La sonda TP53 (17p13) – XL se ha optimizado para detectar números de copias de la región del gen TP53 en 17p13.

La sonda SE 17 (D17Z1) – XL se ha optimizado para detectar números de copias de la región del centrómero del cromosoma 17.

Las dos sondas combinadas se usan para detectar la eliminación del gen TP53 en 17p13, como control se emplea la sonda del centrómero.

• EGFR (7p11) / SE 7 (D7Z1) – XL for BOND (KBI-XL011): Para uso diagnóstico in vitro

EGFR (7p11) / SE 7 (D7Z1) - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda EGFR (7p11) / SE 7 (D7Z1) - XL para BOND FISH detecta las amplificaciones genómicas que afectan al gen EGFR en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de CPCNP.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

EGFR (7p11) - XL se ha optimizado para detectar los números de copias en la región del gen EGFR en 7p11.

SE 7 (D7Z1) se ha optimizado para detectar los números de copias de la región del centrómero del cromosoma 7.

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las amplificaciones del gen EGFR en 7p11, con la sonda del centrómero como control.

• NTRK1 (1q23) Break – XL for BOND (KBI-XL012): Para uso diagnóstico in vitro

NTRK1 (1q23) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE, por sus siglas en inglés). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda NTRK1 (1q23) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen NTRK1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de CPCNP.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

NTRK1 (1q23) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen NTRK1.

NTRK1 (1q23) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen NTRK1. Ambas sondas se usan en combinación para detectar las translocaciones que afectan al gen NTRK1 en 1q23.

• CCND1 (11q13) Break– XL for BOND (KBI-XL013): Para uso diagnóstico in vitro

CCND1 (11q13) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de linfoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda CCND1 (11q13) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen CCND1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de linfoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

CCND1 (11q13) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen CCND1.

CCND1 (11q13) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen CCND1.

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las translocaciones que afectan al gen CCND1 en 11q13.

• MDM2 (12q15) / SE 12 (D12Z3) – XL for BOND (KBI-XL014): Para uso diagnóstico in vitro

MDM2 (12q15) / SE 12 (D12Z3) - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de sarcoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda MDM2 (12q15) / SE 12 (D12Z3) - XL para BOND FISH detecta las amplificaciones genómicas que afectan al gen MDM2 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

MDM2 (12q15) - XL se ha optimizado para detectar los números de copias en la región del gen MDM2 en 12q15. SE 12 (D12Z3) se ha optimizado para detectar los números de copias de la región del centrómero del cromosoma 12.

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las amplificaciones del gen MDM2 en 12q15, con la sonda del centrómero como control.

• DDIT3 (12q13) Break – XL for BOND (KBI-XL015): Para uso diagnóstico in vitro

DDIT3 (12q13) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de sarcoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda DDIT3 (12q13) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen DDIT3 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y

controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

DDIT3 (12q13) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen DDIT3.

DDIT3 (12q13) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen DDIT3.

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las translocaciones que afectan al gen DDIT3 en 12q13.

• FOXO1 (13q14) Break – XL for BOND (KBI-XL016): Para uso diagnóstico in vitro

FOXO1 (13q14) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de sarcoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FOXO1 (13q14) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen FOXO1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

FOXO1 (13q14) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen FOXO1.

FOXO1 (13q14) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen FOXO1.

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las translocaciones que afectan al gen FOXO1 en 13q14.

• FUS (16p11) Break – XL for BOND (KBI-XL017): Para uso diagnóstico in vitro

FUS (16p11) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de sarcoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda FUS (16p11) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen FUS en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

FUS (16p11) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen FUS.

FUS (16p11) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen FUS.

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las translocaciones que afectan al gen FUS en 16p11.

• SS18 (18q11) Break – XL for BOND (KBI-XL018): Para uso diagnóstico in vitro

SS18 (18q11) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de sarcoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda SS18 (18q11) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen SS18 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y

otras pruebas diagnósticas.

SS18 (18q11) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen SS18.

SS18 (18q11) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen SS18.

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las translocaciones que afectan al gen SS18 en 18q11.

• EWSR1 (22q12) Break – XL for BOND (KBI-XL019): Para uso diagnóstico in vitro

EWSR1 (22q12) Break - XL para BOND está prevista para su uso en secciones de tejido de sarcoma fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). Las sondas se deben usar junto con el BOND FISH Kit (DS9636) en un sistema BOND automatizado (incluye los sistemas BOND-MAX y BOND-III).

La sonda EWSR1 (22q12) Break - XL para BOND FISH detecta las translocaciones genómicas que afectan al gen EWSR1 en tejidos FFPE. La sonda se ha validado en tejidos de sarcoma.

La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia se debe complementar con estudios morfológicos y controles adecuados, y un patólogo cualificado la debe evaluar en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

EWSR1 (22q12) Proximal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas proximales a los puntos de rotura en la región del gen EWSR1.

EWSR1 (22q12) Distal - XL se ha optimizado para detectar las regiones genómicas distales a los puntos de rotura en la región del gen EWSR1.

Ambas sondas se usan en combinación para detectar las translocaciones que afectan al gen EWSR1 en 22q12.

• BOND FISH Kit (DS9636): Este reactivo es para uso diagnóstico in vitro.

El BOND FISH Kit permite al usuario realizar hibridación in situ con fluorescencia (fluorescence in situ hybridization, FISH) en el sistema BOND automatizado (que incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III). Está indicado para utilizarse con sondas de ácidos nucleicos en tejido fijado con formol e incluido en parafina (formalin-fixed, paraffin-embedded, FFPE).

La interpretación clínica de toda tinción o de su ausencia deberá complementarse con estudios morfológicos que utilicen los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado deberá realizar su evaluación dentro del contexto de los antecedentes médicos del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Forma de presentación: Las sondas FISH de Kreatech están compuestas por 2 viales (Proximal y Distal) de 1mL cada una conteniendo:

Proximal: Las sondas de ADN PlatinumBright™ 495 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

Distal: Sondas de ADN PlatinumBright™550 etiquetadas con fluoróforo en tampón de hibridación. El tampón de hibridación contiene formamida al 50 %.

Ingrediente % en la composición

Agua 20-50

Formamide 40-70

Dextran Sulfate 5-20

Sodium Chloride 1

Sodium Citrate Dehydrate 1

El BOND FISH Kit (DS9636) está compuesto por 1 vial de 18mL (suficiente para 60 pruebas) de Post Hybridization Wash 2 Solution que Contiene Formamida (<50%).

Período de vida útil: Sondas FISH Kreatech 24 meses. Entre 2°C y 8 °C.

BOND FISH Kit (DS9636) 18 meses. Entre 2°C y 8 °C.

Nombre del fabricante:

KREATECH BIOTECHNOLOGY B.V.

Lugar de elaboración:

Vlierweg 20, 1032 LG Amsterdam, Países Bajos.

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 2234-030 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-005778-22-9

N° Identificadorio Trámite: 41567

AM