

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

Catalog No: PB0809

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park
Benton Lane
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW
United Kingdom
☎ +44 191 215 4242



[EN](#) [FR](#) [IT](#) [DE](#) [ES](#) [PT](#) [SV](#) [EL](#) [DA](#) [NL](#)
[NO](#) [TR](#) [BG](#) [HU](#) [RO](#) [RU](#) [PL](#) [SL](#) [CS](#) [SK](#) [AR](#)

Instructions for Use

Please read before using this product.

Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

Istruzioni per L'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

Instrucciones de Uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

Instruktioner vid Användning

Var god läs innan ni använder produkten.

Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

Brugsanvisning

Læs venligst før produktet tages i brug.

Gebruiksaanwijzing

Lezen vóór gebruik van dit product.

Bruksanvisning

Vennligst les denne før du bruker produktet.

Kullanım Talimatları

Lütfen bu ürünü kullanmadan önce okuyunuz.

Инструкции за употреба

Моля, прочетете преди употреба на този продукт.

Használati utasítás

A termék használatba vétele előtt olvassa el.

Instruțiuni de utilizare

Citiți aceste instruțiuni înainte de a utiliza produsul.

Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

Instrukcja obsługi

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

Návod k použití

Čtěte před použitím tohoto výrobku.

Návod na použitie

Prosím, prečítajte si ho pred použitím produktov.

إرشادات الاستعمال

يُرجى القراءة قبل استخدام هذا المنتج.

Check the integrity of the packaging before use.

Vérifier que le conditionnement est en bon état avant l'emploi.

Prima dell'uso, controllare l'integrità della confezione.

Vor dem Gebrauch die Verpackung auf Unversehrtheit überprüfen.

Comprobar la integridad del envase, antes de usarlo.

Verifique a integridade da embalagem antes de utilizar o produto.

Kontrollera att paketet är obrutet innan användning.

Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευασίας πριν από τη χρήση.

Kontroller, at pakken er ubeskadiget før brug.

Controleer de verpakking vóór gebruik.

Sjekk at pakningen er intakt før bruk.

Kullanmadan önce ambalajın bozulmamış olmasını kontrol edin.

Проверете целостта на опаковката преди употреба.

Használat előtt ellenőrizze a csomagolás épségét.

Verificați integritatea ambalajului înainte de a utiliza produsul.

Перед применением убедитесь в целостности упаковки.

Przed użyciem należy sprawdzić, czy opakowanie jest szczelne.

Pred uporabo preverite celovitost embalaže.

Před použitím zkontrolujte neporušenost obalu.

Pre použitím skontrolujte, či balenie nie je porušené.
تحقق من سلامة العبوة قبل الاستخدام.

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

Catalog No: PB0809

Intended Use

This reagent is for *in vitro* diagnostic use.

RNA Negative Control Probe is intended for use in the identification of background staining resulting from non-specific interactions in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue by *in situ* hybridization (ISH) using the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system).

The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies and proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Summary and Explanation

RNA Negative Control Probe is a single oligonucleotide, designed from zebra fish DNA and analysed using Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) analysis to confirm that the sequence bears no homology with any human sequences. The RNA Negative Control Probe is generated with a fluorescein label using the same procedures as applied to other oligonucleotide probes used in the detection of RNA on BOND. Therefore, RNA Negative Control Probe is ideal as a negative control probe for RNA ISH on BOND.

Reagents Provided

RNA Negative Control Probe is a fluorescein-conjugated oligonucleotide probe (200 ng/mL) supplied in hybridization solution.
Total volume = 5.5 mL

Dilution and Mixing

RNA Negative Control Probe is ready to use. Reconstitution, mixing, dilution or titration of this reagent is not required.

Materials Needed but not Provided

Refer to "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation for a complete list of materials required for specimen treatment and *in situ* hybridization staining using the BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system).

Storage and Stability

Store at 2–8 °C. The product is stable under these conditions up to the expiry date indicated on the container label.

There are no obvious signs indicating contamination and/or instability. Appropriate positive and negative tissue controls should be run at the same time as test tissue.

Return to 2–8 °C immediately after use.

Storage conditions other than those specified above must be verified by the user¹.

Precautions

- This product is intended for *in vitro* diagnostic use.

RNA NEGATIVE CONTROL PROBE

Contains Formamide (<50%) and Dextran Sulphate (<30%).

GHS07: Exclamation mark.

GHS08: Health hazard.

Signal words: Danger.

H360D: May damage

the unborn child.

H315: Causes skin irritation.

H319: Causes serious eye irritation.

P201: Obtain special instructions before use.

P202: Do not handle until all safety precautions have been read and understood.

P260: Do not breathe dust/fumes/gas/mist/vapours/spray.

P308+313: IF exposed or concerned: Get medical advice/attention.

P314: Get medical advice/attention if you feel unwell.

P264: Wash hands thoroughly after handling.

P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305+351+338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

P337+313: If eye irritation persists: Get medical advice/attention.

P302+352: IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.

P332+313: If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.

P362+364: Take off contaminated clothing and wash before reuse. Restricted to professional users.

- To obtain a copy of the Material Safety Data Sheet contact your local distributor or regional office of Leica Biosystems, or alternatively, visit the Leica Biosystems' Web site, www.LeicaBiosystems.com.
- Specimens, before and after fixation, and all materials exposed to them, should be handled as if capable of transmitting infection and disposed of with proper precautions². Never pipette reagents by mouth and avoid contacting the skin and mucous membranes with reagents or specimens. If reagents or specimens come in contact with sensitive areas, wash with copious amounts of water. Seek medical advice.
- Consult Federal, State or local regulations for disposal of any potentially toxic components.
- Minimize microbial contamination of reagents or an increase in non-specific staining may occur.
- Retrieval, incubation times or temperatures other than those specified may give erroneous results. Any such change must be validated by the user.

Instructions for Use

RNA Negative Control Probe was developed for use on the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system) in combination with Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection and BOND ancillary reagents. The recommended staining protocol for RNA Negative Control Probe is ISH Protocol A. Enzyme retrieval is recommended using the BOND Enzyme Pre-treatment Kit, Enzyme 1, for 15 minutes.

Appropriate tissue and reagent controls should always be used. The protocol for the tissue and reagent controls should correspond to that of the RNA test probe.

Quality Control

Differences in tissue processing and technical procedures in the user's laboratory may produce significant variability in results, necessitating regular performance of in-house controls in addition to the following procedures.

Positive Tissue Control

Used to indicate correctly prepared tissues and proper staining techniques. One positive tissue control should be included for each set of test conditions in each staining run.

A tissue with weak positive staining is more suitable than a tissue with strong positive staining for optimal quality control and to detect minor levels of reagent degradation.

Negative Tissue Control

Should be examined after the positive tissue control to verify the specificity of the labeling of probe to the target. Alternatively, the variety of different cell types present in most tissue sections frequently offers negative control sites, but this should be verified by the user.

Negative Reagent Control

Use RNA Negative Control Probe PB0809 in place of the RNA test probe with a section of each patient specimen to evaluate non-specific staining and allow better interpretation of specific staining at the target.

Positive Reagent Control

Use RNA Positive Control Probe PB0785 in place of the RNA test probe with a section of each patient specimen to provide information on the preservation of nucleic acids in the tissue as well as accessibility of nucleic acids to the probe. If the RNA Positive Control Probe fails to demonstrate positive staining, results with the test specimens should be considered invalid.

Patient Tissue

Examine patient specimens stained with RNA test probe last. Positive staining intensity should be assessed within the context of any non-specific background staining of the RNA Negative Control Probe PB0809.

Results Expected

Normal Tissues

Using PB0809 no staining was observed in a wide range of tissues. (Total number of normal cases evaluated = 96).

Abnormal Tissues

Using PB0809 no staining was observed in ovarian tumors (0/3), thyroid tumors (0/3), lung tumors (0/3), liver tumors (0/3), brain tumors (0/2), esophageal tumors (0/2), breast tumors (0/2), skin tumors (0/2), metastatic tumors of unknown origin (0/2), stomach tumors (0/1), colon tumors (0/1), rectal tumors (0/1), a tumor of the larynx (0/1), and a tumor of the thymus (0/1) (Total number of abnormal cases evaluated = 29).

PB0809 is recommended to aid as a screening tool to evaluate staining of an RNA test probe on a patient specimen.

Product Specific Limitations

RNA Negative Control Probe has been optimized at Leica Biosystems for use with Anti-Fluorescein antibody, BOND Polymer Refine Detection and BOND ancillary reagents. Users who deviate from recommended test procedures must accept responsibility for interpretation of patient results under these circumstances. The protocol times may vary, due to variation in tissue fixation and the effectiveness of enzymatic digestion, and must be determined empirically. RNA Negative Control Probe should be used when optimising retrieval conditions and protocol times.

Troubleshooting

Reference 3 may aid in remedial action.

Contact your local distributor or the regional office of Leica Biosystems to report unusual staining.

Further Information

Further information on *in situ* hybridization with BOND reagents, under the headings Principle of the Procedure, Materials Required, Specimen Preparation, Quality Control, Assay Verification, Interpretation of Staining, Key to Symbols on Labels, and General Limitations can be found in "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation.

References

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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.

Date of Issue

25 September 2018

PB0809

Page 3

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

Référence: PB0809

Utilisation Prévue

Ce réactif est destiné au diagnostic *in vitro*.

RNA Negative Control Probe est conçue pour l'identification du marquage de bruit de fond résultant d'interactions non spécifiques lors de l'hybridation *in situ* (ISH) système BOND automatisé (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III) sur tissu fixé à la formaline et enrobé de paraffine.

L'interprétation clinique de tout marquage ou de son absence doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et évaluée dans le contexte des antécédents cliniques du patient et des autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

Résumé et Explications

RNA Negative Control Probe est un oligonucléotide simple, élaboré à partir d'ADN de Danio rerio (poisson zèbre) et analysé à l'aide d'un outil de recherche d'alignement local de séquences (BLAST) pour confirmer que les séquences ne présentent aucune homologie avec des séquences humaines. RNA Negative Control Probe est produit avec un marqueur fluorescéine en utilisant les mêmes procédures que celles appliquées aux autres sondes oligonucléotidiques utilisées dans la détection de l'ARN sur BOND. Par conséquent, RNA Negative Control Probe convient idéalement comme contrôle négatif lors de l'ISH d'ARN sur BOND.

Réactifs Fournis

RNA Negative Control Probe est une sonde oligonucléotidique conjuguée à la fluorescéine (200 ng/ml) fournie en solution d'hybridation. Volume total = 5,5 ml

Dilution et Mélange

RNA Negative Control Probe est prête à l'emploi. Reconstitution, mélange, dilution ou titration de ce réactif non nécessaire.

Matériel Nécessaire Non Fourni

Voir "Utilisation des réactifs BOND" dans votre manuel d'utilisation BOND pour obtenir la liste complète du matériel nécessaire au traitement des échantillons et au marquage par hybridation *in situ* avec système BOND automatisé (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III).

Conservation et Stabilité

Conserver entre 2–8 °C. Le produit reste stable dans ces conditions jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette du récipient.

Il n'y a aucun signe évident indiquant une contamination et/ou une instabilité. Des contrôles tissulaires positifs et négatifs appropriés doivent être testés en même temps que le tissu analysé.

Remettre à 2–8 °C immédiatement après usage.

Des conditions de stockage différentes de celles ci-dessus doivent être contrôlées par l'utilisateur¹.

Précautions

- Ce produit est conçu pour le diagnostic *in vitro*.

RNA NEGATIVE CONTROL PROBE

Contient Formamide (<50%) et le sulfate de dextran (<30%).
GHS07: Point d'exclamation.
GHS08: Danger pour la santé.
Mentions d'avertissement: Danger.

H360D: Peut nuire au fœtus.
H315: Provoque une irritation cutanée.
H319: Provoque une sévère irritation des yeux.

P201: Se procurer les instructions avant utilisation.
P202: Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité.
P260: Ne pas respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.
P308+313: EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée: consulter un médecin.
P314: Consulter un médecin en cas de malaise.
P264: Se laver les mains soigneusement après manipulation.
P280: Porter des gants de protection/des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux/du visage.
P305+351+338: EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.
P337+313: Si l'irritation oculaire persiste: consulter un médecin.
P302+352: EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: laver abondamment à l'eau et au savon.
P332+313: En cas d'irritation cutanée: consulter un médecin.
P362+364: Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.
Usage réservé aux professionnels.

- Pour obtenir une copie de la fiche technique des substances dangereuses, contactez votre distributeur local ou le bureau régional de Leica Biosystems, ou allez sur le site Web de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com.
- Les échantillons, avant et après fixation, et tous les matériels ayant été en contact avec eux, devraient être manipulés comme s'ils étaient à risque infectieux et éliminés avec les précautions adéquates². Ne jamais pipeter les réactifs à la bouche et éviter le contact de la peau et des muqueuses avec les réactifs ou les échantillons. Si des réactifs ou des échantillons entrent en contact avec des zones sensibles, rincer abondamment à l'eau. Consultez un médecin.

- Renseignez-vous sur les règlements fédéraux, nationaux et locaux pour l'élimination des composés potentiellement toxiques.
- Éviter une contamination microbienne des échantillons qui peut entraîner un marquage non spécifique.
- Des durées ou températures de révélation ou d'incubation autres que celles spécifiées peuvent donner des résultats erronés. Tout changement doit être validé par l'utilisateur.

Mode D'emploi

RNA Negative Control Probe a été développé pour être utilisé sur le système BOND automatisé (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III) en association avec Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection et les réactifs auxiliaires BOND. Le protocole de coloration recommandé pour RNA Negative Control Probe est ISH Protocol A. Un prétraitement enzymatique est recommandé avec BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1, pendant 15 minutes.

Des contrôles appropriés de tissu et de réactif doivent toujours être employés. Le protocole relatif au tissu et aux contrôles de réactif doit correspondre à celui de la sonde d'essai d'ARN.

Contrôle de qualité

Des différences de traitement des tissus et de procédures techniques dans le laboratoire de l'utilisateur sont susceptibles de conduire à une variabilité significative des résultats, ce qui rend nécessaire la mise en œuvre régulière de contrôles en interne, en plus des procédures suivantes.

Contrôle positif du tissu

Il est utilisé pour indiquer que les tissus ont été préparés correctement et que les techniques de marquage sont appropriées. Un contrôle positif du tissu doit être inclus pour chaque série de conditions d'essais et pour chaque essai de marquage. Un tissu présentant un marquage faiblement positif est plus adapté à un contrôle optimal de qualité qu'un tissu présentant un marquage fortement positif, il permet également de détecter des niveaux moindres de dégradation du réactif.

Contrôle négatif du tissu

Il doit être examiné après le contrôle positif du tissu afin de vérifier la spécificité du marquage de la sonde vers le site cible. La diversité des différents types cellulaires présents dans la plupart des coupes tissulaires permet fréquemment de disposer de sites de contrôle négatif, mais cette possibilité doit être vérifiée par l'utilisateur.

Contrôle négatif du réactif

Utiliser RNA Negative Control Probe PB0809 à la place de la sonde d'essai d'ARN avec une coupe de chaque échantillon du patient afin d'évaluer le marquage non spécifique et de permettre une meilleure interprétation du marquage spécifique au niveau du site cible.

Contrôle positif du réactif

Utiliser RNA Positive Control Probe PB0785 à la place de la sonde d'essai d'ARN avec une coupe de chaque échantillon du patient afin d'obtenir des informations sur la préservation des acides nucléiques dans le tissu ainsi que la pénétrabilité des acides nucléiques vis-à-vis de la sonde. Si RNA Positive Control Probe ne présente pas de marquage positif, les résultats des échantillons d'essai doivent être considérés comme invalides.

Tissu du patient

Examiner les échantillons du patient marqués avec la sonde d'essai d'ARN en dernier. L'intensité du marquage positif ne doit être évaluée que par rapport au marquage non spécifique obtenu avec RNA Negative Control Probe PB0809.

Résultats Attendus

Tissus sains

À l'aide de PB0809, aucune coloration n'a été observée dans un large éventail de tissus. (Nombre total de cas normaux évalués = 96).

Tissus tumoraux

À l'aide de PB0809, aucune coloration n'a été observée dans les tumeurs ovariennes (0/3), tumeurs de la thyroïde (0/3), tumeurs pulmonaires (0/3), tumeurs du foie (0/3), tumeurs du cerveau (0/2), tumeurs de l'œsophage (0/2), tumeurs mammaires (0/2), tumeurs de la peau (0/2), tumeurs métastatiques d'origine inconnue (0/2), tumeurs de l'estomac (0/1), tumeurs du côlon (0/1), tumeurs rectales (0/1), une tumeur du larynx (0/1) et une tumeur du thymus (0/1) (Nombre total de cas anormaux évalués = 29).

PB0809 est recommandé pour aider en tant qu'outil de dépistage afin d'évaluer la coloration d'une sonde d'essai d'ARN sur le spécimen d'un patient.

Limites Spécifiques du Produit

RNA Negative Control Probe a été optimisée chez Leica Biosystems pour une utilisation avec Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection et les réactifs auxiliaires BOND. Les utilisateurs qui ne respectent pas les procédures de test recommandées prennent la responsabilité de l'interprétation des résultats des patients dans ces conditions. Les durées du protocole doivent être déterminées empiriquement, à cause des variations de fixation des tissus et de l'efficacité de la digestion enzymatique. RNA Negative Control Probe devrait être réalisés lors de l'optimisation des conditions de révélation et des durées du protocole.

Dépannage

La référence 3 peut faciliter les mesures correctrices.

Prenez contact avec votre distributeur local ou avec le bureau régional de Leica Biosystems pour signaler tout marquage inattendu.

Informations Complémentaires

Des informations complémentaires sur l'hybridation *in situ* avec les réactifs BOND, les principes de la procédure, le matériel requis, la préparation des échantillons, les contrôles qualité, les vérifications d'analyse, l'interprétation du marquage, les légendes et symboles sur les étiquettes et les limitations générales peuvent être trouvées dans "Utilisation des réactifs BOND" dans votre manuel d'utilisation BOND.

Références

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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.

Date de la Version

25 septembre 2018

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

N. catalogo: PB0809

Uso Previsto

Reagente per uso diagnostico *in vitro*.

L'uso dell'RNA Negative Control Probe è previsto per l'identificazione della colorazione di fondo prodotta da interazioni aspecifiche in sezioni di tessuto fissate in formalina, incluse in paraffina attraverso l'ibridazione *in situ* (ISH, *In situ* Hybridization) con il sistema automatizzato BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III).

L'interpretazione clinica di un'eventuale colorazione, o della sua assenza, deve avvalersi di studi morfologici e di opportuni controlli ed essere effettuata da patologi qualificati, nel contesto dell'anamnesi clinica del paziente e di altri test diagnostici.

Sintesi e Note Esplicative

La RNA Negative Control Probe è un singolo oligonucleotide, progettato a partire dal DNA del pesce zebra e analizzato con il BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) per confermare che la sequenza non contenesse omologie con nessuna sequenza umana. La RNA Negative Control Probe è realizzata con una marcatura con fluoresceina utilizzando le stesse procedure applicate alle altre sonde oligonucleotidiche impiegate nell'individuazione dell'RNA nel BOND. Per questo la RNA Negative Control Probe è uno strumento ideale per il controllo negativo della ISH dell'RNA nel BOND.

Reagenti Forniti

La RNA Negative Control Probe è una sonda oligonucleotidica coniugata con fluoresceina (200 ng/ml) fornita in soluzione per ibridazione.

Volume totale = 5,5 ml

Diluizione e Miscelazione

La RNA Negative Control Probe è pronta per l'uso. Non è necessario ricostituire, miscelare, diluire o titolare il reagente.

Materiali Necessari Ma Non Forniti

Per un elenco completo dei materiali necessari per il trattamento del campione e l'ibridazione *in situ* con il sistema BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III), consultare l'"Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente BOND.

Conservazione e Stabilità

Conservare a 2–8 °C. In queste condizioni il prodotto è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del contenitore.

Non vi sono segni evidenti che indichino contaminazione e/o instabilità. Eseguire i controlli tissutali positivi e negativi adeguati contemporaneamente al test.

Riportare a 2–8 °C immediatamente dopo l'uso.

L'utente deve verificare eventuali condizioni di conservazione diverse da quelle specificate¹.

Precauzioni

- L'uso previsto del prodotto è per uso diagnostico *in vitro*.

RNA NEGATIVE CONTROL PROBE

Contiene Formammide (<50%) e destrano solfato (<30%).

GHS07: Punto esclamativo.

GHS08: Pericolo per la salute.

Avvertenze: Pericolo.

H360D: Può nuocere al feto.

H315: Provoca irritazione cutanea.

H319: Provoca grave irritazione oculare.

P201: Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.

P202: Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze.

P260: Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.

P308+313: IN CASO DI esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico.

P314: In caso di malessere, consultare un medico.

P264: Lavare accuratamente mani dopo l'uso.

P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/ il viso.

P305+351+338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P337+313: Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico.

P302+352: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone.

P332+313: In caso di irritazione della pelle: consultare un medico.

P362+364: Togliersi di dosso gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

Riservato ad utenti professionali.

- Una copia della Scheda di sicurezza può essere richiesta al distributore locale o all'ufficio di zona di Leica Biosystems o, in alternativa, visitando il sito di Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com.
- I campioni, prima e dopo la fissazione, e tutti i materiali esposti ad essi devono essere manipolati come potenziali vettori di infezione e smaltiti con le opportune precauzioni². Non pipettare mai i reagenti con la bocca ed evitare il contatto dei reagenti e dei campioni con la pelle e le membrane mucose. Se un reagente o un campione viene a contatto con superfici sensibili, lavare abbondantemente con acqua. Consultare un medico.
- Consultare la normativa nazionale, regionale o locale vigente per lo smaltimento dei componenti potenzialmente tossici.

- Ridurre al minimo la contaminazione microbica dei reagenti per evitare il rischio di una colorazione non specifica.
- Tempi o temperature di incubazione diversi da quelli specificati possono fornire risultati erranei. Ogni eventuale modifica deve essere validata dall'utente.

Istruzioni per l'uso

RNA Negative Control Probe è stato sviluppato per l'uso sul sistema BOND automatizzato (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III) unitamente a Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection e con i reagenti ausiliari BOND. Il protocollo di colorazione raccomandato per RNA Negative Control Probe è ISH Protocol A. Si raccomanda un pretrattamento enzimatico usando BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 per 15 minuti.

Usare sempre controlli appropriati dei tessuti e dei reagenti. Il protocollo per i controlli dei tessuti e dei reagenti deve corrispondere a quello della sonda test di RNA.

Controllo di qualità

Differenze nella lavorazione del tessuto e nei procedimenti tecnici in uso presso il laboratorio dell'utente possono produrre una discrepanza significativa nei risultati, rendendo necessaria la regolare esecuzione di controlli interni in aggiunta alle procedure descritte di seguito.

Controllo positivo del tessuto

È usato per indicare tessuti correttamente preparati e tecniche di colorazione appropriate. Per ogni gruppo di condizioni del test in ogni ciclo di colorazione, deve essere incluso un controllo positivo del tessuto. Un tessuto a debole colorazione positiva è più adatto di uno a forte colorazione positiva per un controllo di qualità ottimale e per rilevare livelli minimi di degradazione del reagente.

Controllo negativo del tessuto

Va esaminato dopo il controllo positivo del tessuto per verificare la specificità della marcatura della sonda sul bersaglio. In alternativa, la varietà di tipi cellulari diversi presenti nella maggior parte delle sezioni tissutali offre spesso siti di controllo negativo, ma questo va verificato dall'utente.

Controllo negativo del reagente

Usare RNA Negative Control Probe PB0809 al posto della sonda test di RNA con una sezione di ogni campione del paziente per valutare la colorazione aspecifica e per consentire una migliore interpretazione della colorazione specifica in corrispondenza del bersaglio.

Controllo positivo del reagente

Usare RNA Positive Control Probe PB0785 al posto della sonda test di RNA con una sezione di ogni campione del paziente per fornire informazioni sulla preservazione degli acidi nucleici nel tessuto nonché sull'accessibilità degli acidi nucleici alla sonda. Se RNA Positive Control Probe non dimostra alcuna colorazione positiva, i risultati dei campioni analizzati vanno considerati non validi.

Tessuto del paziente

Per ultimi, esaminare i campioni biologici del paziente colorati con la sonda test di RNA. L'intensità della colorazione positiva va analizzata nel contesto di qualsiasi colorazione aspecifica di fondo di RNA Negative Control Probe PB0809.

Risultati Attesi

Tessuti normali

Utilizzando PB0809, non è stata osservata colorazione in una vasta gamma di tessuti. (Numero totale di casi normali esaminati = 96).

Tessuti neoplastici

Utilizzando PB0809, non è stata osservata colorazione in tumori ovarici (0/3), tumori tiroidei (0/3), tumori ai polmoni (0/3), tumori al fegato (0/3), tumori al cervello (0/2), tumori esofagei (0/2), tumori mammari (0/2), tumori della pelle (0/2), tumori metastatici di origine ignota (0/2), tumori allo stomaco (0/1), tumori del colon (0/1), tumori del retto (0/1), tumore della laringe (0/1) e tumore del timo (0/1) (Numero totale di casi anormali esaminati = 29).

PB0809 è consigliata quale strumento di ausilio allo screening per valutare la colorazione di un RNA di prova su un campione di pazienti.

Limitazioni Specifiche del Prodotto

La RNA Negative Control Probe è stata ottimizzata da Leica Biosystems per l'uso con l'Anti-Fluorescein Antibody, il BOND Polymer Refine Detection e con i reagenti ausiliari BOND. Gli utenti che modificano le procedure raccomandate devono assumersi la responsabilità dell'interpretazione dei risultati relativi ai pazienti in tali circostanze. I tempi del protocollo possono variare in base alle variazioni nella fissazione del tessuto e nell'efficienza della digestione enzimatica e devono essere definiti in modo empirico. Nell'ottimizzazione delle condizioni di riconoscimento e dei tempi del protocollo si devono impiegare del RNA Negative Control Probe.

Identificazione e Risoluzione dei Problemi

Il riferimento bibliografico n. 3 può essere di aiuto per le azioni di rimedio.

Per riferire una colorazione inusuale rivolgersi al distributore locale o all'ufficio di zona di Leica Biosystems.

Altre Informazioni

Altre informazioni sull'ibridazione *in situ* con i reagenti BOND si trovano in "Usi dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente BOND, ai titoli Principio della procedura, Materiali necessari, Preparazione del campione, Controllo di qualità, Verifica del saggio, Interpretazione della colorazione, Leggenda dei simboli e delle etichette e Limitazioni generali.

Bibliografia

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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.

Data di Pubblicazione

25 settembre 2018

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

Bestellnr.: PB0809

Verwendungszweck

Dieses Reagenz ist für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.

RNA Negative Control Probe ist zur Identifizierung von Hintergrundfärbungen als Folge unspezifischer Wechselwirkungen in formalinfiziertem, in Paraffin eingebettetem Gewebe mittels der *In-situ*-Hybridisierung (ISH) mit dem automatischen BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) vorgesehen.

Die klinische Auswertung der An- oder Abwesenheit einer Färbung sollte durch morphologische Untersuchungen und geeignete Kontrollen ergänzt werden und sollte im Zusammenhang mit der Krankengeschichte eines Patienten und anderen diagnostischen Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

Zusammenfassung und Erläuterung

Bei der RNA Negative Control Probe handelt es sich um ein Oligonukleotid, das auf Zebrafisch-DNA basiert und dessen Sequenz mit einer Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) Analyse untersucht wurde, um sicherzustellen, dass keine Homologie zu Humansenquenzen vorhanden ist. Die RNA Negative Control Probe wurde mit denselben Verfahren wie für andere Oligonukleotidsonden, die beim RNA-Nachweis mit dem BOND benutzt werden, mit einem Fluorescein-Marker versehen. Deshalb ist RNA Negative Control Probe ideal für die Verwendung als negative Kontrollsonde für die RNA-ISH mit dem BOND.

Im Lieferumfang Enthaltene Reagenzien

RNA Negative Control Probe ist eine Fluorescein-konjugierte Oligonukleotidsonde (200 ng/ml), die in einer Hybridisierungslösung geliefert wird.

Gesamtvolumen = 5,5 ml

Verdünnung und Mischung

RNA Negative Control Probe ist gebrauchsfertig. Rekonstitution, Mischen, Verdünnen oder Titrieren dieses Reagenzes ist nicht erforderlich.

Zusätzlich Benötigte Materialien

Eine vollständige Liste der Materialien, die für die Probenbehandlung und die Färbung durch *In-situ*-Hybridisierung mit dem BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) benötigt werden, befindet sich im Abschnitt "Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien" in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch.

Aufbewahrung und Stabilität

Bei 2–8 °C lagern. Das Produkt ist unter diesen Bedingungen bis zu dem auf dem Behälteretikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

Es gibt keine klaren Zeichen, die auf eine Kontamination und/oder Instabilität hinweisen. Passende positive und negative Gewebekontrollen sollten zusammen mit dem untersuchten Gewebe analysiert werden.

Unmittelbar nach Gebrauch wieder bei 2–8 °C aufbewahren.

Andere als die oben angegebenen Lagerungsbedingungen müssen vom Anwender selbst getestet werden¹.

Vorsichtsmaßnahmen

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

RNA NEGATIVE CONTROL PROBE	H360D: Kann das Kind im Mutterleib schädigen.	P201: Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.
Enthält Formamid (<50%) und Dextran-Sulfat (<30%).	H315: Verursacht Hautreizungen.	P202: Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.
GHS07: Ausrufezeichen.	H319: Verursacht schwere Augenreizung.	P260: Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen.
GHS08: Gesundheitsgefahr.		P308+313: BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
Signalwörter: Gefahr.		P314: Bei Unwohlsein ärztlichen Rat einholen/ ärztliche Hilfe hinzuziehen.
		P264: Nach Gebrauch Hände gründlich waschen.
		P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen.
		P305+351+338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.
		P337+313: Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ ärztliche Hilfe hinzuziehen.
		P302+352: BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen.
		P332+313: Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
		P362+364: Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.
		Nur von Fachleuten zu verwenden.

• Ein Exemplar des Sicherheitsdatenblattes erhalten Sie von Ihrer örtlichen Vertriebsfirma, von der Regionalniederlassung von Leica Biosystems oder über die Webseite von Leica Biosystems unter www.LeicaBiosystems.com.

- Behandeln Sie Präparate vor und nach der Fixierung sowie sämtliche damit in Berührung kommenden Materialien so, als ob sie Infektionen übertragen könnten und entsorgen Sie sie mit den entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen². Pipetieren Sie Reagenzien niemals mit dem Mund und vermeiden Sie den Kontakt von Haut oder Schleimhäuten mit Reagenzien oder Präparaten. Falls Reagenzien oder Präparate mit empfindlichen Bereichen in Kontakt kommen, spülen Sie diese mit reichlich Wasser. Holen Sie anschließend ärztlichen Rat ein.
- Beachten Sie bei der Entsorgung potentiell giftiger Bestandteile die behördlichen und örtlichen Vorschriften.
- Mikrobielle Kontaminationen sollten minimiert werden, da es sonst zu einer Zunahme unspezifischer Färbungen kommen kann.
- Die Verwendung anderer als die angegebenen Retrievals, Inkubationszeiten oder Temperaturen kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Diesbezügliche Änderungen müssen vom Anwender selbst getestet werden.

Gebrauchsanweisung

RNA Negative Control Probe wurde zur Nutzung auf dem automatisierten BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) in Kombination mit Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection und BOND-Zusatzreagenzien optimiert entwickelt. ISH Protocol A ist das empfohlene Färbeprotokoll für RNA Negative Control Probe. Es wird eine Enzymvorbehandlung unter Anwendung von BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 für 15 Minuten.

Es sind stets geeignete Gewebe- und Reagenzkontrollen zu nutzen. Das Protokoll für die Gewebe- und Reagenzkontrollen sollte dem für die RNA-Testsonde entsprechen.

Qualitätskontrolle

Unterschiede bei der Gewebearbeitung und den technischen Verfahren im Labor des Benutzers können zu signifikanten Schwankungen bei den Ergebnissen führen. Daher ist es wichtig, zusätzlich zu den folgenden Verfahren regelmäßige laborinterne Kontrollen durchzuführen.

Positive Gewebekontrolle

Zeigt korrekt vorbereitete Gewebe und korrekte Färbetechniken an. In jedem Färbelauf sollte für jeden Satz Testbedingungen eine positive Gewebekontrolle durchgeführt werden. Gewebe mit schwach positiver Färbung ist für die optimale Qualitätskontrolle und den Nachweis kleiner Minderungen in der Reagenzleistung besser geeignet, als ein Gewebe mit stark positiver Färbung.

Negative Gewebekontrolle

Sollte im Anschluss an die positive Gewebekontrolle durchgeführt werden, um die Spezifität der Zielsenkenmarkierung zu verifizieren. Alternativ bietet die Vielfalt unterschiedlicher Zelltypen, die in den meisten Gewebeschnitten vorliegen, häufig Stellen für eine negative Kontrolle. Jedoch sollte dies vom Benutzer verifiziert werden.

Negative Reagenzkontrolle

Zur Beurteilung einer unspezifischen Färbung und zur besseren Bewertung einer spezifischen Färbung an der Zielstelle ist mit einem Schnitt jedes Patientenpräparates RNA Negative Control Probe PB0809 anstelle der RNA-Testsonde zu verwenden.

Positive Reagenzkontrolle

Verwenden Sie RNA Positive Control Probe PB0785 anstelle der RNA-Testsonde bei einem Schnitt jedes Patientenpräparates, um Informationen über die Erhaltung von Nukleinsäuren in dem Gewebe und die Zugänglichkeit von Nukleinsäuren zu der Sonde zu erhalten. Falls RNA Positive Control Probe keine positive Färbung nachweisen kann, sollten die mit den Testproben erzielten Ergebnisse als ungültig betrachtet werden.

Patientengewebe

Die mit der RNA-Testsonde gefärbten Patientenproben müssen zuletzt untersucht werden. Eine positive Färbintensität ist im Kontext einer unspezifischen Hintergrundfärbung der RNA Negative Control Probe PB0809 zu bewerten.

Erwartete Ergebnisse

Normale Gewebe

PB0809 zeigte keinerlei Färbung in einem breiten Spektrum von Gewebeproben. (Anzahl der insgesamt untersuchten Normalgewebeproben = 96).

Tumorgewebe

Mit PB0809 wurde bei Tumoren von Eierstöcken (0/3), Schilddrüse (0/3), Lunge (0/3), Leber (0/3), Gehirn (0/2), Ösophagus (0/2), Brust (0/2), Haut (0/2), metastatischen Tumoren unbekanntes Ursprungs (0/2) und je einem Tumor von Magen (0/1), Colon (0/1), Rektum (0/1), Larynx (0/1) und Thymus (0/1) keine Färbung nachgewiesen. (Anzahl der insgesamt untersuchten pathologischen Gewebeproben = 29).

PB0809 wird zur Unterstützung beim Screening zur Beurteilung der Anfärbung einer RNA-Testsonde in einer Patientenprobe empfohlen.

Produktspezifische Einschränkungen

RNA Negative Control Probe wurde von Leica Biosystems zur Verwendung mit dem Anti-Fluorescein Antibody, dem BOND Polymer Refine Detection und BOND-Zusatzreagenzien optimiert. Anwender, die andere als die empfohlenen Testverfahren verwenden, müssen unter diesen Umständen die Verantwortung für die Auswertung der Patientenergebnisse übernehmen. Die Verfahrenszeiten können aufgrund von Unterschieden in der Gewebefixierung und der Wirksamkeit der enzymatischen Verdauung variieren und müssen empirisch bestimmt werden. Bei der Optimierung der Retrieval-Bedingungen und Verfahrenszeiten sollte RNA Negative Control Probe verwendet werden.

Fehlersuche

Maßnahmen zur Abhilfe beim Auftreten von Fehlern finden Sie in Referenz 3.

Falls Sie ungewöhnliche Färberegebnisse beobachten, wenden Sie sich an Ihre örtliche Vertriebsfirma oder die Regionalniederlassung von Leica Biosystems.

Weitere Informationen

Weitere Informationen zur *In-situ*-Hybridisierung mit BOND-Reagenzien finden Sie in den Abschnitten Grundlegende Vorgehensweise, Erforderliches Material, Probenvorbereitung, Qualitätskontrolle, Assay-Verifizierung, Deutung der Färbung, Schlüssel der Symbole auf den Etiketten und Allgemeine Einschränkungen in "Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien" in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch.

Referenzen

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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.

Datum der Herausgabe

25 September 2018

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

Catálogo N.º.: PB0809

Uso Propuesto

Este reactivo es para uso diagnóstico *in vitro*.

RNA Negative Control Probe es para uso en la identificación de tinción de fondo resultante de interacciones no específicas en tejidos fijados en formalina e incluidos en parafina mediante hibridación *in situ* (ISH) usando el sistema automatizado BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III).

La interpretación clínica de cualquier tinción o de la ausencia de ésta debe complementarse con estudios morfológicos y controles adecuados, y debe evaluarla un patólogo cualificado junto con el historial clínico del paciente y con otras pruebas diagnósticas.

Resumen y Explicación

RNA Negative Control Probe es un único oligonucleótido, diseñado a partir de ADN de pez cebra y analizado mediante análisis BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, Herramienta de búsqueda de alineación local básica) para confirmar que la secuencia no encierra ninguna homología con ninguna secuencia humana. RNA Negative Control Probe se genera con una etiqueta de fluoresceína utilizando los mismos procedimientos que se aplican a otras sondas de oligonucleótidos utilizadas en la detección de ARN en BOND. En consecuencia, RNA Negative Control Probe es ideal como sonda de control negativo para RNA ISH en BOND.

Reactivos Suministrados

RNA Negative Control Probe es una sonda de oligonucleótido conjugado con fluoresceína (200 ng/mL) suministrado en solución de hibridación.

Volumen total = 5,5 mL

Dilución y Mezcla

RNA Negative Control Probe está listo para usar. No es necesaria la reconstitución, mezcla, dilución o titulación de este reactivo.

Materiales Necesarios Pero No Suministrados

Consulte en el apartado "Utilización de reactivos BOND" de la documentación de usuario de BOND la lista completa del material necesario para el tratamiento de las muestras y la hibridación *in situ* cuando se utiliza el sistema BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III).

Conservación y Estabilidad

Almacenar a 2–8 °C. El producto es estable en estas condiciones hasta la fecha de caducidad que se indica en la etiqueta del recipiente.

No hay signos obvios que indiquen contaminación o inestabilidad. Deben realizarse los controles positivos y negativos adecuados de tejido, al mismo tiempo que se analiza el tejido de prueba.

Volver a guardar a 2–8 °C inmediatamente después de su uso.

Si las condiciones de conservación son diferentes de las especificadas, el usuario debe realizar las comprobaciones necesarias¹.

Precauciones

- Este producto es para uso diagnóstico *in vitro*.

RNA NEGATIVE CONTROL PROBE

Contiene Formamida (<50%) y sulfato de dextrano (<30%).

GHS07: Signo de exclamación.

GHS08: Peligro para la salud.

Palabras de advertencia: Peligro.

H360D: Puede dañar al feto.

H315: Provoca irritación cutánea.

H319: Provoca irritación ocular grave.

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.

P308+313: EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Consultar a un médico.

P314: Consultar a un médico en caso de malestar.

P264: Lavarse manos concienzudamente tras la manipulación.

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

P305+351+338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

P337+313: Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.

P302+352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.

P332+313: En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico.

P362+364: Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

Limitado a usuarios profesionales.

- Si desea obtener un ejemplar de la Hoja de datos de seguridad de los materiales, póngase en contacto con su distribuidor o con la oficina regional de Leica Biosystems, o visite la página Web de Leica Biosystems en www.LeicaBiosystems.com
- Las muestras, antes y después de ser fijadas, y cualquier material en contacto con ellas, deben ser tratados como sustancias capaces de transmitir infecciones y deben ser eliminadas con las precauciones correspondientes². No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y las mucosas con reactivos o muestras. Si algún reactivo o alguna muestra entra en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante. Consulte a un médico.
- Consulte la normativa federal, nacional o local referente a la eliminación de sustancias potencialmente tóxicas.

- Minimice la contaminación microbiana de los reactivos, ya que puede producir un aumento de las tinciones inespecíficas.
- Los tiempos de exposición e incubación, y las temperaturas diferentes de las especificadas pueden dar resultados erróneos. Cualquier cambio que se produzca deberá ser validado por el usuario.

Instrucciones de Uso

RNA Negative Control Probe se ha desarrollado para usarse en el sistema automatizado BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III) en combinación con Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection y reactivos auxiliares BOND. El protocolo de tinción recomendado para RNA Negative Control Probe es ISH Protocol A. El pretratamiento enzimático se recomienda usando BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1, durante 15 minutos.

Siempre se deben usar controles apropiados de tejidos y de reactivos. El protocolo para controles de tejidos y de reactivos debe corresponder al de la sonda para el ensayo de ARN.

Control de calidad

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que éste lleve a cabo regularmente sus propios controles, además de los siguientes procedimientos.

Control positivo de tejido

Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas. Debe incluirse un control positivo de tejido por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada serie de tinciones realizada. Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.

Control negativo de tejido

Debe examinarse después del control positivo de tejido, a fin de verificar la especificidad del marcado de la sonda en la diana. O bien, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, pero esto debe ser verificado por el usuario.

Control negativo de reactivo

Utilice RNA Negative Control Probe PB0809 en lugar de la sonda para el ensayo de ARN con un corte de cada muestra del paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en la sonda.

Control positivo de reactivo

Utilice RNA Positive Control Probe PB0785 en lugar de la sonda para el ensayo de ARN con un corte de cada muestra del paciente a fin de brindar información acerca de la conservación de los ácidos nucleicos en el tejido y de la accesibilidad de los ácidos nucleicos para la sonda. Si RNA Positive Control Probe no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

Tejido del paciente

Examine las muestras del paciente teñidas con la sonda para el ensayo de ARN al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica de RNA Negative Control Probe PB0809.

Resultados Esperados

Tejidos normales

Al emplear PB0809, en una amplia gama de tejidos no se observó tinción. (Número total de casos normales evaluados = 96).

Tejidos tumorales

Al emplear PB0809 no se observó tinción en los cánceres ováricos (0/3), los cánceres tiroideos (0/3), los cánceres de pulmón (0/3), los cánceres hepáticos (0/3), los tumores cerebrales (0/2), los cánceres esofágicos (0/2), los cánceres de mama (0/2), los cánceres de piel (0/2), los cánceres metastásicos de origen desconocido (0/2), el cáncer gástrico (0/1), el cáncer de colon (0/1), el tumor rectal (0/1), el cáncer de laringe (0/1) y el cáncer de timo (0/1). (Número total de casos anómalos evaluados = 29).

Se recomienda PB0809 como asistente de cribado para valorar la tinción del sensor de ARN de prueba en una muestra del paciente.

Limitaciones Específicas del Producto

RNA Negative Control Probe se ha optimizado en Leica Biosystems para su uso con Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection y reactivos auxiliares BOND. Los usuarios que se aparten de los procedimientos de análisis recomendados deben asumir la responsabilidad de interpretar los resultados del paciente tomando en cuenta estas circunstancias. Los tiempos de protocolo pueden diferir debido a la variación en la fijación de los tejidos y a la eficacia en la digestión enzimática y deben ser determinados empíricamente. Se debe utilizar RNA Negative Control Probe a la hora de optimizar las condiciones de detección y los tiempos de protocolo.

Solución de Problemas

La referencia 3 puede ayudar en las acciones correctoras.

Contacte con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems para informar de cualquier tinción anómala.

Para Obtener Más Información

Para obtener más información sobre hibridación *in situ* con reactivos BOND, consulte los apartados Principio del procedimiento, Material necesario, Preparación de las muestras, Control de calidad, Verificación del análisis, Interpretación de la tinción, Clave de símbolos en las etiquetas y Limitaciones generales de la sección "Utilización de Reactivos BOND" de la documentación de usuario suministrada por BOND.

Referencias

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

Nº de catálogo: PB0809

Utilização Prevista

Este reagente destina-se a utilização diagnóstica *in vitro*.

A RNA Negative Control Probe destina-se a ser usada para a identificação de coloração de fundo proveniente de interações inespecíficas em tecidos fixos com formalina e incluídos em parafina por hibridização *in situ* (ISH) utilizando o sistema BOND automatizado (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III).

A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos utilizando controlos adequados, e deve ser avaliada no contexto da história clínica do doente e de outros testes complementares de diagnóstico por um anátomo-patologista qualificado.

Resumo e Explicação

A RNA Negative Control Probe é um único oligonucleótido, concebido a partir de ADN do peixe-zebra e analisada utilizando a análise da Ferramenta de Pesquisa de Alinhamento Local Básico (Basic Local Alignment Search Tool, BLAST) para confirmar que a sequência não apresenta qualquer homologia com nenhuma sequência humana. A RNA Negative Control Probe é produzida com um rótulo de fluoresceína utilizando os mesmos procedimentos aplicados para outras sondas de oligonucleótidos usadas na detecção de ARN no BOND. Por conseguinte, a RNA Negative Control Probe é ideal como uma sonda de controlo negativo para ISH de ARN no BOND.

Reagentes Fornecidos

A RNA Negative Control Probe é uma sonda de oligonucleótidos conjugada com fluoresceína (200 ng/mL) fornecida em solução de hibridização.

Volume total = 5,5 mL

Diluição e Mistura

A RNA Negative Control Probe está pronta a utilizar. Não é necessária reconstituição, mistura, diluição ou titulação deste reagente.

Materiais necessários mas não fornecidos

Consultar "Utilizar os reagentes BOND" na documentação do utilizador BOND para uma lista completa de materiais necessários para tratamento de amostras e coloração por hibridização *in situ* utilizando o sistema BOND (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III).

Armazenamento e Estabilidade

Armazene a uma temperatura de 2–8 °C. Nestas condições, o produto permanece estável até ao fim do prazo de validade referido no rótulo do recipiente.

Não existem sinais evidentes que indiquem contaminação e/ou instabilidade. Devem ser executados controlos tecidulares positivos e negativos adequados em simultâneo com o tecido de teste.

Coloque entre 2–8 °C imediatamente depois de utilizar.

Condições de armazenamento diferentes das acima especificadas devem ser confirmadas pelo utilizador¹.

Precauções

- Este produto destina-se a utilização diagnóstica *in vitro*.

RNA NEGATIVE CONTROL PROBE

Contém Formamida (<50%) e sulfato de dextrano (<30%).

GHS07: Ponto de exclamação.

GHS08: Perigo para a saúde.

Palavras-sinal: Perigo.

H360D: Pode afectar o nascituro.

H315: Provoca irritação cutânea.

H319: Provoca irritação ocular grave.

P201: Pedir instruções específicas antes da utilização.

P202: Não manuseie o produto antes de ter lido e percebido todas as precauções de segurança.

P260: Não respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.

P308+313: EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico.

P314: Em caso de indisposição, consulte um médico.

P264: Lavar mãos cuidadosamente após manuseamento.

P280: Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial.

P305+351+338: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.

P337+313: Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

P302+352: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes.

P332+313: Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.

P362+364: Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.

Limitado a utilizadores profissionais.

- Para obter uma cópia da Ficha de Dados de Segurança do Material, entre em contacto com o seu distribuidor local ou sucursal regional da Leica Biosystems ou, em alternativa, visite o site da Leica Biosystems na internet, www.LeicaBiosystems.com

- As amostras, antes e depois da fixação, e todo o material que a elas seja exposto, devem ser manipulados como se fossem capazes de transmitir infecção e eliminados usando as precauções adequadas². Nunca pipete reagentes com a boca e evite o contacto entre a pele e membranas mucosas e reagentes ou amostras. Se reagentes ou amostras entrarem em contacto com áreas sensíveis, lave-as com uma quantidade abundante de água. Consulte um médico.
- Consulte os regulamentos federais, estaduais e locais relativamente à eliminação de quaisquer componentes potencialmente tóxicos.
- Minimize a contaminação microbiana dos reagentes ou poderá ocorrer um aumento da coloração inespecífica.
- A utilização de tempos e temperaturas de recuperação e incubação diferentes dos especificados pode produzir resultados erróneos. Qualquer alteração deste tipo deve ser validada pelo utilizador.

Instruções de Utilização

RNA Negative Control Probe foi desenvolvido para utilização no sistema automatizado BOND (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III) juntamente com Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection e reagentes auxiliares BOND. O protocolo de coloração recomendado para RNA Negative Control Probe é o ISH Protocol A. Recomenda-se o pré-tratamento enzimático com BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1, durante 15 minutos.

Devem ser sempre utilizados os controlos apropriados de tecidos e reagentes. O protocolo para os controlos de tecidos e reagentes deve corresponder ao protocolo da sonda de teste de ARN.

Controlo de qualidade

As diferenças no processamento de tecidos e nos procedimentos técnicos do laboratório do utilizador podem produzir uma variabilidade significativa de resultados, exigindo a realização regular de controlos internos além dos procedimentos a seguir descritos.

Controlo positivo do tecido

Utilizado para indicar os tecidos correctamente preparados e as técnicas de coloração adequadas. Cada conjunto de condições de teste, em cada processo de coloração, deve incluir um controlo positivo do tecido. Um tecido com uma coloração positiva fraca é mais adequado do que um tecido com uma coloração positiva forte para assegurar um controlo de qualidade óptimo e para detectar níveis mínimos de degradação dos reagentes.

Controlo negativo do tecido

Este deve ser examinado depois do controlo positivo do tecido para verificar a especificidade da marcação da sonda em relação ao alvo. Alternativamente, a variedade de diferentes tipos de células presentes na maior parte dos cortes tecidulares oferece frequentemente locais de controlo negativo, no entanto, isto deve ser verificado pelo utilizador.

Controlo negativo do reagente

Utilize RNA Negative Control Probe PB0809 em vez da sonda de teste de ARN com um corte de cada amostra do doente para avaliar a coloração não específica e permitir uma melhor interpretação da coloração específica no alvo.

Controlo positivo do reagente

Utilize RNA Positive Control Probe PB0785 em vez da sonda de teste de ARN com um corte de cada amostra do doente para dar informações sobre a conservação dos ácidos nucleicos no tecido e sobre a acessibilidade dos ácidos nucleicos à sonda. Se RNA Positive Control Probe não demonstrar uma coloração positiva, os resultados obtidos com as amostras do teste não devem ser considerados válidos.

Tecido do doente

Examine, no fim, as amostras do doente coradas com a sonda de teste de ARN. A intensidade da coloração positiva deve ser avaliada no contexto de qualquer coloração não específica de fundo de RNA Negative Control Probe PB0809.

Resultados Esperados

Tecidos normais

Utilizando o PB0809 não foi observada coloração numa grande variedade de tecidos. (Número total de casos normais avaliados = 96).

Tecidos tumorais

Utilizando o PB0809 não foi observada coloração em tumores ováricos (0/3), tumores da tiroide (0/3), tumores pulmonares (0/3), tumores hepáticos (0/3), tumores cerebrais (0/2), tumores esofágicos (0/2), tumores mamários (0/2), tumores de pele (0/2), tumores metastáticos de origem desconhecida (0/2), tumores do estômago (0/1), tumores do cólon (0/1), tumores do reto (0/1), um tumor da laringe (0/1) e um tumor do timo (0/1) (Número total de casos anormais avaliados = 29).

O PB0809 é recomendado para ajudar como uma ferramenta de rastreio para avaliar a coloração de uma sonda de teste de ARN numa amostra do paciente.

Limitações Específicas do Produto

A RNA Negative Control Probe foi otimizada na Leica Biosystems para utilização com o Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection e reagentes auxiliares BOND. Utilizadores que se desviem dos procedimentos de teste recomendados devem assumir a responsabilidade pela interpretação dos resultados dos doentes nestas circunstâncias. Os tempos de protocolo podem variar, devido a variações na fixação tecidular e na eficácia de digestão enzimática, devendo ser determinados de forma empírica. Os RNA Negative Control Probe deve ser utilizados quando se optimizam as condições de recuperação e os tempos do protocolo.

Resolução de Problemas

A Referência 3 pode ajudar na acção de resolução.

Entre em contacto com o seu distribuidor local ou com a sucursal regional da Leica Biosystems para notificar qualquer coloração pouco habitual.

Informações Adicionais

Poderá encontrar informações adicionais sobre a hibridização *in situ* com reagentes BOND nas secções de Princípios do Procedimento, Material Necessário, Preparação da Amostra, Controlo de Qualidade, Verificação do Ensaio, Interpretação da Coloração, Significado dos Símbolos nos Rótulos e Limitações Gerais em "Utilizar os Reagentes BOND" na sua documentação do utilizador BOND.

Bibliografia

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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.

Data de Emissão

25 de Setembro de 2018

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

Artikelnummer: PB0809

Användningsområde

Reagenset är avsett för *in vitro*-diagnostik.

RNA Negative Control Probe är avsett att användas vid identifikation av bakgrundsfärgning som härrör från icke-specifika interaktioner för formalinfixerad, paraffinbäddad vävnad genom *in situ* hybridisering (ISH) med det automatiserade BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-II).

Den kliniska tolkningen av varje infärgning, eller utebliven infärgning, måste alltid kompletteras med morfologiska studier och lämpliga kontroller. Utvärderingen bör göras av kvalificerad patolog och inkludera patientens anamnes och övriga diagnostiktester.

Förklaring och Sammanfattning

RNA Negative Control Probe är en enkeloligonukleotid framställt av zebrafisk-DNA och analyserad med Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)-analys för att bekräfta att sekvensen inte är homolog med några humana sekvenser. RNA Negative Control Probe genereras med en fluoresceinmarkör och samma tillvägagångssätt som används för andra oligonukleotid-prober som används vid spårning av RNA med BOND. Därför är RNA Negative Control Probe idealisk som negativ kontrollprobe för RNA-ISH med BOND.

Ingående Reagens

RNA Negative Control Probe är en fluoresceinkonjugerad oligonukleotid-probe (200 ng/ml) som tillhandahålls i en hybridiseringslösning. Total volym = 5,5 ml

Spädning och Blandning

RNA Negative Control Probe är färdig att användas. Reagenset behöver varken rekonstitueras, blandas, spädas eller titreras.

Nödvändigt Materiel Som Ej Medföljer

I "Använda BOND-reagens" i BOND-användardokumentationen finns en fullständig lista med den materiel du behöver för att behandla ett prov och göra en *in situ*-hybridiseringsfärgning med BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III).

Förvaring och Stabilitet

Förvara vid 2–8 °C. Produkten är under dessa förhållanden stabil fram till det utgångsdatum som anges på förpackningsetiketten.

Det finns inga uppenbara tecken som indikerar kontamination och/eller instabilitet. Lämpliga positiva och negativa vävnadskontroller ska köras samtidigt med testvävnad.

Ställ tillbaka i 2–8 °C omedelbart efter användning.

Andra förvaringsbetingelser än de ovan angivna måste verifieras av användaren¹.

Säkerhetsföreskrifter

- Produkten är avsedd för *in vitro*-diagnostik.

RNA NEGATIVE CONTROL PROBE

Innehåller Formamid (<50%) och dextransulfat (<30%).
GHS07: Utopropstecken.
GHS08: Hälsofara.
Signalord: Fara.

H360D: Kan skada det ofödda barnet.
H315: Irriterar huden.
H319: Orsakar allvarlig ögonirritation.

P201: Inhämta särskilda instruktioner före användning.
P202: Använd inte produkten innan du har läst och förstått säkerhetsanvisningarna.
P260: Inandas inte damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej.
P308+313: Vid exponering eller misstanke om exponering Sök läkarhjälp.
P314: Sök läkarhjälp vid obehag.
P264: Tvätta händerna grundligt efter användning.
P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.
P305+351+338: VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.
P337+313: Vid bestående ögonirritation: Sök läkarhjälp.
P302+352: VID HUDKONTAKT: Tvätta med mycket tvål och vatten.
P332+313: Vid hudirritation: Sök läkarhjälp.
P362+364: Ta av nedstänkta kläder och tvätta dem innan de används igen.
Endast för yrkesmässig användning.

- Du kan få tillgång till säkerhetsdatablad genom att kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor. En annan möjlighet är Leica Biosystems webbsajt på www.LeicaBiosystems.com.
- Prover, både före och efter fixeringen, och allt material som använts tillsammans med dem ska hanteras som infektiöst avfall enligt gängse praxis². Pipettera aldrig reagenser med munnen och undvik att reagenser eller prover kommer i kontakt med hud och slemhinnor. Om reagenser eller prover kommer i kontakt med känsliga områden, skölj med stora mängder vatten. Sök läkarvård.
- Angående avfallshantering av potentiellt toxiska material hänvisar vi till gällande europeiska, nationella och lokala bestämmelser och förordningar.
- Minimera mikrobiologisk kontamination av reagens. Om detta inte görs kan det leda till en ökad icke-specifik infärgning.

- Återvinnande och andra inkubationstider eller temperaturer än de specificerade kan ge felaktiga resultat. Sådana förändringar ska valideras av användaren.

Instruktioner Vid Användning

RNA Negative Control Probe har utvecklats för användning med det automatiska BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III) i kombination med Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection och BOND hjälpreagenser. Det rekommenderade färgningsprotokollet för RNA Negative Control Probe är ISH Protocol A. Enzymatisk förbehandling med BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 rekommenderas, 15 minuter.

Använd alltid för ändamålet avsedda vävnads- och reagenskontroller. Vävnads- och reagensprotokollen ska överensstämma med protokollet för RNA-testsonden.

Kvalitetskontroll

Skillnader i vävnadsbehandling och tekniska metoder i användarens laboratorium kan ge stor variation i resultaten; regelbundna internkontroller är därför nödvändiga utöver metoderna nedan.

Positiv vävnadskontroll

Används för att påvisa korrekt förberedda vävnader och rätt färgningstekniker. En positiv vävnadskontroll per testuppsättning bör ingå vid varje färgningskörning. En vävnad med svag positiv färgning är bättre lämpad för optimal kvalitetskontroll och för att upptäcka låga nivåer av reagensdegradering än en vävnad med stark positiv färgning.

Negativ vävnadskontroll

Bör undersökas efter den positiva vävnadskontrollen, för att bekräfta sondmärkningens specificitet gentemot målet. Alternativt ger ofta den mängd olika celltyper som finns i de flesta vävnadssnitt upphov till negativa kontrollområden, men detta bör kontrolleras av användaren.

Negativ reagenskontroll

Använd RNA Negative Control Probe PB0809 i stället för RNA-testsonden på en begränsad del av varje patientprov för att utvärdera icke-specifik färgning och underlätta tolkningen av specifik infärgning av målet.

Positiv reagenskontroll

Använd RNA Positive Control Probe PB0785 i stället för RNA-testsonden på en begränsad del av varje patientprov för information om bibehållande av nukleinsyror i vävnaden samt sondens tillgång till nukleinsyror. Om RNA Positive Control Probe inte uppvisar positiv färgning bör resultat erhållna från testproverna anses vara ogiltiga.

Patientvävnad

Undersök patientprover färgade med RNA-testsonden sist. Positiv färgningsintensitet bör utvärderas inom ramen för all ospecifik bakgrundsfärgning av RNA Negative Control Probe PB0809.

Förväntade Resultat

Normala vävnader

Vid användning av PB0809 observerades ingen färgning i ett stort antal olika testade vävnader. (Totalt antal utvärderade normala fall = 96).

Tumörvävnader

Vid användning av PB0809 observerades ingen färgning i äggstockstumörer (0/3), sköldkörteltumörer (0/3), lungtumörer (0/3), levertumörer (0/3), hjärntumörer (0/2), esofagustumörer (0/2), brösttumörer (0/2), hudtumörer (0/2), metastatiska tumörer av okänt ursprung (0/2), magsäckstumörer (0/1), kolontumörer (0/1), rektala tumörer (0/1), en struphuvudtumör (0/1), samt en thymustumör (0/1) (Totalt antal utvärderade onormala fall = 29).

PB0809 rekommenderas för att underlätta som ett screeningverktyg, för att utvärdera färgning av en RNA-testprob på ett patientprov.

Produktspecifika Begränsningar

RNA Negative Control Probe har optimerats hos Leica Biosystems för användning med Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection och BOND hjälpreagenser. Användare som avviker från rekommenderat testförfarande måste vid ändrade förhållanden ta ansvar för tolkningen av patientresultaten. Protokolltiderna kan variera på grund av variationer i vävnads fixering och hur effektivt enzymerna smälter och skall fastställas empiriskt. RNA Negative Control Probe ska användas då förhållanden för återvinnande och protokolltider ska optimeras.

Felsökning

Referens 3 kan vara till hjälp vid felsökningsåtgärd.

Kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor för att rapportera onormal infärgning.

Mer Information

Mer information om *in situ*-hybridisering med BOND-reagens finns under rubrikerna Bakgrund till metoden, Nödvändig materiel, Förbereda provet, Kvalitetskontroll, Verifiering av assayer, Tolka infärgningsresultat, Symbolförklaring för etiketter och Allmänna begränsningar i "Använda BOND-reagens" i BOND användardokumentation.

Referenser

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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.

Utgivningsdatum

25 september 2018

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

Αρ. καταλόγου: PB0809

Σκοπός Χρήσης

Αυτό το αντιδραστήριο προορίζεται για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

Το RNA Negative Control Probe προορίζεται για χρήση στην ταυτοποίηση της χρώσης υποβάθρου που προκύπτει από μη ειδικές αλληλεπιδράσεις σε μονιμοποιημένο με φορμόλη, ενσωματωμένο σε παραφίνη ιστό με *in situ* υβριδισμό (ISH) με χρήση του αυτοματοποιημένου συστήματος BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III).

Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή της απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες και σωστούς μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στα πλαίσια του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολογοανατόμο.

Περίληψη και Επεξήγηση

Το RNA Negative Control Probe είναι ένα μονό ολιγονουκλεοτίδιο, το οποίο έχει σχεδιαστεί από DNA από ψάρι-ζέβρα και αναλυθεί με χρήση ανάλυσης Εργαλείου αναζήτησης βασικής τοπικής ευθυγράμμισης (Basic Local Alignment Search Tool, BLAST), έτσι ώστε να επιβεβαιωθεί ότι η αλληλουχία δε φέρει καμία ομολογία με οποιαδήποτε ανθρώπινες αλληλουχίες. Το RNA Negative Control Probe δημιουργείται με σήμανση φλουορεσκείνης με χρήση των ίδιων διαδικασιών, όπως εφαρμόζονται σε άλλους ανιχνευτές ολιγονουκλεοτιδίων που χρησιμοποιούνται στην ανίχνευση του RNA στο σύστημα BOND. Επομένως, το RNA Negative Control Probe είναι ιδανικό ως ανιχνευτής αρνητικού μάρτυρα για ISH RNA στο σύστημα BOND.

Αντιδραστήρια Που Παρέχονται

Το RNA Negative Control Probe είναι ένας συζευγμένος με φλουορεσκείνη ανιχνευτής ολιγονουκλεοτιδίων (200 ng/mL) που παρέχεται σε διάλυμα υβριδισμού.

Συνολικός όγκος = 5,5 mL

Αραίωση και Ανάμιξη

Το RNA Negative Control Probe είναι έτοιμο για χρήση. Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμιξη, αραίωση ή πιλοδότηση του αντιδραστηρίου αυτού.

Υλικά Που Απαιτούνται Αλλά Δεν Παρέχονται

Για μια πλήρη λίστα των υλικών που απαιτούνται για την επεξεργασία δειγμάτων και τη χρώση *in situ* υβριδισμού με χρήση του συστήματος BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III), ανατρέξτε στην ενότητα "Χρήση αντιδραστηρίων BOND" στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης της BOND.

Φύλαξη και Σταθερότητα

Φυλάσσετε στους 2–8 °C. Το προϊόν είναι σταθερό υπό τις συνθήκες αυτές έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του περιέκτη.

Δεν υπάρχουν εμφανείς ενδείξεις που να υποδεικνύουν μόλυνση ή/και ασάφεια. Ταυτόχρονα με τον ιστό της εξέτασης πρέπει να αναλύονται κατάλληλοι θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες ιστού.

Επαναφέρετε το προϊόν στους 2–8 °C αμέσως μετά τη χρήση.

Συνθήκες φύλαξης εκτός από αυτές που καθορίζονται παραπάνω πρέπει να επαληθεύονται από τον χρήστη¹.

Προφυλάξεις

- Αυτό το προϊόν προορίζεται για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

RNA POSITIVE CONTROL PROBE

Περιέχει Φορμαμίδιο (<50%) και

θειική δεξτράνη (<30%).

GHS07: Θαυμαστικό.

GHS08: Κίνδυνος για την υγεία.

Προειδοποιητές λέξεις: Κίνδυνος.

H360D: Μπορεί να

βλάψει το έμβρυο.

H315: Προκαλεί

ερεθισμό του

δέρματος.

H319: Προκαλεί

σοβαρό οφθαλμικό

ερεθισμό.

P201: Εφοδιαστείτε με τις ειδικές οδηγίες πριν από τη χρήση.

P202: Μην το χρησιμοποιείτε πριν διαβάσετε και κατανοήσετε τις οδηγίες προφύλαξης.

P260: Μην αναπνέετε σκόνη/αναθυμιάσεις/αέρια/σταγονίδια/ατμούς/εκνεφώματα.

P308+313: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ έκθεσης ή πιθανότητας έκθεσης:

Συμβουλευθείτε/Επισκεφθείτε γιατρό.

P314: Συμβουλευθείτε/Επισκεφθείτε γιατρό εάν αισθανθείτε αδιαθεσία.

P264: Πλύνετε χέρια σχολαστικά μετά το χειρισμό.

P280: Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.

P305+351+338: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ:

Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εφόσον είναι εύκολο.

Συνεχίστε να ξεπλύνετε.

P337+313: Εάν δεν υποχωρήσει ο οφθαλμικός ερεθισμός:

Συμβουλευθείτε/Επισκεφθείτε γιατρό.

P302+352: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ: Πλύνετε με άφθονο νερό και σαπούνι.

P332+313: Εάν παρατηρηθεί ερεθισμός του δέρματος:

Συμβουλευθείτε/Επισκεφθείτε γιατρό.

P362+364: Βγάλτε τα μολυσμένα ρούχα και πλύντε τα πριν τα

ξαναχρησιμοποιήσετε.

Μόνο για επαγγελματική χρήση.

- Για να λάβετε ένα αντίτυπο του δελτίου δεδομένων ασφαλείας υλικού, επικοινωνήστε με τον τοπικό σας διανομέα ή τα περιφερειακά γραφεία της Leica Biosystems ή, εναλλακτικά, επισκεφθείτε τον ιστότοπο της Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

- Τα δείγματα, πριν και μετά τη μονιμοποίηση, καθώς και όλα τα υλικά που εκτίθενται σε αυτά, πρέπει να υποβάλλονται σε χειρισμό ως δυνητικά μεταδότης λοίμωξης και να απορρίπτονται με κατάλληλες προφυλάξεις. Μην αναρροφάτε ποτέ με πιπέτα τα αντιδραστήρια με το στόμα και αποφεύγετε την επαφή του δέρματος και των βλεννογόνων με αντιδραστήρια ή δείγματα. Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έλθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφθονες ποσότητες νερού. Ζητήστε τη συμβουλή ιατρού.
- Συμβουλευτείτε τους ομοσπονδιακούς, πολιτειακούς ή τοπικούς κανονισμούς για απόρριψη τυχόν δυνητικών τοξικών συστατικών.
- Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διότι διαφορετικά ενδέχεται να αυξηθεί η μη ειδική χρώση.
- Ανάκτηση, χρόνοι ή θερμοκρασίες επίτασης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται ενδέχεται να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Τυχόν τέτοια μεταβολή πρέπει να επικυρώνεται από το χρήστη.

Οδηγίες Χρήσης

Το RNA Negative Control Probe αναπτύχθηκε προς χρήση στο αυτοματοποιημένο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III), σε συνδυασμό με τα ακόλουθα: Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection και τα βοηθητικά αντιδραστήρια BOND. Το συνιστάμενο πρωτόκολλο χρώσης για το RNA Negative Control Probe είναι το ISH Protocol A. Συνιστάται ενζυμική προεπεξεργασία με χρήση του BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1, για 15 πρακτικά.

Θα πρέπει πάντα να χρησιμοποιούνται κατάλληλοι μάρτυρες ιστού και αντιδραστήριου. Το πρωτόκολλο για τους μάρτυρες ιστού και αντιδραστήριου θα πρέπει να αντιστοιχεί στο πρωτόκολλο του ανιχνευτή εξέτασης RNA.

Ποιοτικός έλεγχος

Τυχόν διαφορές στην ετερογενότητα των ιστών και τις τεχνικές διαδικασίες στο εργαστήριο του χρήστη ενδέχεται να προκαλέσουν σημαντική μεταβλητότητα στα αποτελέσματα, καθιστώντας αναγκαία την τακτική εκτέλεση εσωτερικών ελέγχων επιπρόσθετα προς τις ακόλουθες διαδικασίες.

Θετικός μάρτυρας ιστού

Χρησιμοποιείται για να υποδεικνύει σωστά παρασκευασμένους ιστούς και σωστές τεχνικές χρώσης. Θα πρέπει να περιλαμβάνεται ένας θετικός μάρτυρας ιστού για κάθε σύνολο συνθηκών εξέτασης σε κάθε εκτέλεση χρώσης. Ένας ιστός με ασθενή θετική χρώση είναι κατάλληλότερος από έναν ιστό με ισχυρή θετική χρώση για βέλτιστο ποιοτικό έλεγχο και για την ανίχνευση πολύ μικρών επιπέδων τυχόν αποδόμησης των αντιδραστηρίων.

Αρνητικός μάρτυρας ιστού

Θα πρέπει να εξετάζεται μετά από το θετικό μάρτυρα ιστού για επαλήθευση της ειδικότητας της σήμανσης του ανιχνευτή στο στόχο. Εναλλακτικά, η ποικιλία διαφόρων κυτταρικών τύπων που υπάρχουν στις περισσότερες τομές ιστών παρέχει συχνά θέσεις αρνητικού μάρτυρα, αλλά αυτό θα πρέπει να επαληθεύεται από το χρήστη.

Αρνητικός μάρτυρας αντιδραστήριου

Χρησιμοποιήστε το RNA Negative Control Probe PB0809 αντί του ανιχνευτή εξέτασης RNA με μια τομή κάθε δείγματος ασθενούς, για να αξιολογήσετε τη μη ειδική χρώση και να επιτρέψετε την καλύτερη ερμηνεία της ειδικής χρώσης στο στόχο.

Θετικός μάρτυρας αντιδραστήριου

Χρησιμοποιήστε το RNA Positive Control Probe PB0785 αντί του ανιχνευτή εξέτασης RNA με μια τομή κάθε δείγματος ασθενούς, για να παράχετε πληροφορίες σχετικά με τη διατήρηση νουκλεϊκών οξέων στον ιστό, καθώς και την προσπελασιμότητα των νουκλεϊκών οξέων από τον ανιχνευτή. Εάν το RNA Positive Control Probe δεν παρουσιάζει θετική χρώση, τα αποτελέσματα με τα δείγματα της εξέτασης θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

Ιστός ασθενούς

Εξετάστε τα δείγματα ασθενούς που έχουν υποστεί χρώση με τον ανιχνευτή εξέτασης RNA στο τέλος. Η ένταση της θετικής χρώσης θα πρέπει να εκτιμάται στο πλαίσιο τυχόν μη ειδικής χρώσης υποβάθρου του RNA Negative Control Probe PB0809.

Αναμενόμενα Αποτελέσματα

Φυσιολογικοί ιστοί

Κατά τη χρήση του PB0809 δεν παρατηρήθηκε χρώση σε ένα μεγάλο εύρος ιστών. (Συνολικός αριθμός φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 96).

Νεοπλασματικοί ιστοί

Κατά τη χρήση του PB0809 δεν παρατηρήθηκε χρώση σε όγκους των ωοθηκών (0/3), όγκους του θυρεοειδή (0/3), όγκους του πνεύμονα (0/3), όγκους του ήπατος (0/3), όγκους του εγκεφάλου (0/2), όγκους του οισοφάγου (0/2), όγκους του μαστού (0/2), όγκους του δέρματος (0/2), μεταστατικού όγκου αγνώστου προέλευσης (0/2), έναν όγκο του στομάχου (0/1), έναν όγκο του κόλου (0/1), έναν όγκο του ορθού (0/1), έναν όγκο του λάρυγγα (0/1) και έναν όγκο του θύμου αδένα (0/1) (συνολικός αριθμός μη φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 29).

Το PB0809 συνιστάται επικουρικά ως εργαλείο παρακολούθησης για την αξιολόγηση της χρώσης ενός δοκιμαστικού ανιχνευτή RNA σε ένα δείγμα ασθενή.

Ειδικοί Περιορισμοί Του Προϊόντος

Το RNA Negative Control Probe έχει βελτιστοποιηθεί στην Leica Biosystems για χρήση με το Anti-Fluorescein Antibody, το BOND Polymer Refine Detection και τα βοηθητικά αντιδραστήρια BOND. Χρήστες που αποκλίνουν από τις συνιστώμενες διαδικασίες εξέτασης πρέπει να αποδεχονται την ευθύνη για ερμηνεία των αποτελεσμάτων ασθενών υπό τις συνθήκες αυτές. Οι χρόνοι του πρωτοκόλλου ενδέχεται να διαφέρουν, λόγω της μεταβλητότητας της μονιμοποίησης του ιστού και της αποτελεσματικότητας της ενζυμικής πέψης και πρέπει να προσδιορίζονται εμπειρικά. Κατά τη βελτιστοποίηση των συνθηκών ανάκτησης και των χρόνων πρωτοκόλλου, πρέπει να χρησιμοποιηθεί RNA Negative Control Probe.

Αντιμετώπιση Προβλημάτων

Η παραπομπή 3 ενδέχεται να βοηθήσει στην ενέργεια αποκατάστασης.

Για να αναφέρετε περιπτώσεις ασυνήθους χρώσης, επικοινωνήστε με τον τοπικό σας διανομέα ή το περιφερειακό γραφείο της Leica Biosystems.

Πρόσθετες Πληροφορίες

Μπορείτε να βρείτε περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τον *in situ* υβριδισμό με αντιδραστήρια BOND, υπό τους τίτλους "Αρχή της διαδικασίας", "Απαιτούμενα υλικά", "Προετοιμασία δείγματος", "Ποιοτικός έλεγχος", "Επαλήθευση προσδιορισμού", "Ερμηνεία της χρώσης", "Υπόμνημα για τα σύμβολα στις ετικέτες" και "Γενικοί περιορισμοί" στην ενότητα "Χρήση αντιδραστηρίων BOND" στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης της BOND.

Παραπομπές

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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.

Ημερομηνία Έκδοσης

25 Σεπτεμβρίου 2018

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

Katalognummer: PB0809

Tilsligtet Anvendelse

Dette reagens er beregnet til brug i *in vitro*-diagnostik.

RNA Negative Control Probe er beregnet til brug ved identifikation af baggrundsfarvning, der følger af ikke-specifikke reaktioner i formalinfixeret, paraffinindstøbt væv ved *in situ*-hybridisering (ISH) med brug af det automatiske BOND-system (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Den kliniske fortolkning af enhver farvning eller fravær af samme skal ledsages af morfologiske undersøgelser og egnede kontroller og skal evalueres af en uddannet patolog i konteksten af patientens anamnese samt andre diagnostiske prøver.

Resumé og Forklaring

RNA Negative Control Probe er et enkelt oligonukleotid designet ud fra zebrafisk-DNA og analyseret med brug af Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)-analyse for at kontrollere, at sekvensen ikke har homologi med humane sekvenser. RNA Negative Control Probe fremstilles med et fluoresceinmærke med brug af de samme procedurer, som er gældende for andre oligonukleotidsonder, der anvendes til detektion af RNA på BOND. RNA Negative Control Probe er derfor ideel som en negativ kontrolsonde for RNA-ISH på BOND.

Leverede Reagenser

RNA Negative Control Probe er en fluoresceinkonjugeret oligonukleotidsonde (200 ng/ml) leveret i hybridiseringsopløsning.

Totalt volumen = 5,5 ml

Fortynding og Blanding

RNA Negative Control Probe er klar til brug. Rekonstitution, blanding, fortynding eller titrering af dette reagens er ikke påkrævet.

Nødvendige Materialer, Der Ikke Medfølger

Der henvises til "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugerdokumentationen for en komplet liste over materialer, der er nødvendige til præparatbehandling og *in situ*-hybridiseringsfarvning ved hjælp af BOND-systemet (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Opbevaring og Stabilitet

Opbevares ved 2–8 °C. Produktet er under disse betingelser stabilt frem til udløbsdatoen, der er angivet på beholderens etiket.

Der er ingen tydelige tegn, der indikerer kontaminering og/eller ustabilitet. Passende positive og negative vævskontroller bør køres samtidigt med testvæv.

Sættes tilbage til opbevaring ved 2–8 °C umiddelbart efter brug.

Opbevaringsforhold, der adskiller sig fra de oven for specificerede, skal verificeres af brugeren¹.

Forholdsregler

- Dette produkt er beregnet til brug i *in vitro*-diagnostik.

RNA NEGATIVE CONTROL PROBE

Indeholder Formamid (<50%) og

dextransulfat (<30%).

GHS07: Udråbstegn.

GHS08: Sundhedsfarer.

Signalord: Fare.

H360D: Kan skade

det ufødte barn.

H315: Forårsager

hudirritation.

H319: Forårsager

alvorlig øjenirritation.

P201: Indhent særlige anvisninger før brug.

P202: Anvend ikke produktet, før alle advarsler er læst og forstået.

P260: Indånd ikke pulver/røg/gas/tåge/damp/spray.

P308+313: VED eksponering eller mistanke om eksponering: Søg lægehjælp.

P314: Søg lægehjælp ved ubehag.

P264: Vask hænder grundigt efter brug.

P280: Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

P305+351+338: VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning.

P337+313: Ved vedvarende øjenirritation: Søg lægehjælp.

P302+352: VED KONTAKT MED HUDEN: Vask med rigeligt sæbe og vand.

P332+313: Ved hudirritation: Søg lægehjælp.

P362+364: Forurenet tøj tages af og vaskes, før det bruges igen.

Må kun anvendes af professionelle brugere.

- En kopi af sikkerhedsdatabladet (MSDS) kan fås ved henvendelse til den lokale distributør eller til Leica Biosystems' regionale kontor. Det kan tillige hentes på Leica Biosystems' hjemmeside www.LeicaBiosystems.com.
- Præparater, både før og efter fiksering, samt alle øvrige materialer, der eksponeres for disse, skal håndteres som værende i stand til at overføre infektion og skal bortskaffes under iagttagelse af passende forholdsregler². Afpipetter ikke reagenser med munden, og undgå at reagenser og præparater kommer i kontakt med hud og slimhinder. Hvis reagenser eller præparater kommer i kontakt med følsomme områder, skal disse vaskes med rigelige mængder vand. Søg læge.
- Bortskaffelse af potentielt toksiske komponenter skal ske i overensstemmelse med gældende statslig eller lokal lovgivning.
- Mikrobiel kontamination af reagenser skal minimeres for at undgå en øget ikke-specifik farvning.
- Genfindning, inkubationstider eller -temperaturer ud over de specificerede kan give fejlagtige resultater. Enhver ændring af denne art skal valideres af brugeren.

Brugsanvisning

RNA Negative Control Probe er udviklet til brug for det automatiserede BOND-systemet (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) i kombination med Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection og BOND-hjælpereagenser. Brugere. Den anbefalede farvningsprotokol for RNA Negative Control Probe er ISH Protocol A. Til enzymforbehandling, som anbefales, bruges BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 i 15 minutter.

Der skal altid bruges egnede vævs- og reagenskontroller. Protokollen for vævs- og reagenskontrollerne skal svare til protokollen for RNA testproben.

Kvalitetskontrol

Forskelle i behandlingen af væv og forskelle i tekniske procedurer i brugerens laboratorium kan frembringe betydeligt varierende resultater og nødvendiggøre regelmæssig udførelse af kontroller på stedet ud over nedenstående procedurer.

Positiv vævskontrol

Anvendes til påvisning af, at vævet er fremstillet korrekt, og at der er anvendt korrekte farvningsteknikker. Der bør inkluderes en positiv vævskontrol for hvert sæt testbetingelser i hver farvekørsel. Svagt positivt farvet væv er mere egnet end kraftigt positivt farvet væv til optimal kvalitetskontrol og påvisning af små niveauer af reagensnedbrydning.

Negativ vævskontrol

Skal undersøges efter den positive vævskontrol for at verificere specificiteten af mærkningen af prøben i forhold til målstedet.

Alternativt frembyder de mange forskellige celletyper, der er til stede i de fleste vævsnit, ofte negative kontrolsteder, men dette skal verificeres af brugeren.

Negativ reagenskontrol

Brug RNA Negative Control Probe PB0809 i stedet for RNA testproben på et snit af hver patientprøve for at vurdere uspecifik farvning og muliggøre bedre fortolkning af specifik farvning på målstedet.

Positiv reagenskontrol

Brug RNA Positive Control Probe PB0785 i stedet for RNA testproben på et snit af hver patientprøve for at undersøge holdbarheden af kernesyrrer og samtidig probens tilgængelighed til kernesyrrer. Hvis RNA Positive Control Probe ikke udviser positiv farvning, må testresultatet fortolkes som ikke brugbart.

Patientvæv

Undersøg patientprøver farvet med RNA testproben sidst. Intensiteten af positiv farvning skal bedømmes i sammenhæng med uspecifik baggrundsfarvning af RNA Negative Control Probe PB0809.

Forventede Resultater

Normale væv

Ved brug af PB0809 blev der ikke observeret farvning i en lang række væv. (Samlet antal evaluerede, normale tilfælde = 96).

Tumørvæv

Ved brug af PB0809 blev der ikke observeret farvning i ovarietumorer (0/3), skjoldbruskirteltumorer (0/3), lungetumorer (0/3), levertumorer (0/3), hjernetumorer (0/2), spiserørstumorer (0/2), brysttumorer (0/2), hudtumorer (0/2), metastatiske tumorer af ukendt oprindelse (0/2), mavetumorer (0/1), tyktarmstumorer (0/1), endetarmstumorer (0/1), en strubehovedtumor (0/1) og en thymuskirteltumor (0/1) (Samlet antal evaluerede, unormale tilfælde = 29).

Det anbefales at anvende PB0809 som et screeningsværktøj til at vurdere farvning af en RNA-testsonde på en patientprøve.

Produktspecifikke Begrænsninger

RNA Negative Control Probe er blevet optimeret hos Leica Biosystems til brug sammen med Anti-Fluorescein antibody, BOND Polymer Refine Detection og BOND-hjælpereagenser. Brugere, som afviger fra anbefalede testprocedurer, må selv tage ansvaret for fortolkningen af patientresultater under disse betingelser. Protokolliderne kan variere på grund af variationer i vævsfiksering og effektiviteten af enzymatisk nedbrydning og skal bestemmes empirisk. Der skal anvendes RNA Negative Control Probe ved optimering af genfindingsbetingelser og protokollider.

Fejlfinding

Reference 3 kan være til hjælp ved afhjælpende foranstaltninger.

Kontakt den lokale distributør eller Leica Biosystems' regionale kontor for at rapportere usædvanlig farvning.

Yderligere Oplysninger

Yderligere oplysninger om *in situ*-hybridisering med BOND-reagenser kan findes i "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugerdokumentationen under overskrifterne Proceduremæssige principper, Nødvendige materialer, Præparatklargøring, Kvalitetskontrol, Analyseverifikation, Fortolkning af farvning, Nøgle til symboler på etiketter og Generelle begrænsninger.

Referencer

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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.

Udgivelsesdato

25 september 2018

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

Catalogusnummer.: PB0809

Beoogd gebruik

Dit reagens is bedoeld voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

RNA Negative Control Probe is bedoeld voor gebruik bij de identificatie van achtergrondkleuring als gevolg van niet-specifieke interactie in met formaline gefixeerd, in paraffine ingebed weefsel, door *in situ* hybridisatie (ISH) met gebruik van het automatische BOND systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem).

De klinische interpretatie van eventuele kleuring of ontbreken daarvan moet worden aangevuld met morfologisch onderzoek en het gebruik van geschikt controle materiaal. De interpretatie moet door een vakkundige patholoog worden geëvalueerd binnen de context van de klinische geschiedenis van de patiënt en eventueel ander diagnostisch onderzoek.

Samenvatting en uitleg

RNA Negative Control Probe is een enkel oligonucleotide, ontworpen op basis van DNA van de zebra vis, geanalyseerd met behulp van de Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) om te bevestigen dat de sequentie niet overeenstemt met menselijke sequenties.

RNA Negative Control Probe wordt gegenereerd met een fluoresceïne-label, met behulp van dezelfde procedures die op andere oligonucleotideprobes wordt toegepast bij detectie van RNA op BOND. Daarom is RNA Negative Control Probe ideaal voor negatieve controle van RNA ISH op BOND.

Geleverde reagentia

RNA Negative Control Probe is een fluoresceïne-gekoppelde oligonucleotideprobe (200 ng/ml) geleverd in Hybridization Solution.

Totaal volume = 5,5 mL

Verdunnen en mengen

RNA Negative Control Probe is klaar voor gebruik. Reconstrueren, mengen, verdunnen of titreren van deze reagens is niet vereist.

Benodigde materialen die niet worden meegeleverd

Zie "Het gebruik van BOND reagentia" in de gebruikersdocumentatie over BOND voor een compleet overzicht van materialen die nodig zijn voor monsterbehandeling en *in situ* hybridisatiekleuring met behulp van het BOND systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem).

Opslag en stabiliteit

Bewaar bij 2-8 °C. Onder deze omstandigheden is het product stabiel tot de vervaldatum die op het etiket van de container is vermeld.

Er zijn geen zichtbare tekenen die kunnen duiden op besmetting en/of instabiliteit. Tegelijk met het testweefsel moet weefsel voor positieve en negatieve controle worden gebruikt.

Plaats het product direct na gebruik weer terug bij een temperatuur van 2-8 °C.

Afwijkende opslagomstandigheden moeten worden geverifieerd door de gebruiker¹.

Voorzorgsmaatregelen

- Dit product is bedoeld voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

RNA NEGATIVE CONTROL PROBE

Bevat Formamide (<50%) en

dextraansulfaat (<30%).

GHS07: Uitroepteken.

GHS08: Gezondheidsgevaar.

Signaalwoorden: Gevaar.

H360D: Kan het
ongeboren kind
schaden.

H315: Veroorzaakt
huidirritatie.

H319: Veroorzaakt
ernstige
oogirritatie.

P201: Verkrijgen alvorens te gebruiken de speciale aanwijzingen raadplegen.

P202: Pas gebruiken nadat u alle veiligheidsvoorschriften gelezen en begrepen heeft

P260: Stof/rook/gas/nevel/damp/spuitnevel niet inademen.

P308+313: NA (mogelijke) blootstelling: een arts raadplegen.

P314: Bij onwel voelen een arts raadplegen.

P264: Na het werken met dit product handen grondig wassen.

P280: Beschermende handschoenen/beschermende kleding/
ogbescherming/gelaatsbescherming dragen.

P305+351+338: BIJ CONTACT MET DE OGEN: voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten; contactlenzen verwijderen, indien mogelijk; blijven spoelen.

P337+313: Bij aanhoudende oogirritatie: een arts raadplegen.

P302+352: BIJ CONTACT MET DE HUID: met veel water en zeep wassen.

P332+313: Bij huidirritatie: een arts raadplegen.

P362+364: Verontreinigde kleding uittrekken en wassen alvorens deze opnieuw te gebruiken.

Alleen voor professionele gebruikers.

- Neem voor een veiligheidsinformatieblad contact op met uw lokale distributeur of regionale kantoor van Leica Biosystems, of ga naar de website van Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com
- Monsters, en alle materialen die eraan worden blootgesteld, moeten voor en na fixatie worden behandeld als potentiële overdragers van infecties en met inachtneming van de juiste voorzorgsmaatregelen worden afgevoerd². Reagentia mogen nooit met de mond worden gepipetteerd. Vermijd contact van de huid en slijmvliezen met reagentia of monsters. Als reagentia of monsters in contact komen met gevoelige gebieden, moet u deze gebieden wassen met een ruime hoeveelheid water. Neem contact op met een arts.
- Raadpleeg de richtlijnen van de lokale, provinciale of nationale overheid voor het afvoeren van potentieel giftige componenten.

- Minimaliseer de kans op microbiële contaminatie van reagentia. Als u dit niet doet, kan er een toename van niet-specifieke kleuring optreden.
- Terugwinning, incubatietijden of temperaturen die afwijken van de specificaties kunnen foutieve resultaten geven. Zulke veranderingen moeten worden gevalideerd door de gebruiker.

Gebruiksaanwijzing

RNA Negative Control Probe is ontwikkeld voor gebruik op het automatische BOND systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem), in combinatie met BOND Polymer Refine Detection. Het aanbevolen kleuringsprotocol voor RNA Negative Control Probe is ISH Protocol A. Het aanbevolen protocol voor voorbehandeling en kleuring wordt bepaald door de specifieke oligonucleotide ISH probe die wordt getest.

Gebruik altijd geschikte controles voor weefsel en reagens. Het protocol voor de controle van weefsel en reagens dient overeen te stemmen met het protocol van de RNA-testprobe.

Kwaliteitscontrole

Verschillen in weefselverwerking en technische procedures in het laboratorium van de gebruiker kunnen significante verschillen in resultaten geven, wat het noodzakelijk maakt regelmatig interne controles uit te voeren in aanvulling op de volgende procedures.

Positieve weefselcontrole

Wordt gebruikt om te bevestigen dat weefsels correct geprepareerd zijn en dat passende kleuringstechnieken zijn gebruikt.

Er dient één positieve weefselcontrole te worden opgenomen voor iedere set testcondities waarin de kleuring wordt uitgevoerd. Voor optimale kwaliteitscontrole en detectie van lichte degeneratie van de reagens is een weefsel met zwakke positieve kleuring meer geschikt dan een weefsel met sterke positieve kleuring.

Negatieve weefselcontrole

Dient te worden onderzocht ná het positieve controleweefsel, om de specificiteit van de labeling van de probe met het target te verifiëren. De verscheidenheid aan celtypen die in de meeste weefselcoupes aanwezig zijn levert vaak negatieve controlelocaties op, maar dit moet wel worden geverifieerd door de gebruiker.

Negatieve reagenscontrole

Gebruik RNA Negative Control Probe PB0809 in plaats van de RNA testprobe met een coupe van ieder patiëntenmonster om niet-specifieke kleuring te evalueren en specifieke kleuring bij het target beter te kunnen interpreteren.

Positieve reagenscontrole

Gebruik RNA Positive Control Probe PB0785 in plaats van de RNA testprobe met een coupe van ieder patiëntenmonster om informatie te verkrijgen over het behoud van nucleïnezuren in het weefsel, en over toegankelijkheid van nucleïnezuren voor de probe. Als de RNA Positive Control Probe geen positieve kleuring vertoont, moeten de resultaten die op basis van testmonsters zijn verkregen als ongediend worden beschouwd.

Patiëntenweefsel

Bekijk patiëntenmonsters gekleurd met RNA testprobe als laatste. Bepaal de intensiteit van de positieve kleuring binnen de context van iedere niet-specifieke achtergrondkleuring van de RNA Negative Control Probe PB0809.

Verwachte Resultaten

Normale weefsels

Bij gebruik van PB0809 is er in een breed scala aan weefsels geen kleuring waargenomen. (Totaal aantal beoordeelde normale gevallen = 96).

Tumorweefsels

Bij gebruik van PB0809 werd geen kleuring waargenomen in ovariumtumoren (0/3), schildkliertumoren (0/3), longtumoren (0/3), levertumoren (0/3), hersentumoren (0/2), slokdarmtumoren (0/2), borsttumoren (0/2), huidtumoren (0/2), gemetastaseerde tumoren van onbekende oorsprong (0/2), maagtumoren (0/1), colontumoren (0/1), rectumtumoren (0/1), een tumor van de larynx (0/1) en een tumor van de thymus (0/1). (Totaal aantal beoordeelde afwijkende gevallen = 29).

PB0809 wordt aanbevolen als screeningsinstrument om kleuring van een RNA-testprobe bij patiëntenmonsters te evalueren.

Productspecifieke beperkingen

RNA Negative Control Probe is door Leica Biosystems geoptimaliseerd voor gebruik met Anti-Fluoresceïn Antibody, BOND Polymer Refine Detection en BOND hulpreegentia. Gebruikers die van de aanbevolen testprocedures afwijken, moeten verantwoordelijkheid nemen voor interpretatie van patiëntresultaten onder deze omstandigheden. De protocollijnen kunnen verschillen als gevolg van variatie in weefselfixatie en de effectiviteit van enzymatische vertering, en moeten empirisch worden vastgesteld. Gebruik RNA Negative Control Probe bij optimalisatie van de omstandigheden voor terugwinning, en van protocoltijden.

Probleemoplossing

Referentie 3 helpt mogelijk bij foutherstelling.

Neem contact op met uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems om ongebruikelijke kleuring te melden.

Nadere informatie

Nadere informatie over *in situ* hybridisatie met BOND reagentia, onder de kopjes Principe van de procedure, Benodigde materialen, Monsterpreparatie, Kwaliteitscontrole, Testverificatie, Interpretatie van kleuring, Uitleg bij symbolen op etiketten en Algemene beperkingen, kunt u vinden in "Het gebruik van BOND reagentia" in de gebruikersdocumentatie behorende bij BOND.

Literatuurverwijzingen

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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.

Publicatiedatum

25 september 2018

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

Katalognummer: PB0809

Tiltenkt bruk

Denne reagensen er for *in vitro*-diagnostisk bruk.

RNA Negative Control Probe er beregnet for bruk i identifikasjonen av bakgrunnsfarging som følge av uspesifikke interaksjoner i formalinfixert, parafininnstøpt vev ved *in situ* hybridisering (ISH) med det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Den kliniske tolkningen av farge eller manglende farge skal suppleres med morfologiske undersøkelser og bruk av egnede kontroller, og bør evalueres av en kvalifisert patolog i lys av pasientens kliniske historie og eventuelle andre diagnostiske tester.

Oppsummering og forklaring

RNA Negative Control Probe er et enkelt oligonukleotid som er designet fra sebrafisk-DNA og analysert ved hjelp av Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)-analyser for å bekrefte at sekvensen ikke har homologi til noen humane sekvenser. RNA Negative Control Probe genereres med et fluorescensmerke ved hjelp av de samme prosedyrene som anvendes på andre oligonukleotidprober som brukes for å påvise RNA i BOND. RNA Negative Control Probe er derfor ideell som en negativ kontrollprobe for RNA ISH i BOND.

Medfølgende reagenser

RNA Negative Control Probe er en fluorescenskonjugert oligonukleotidprobe (200 ng/ml) som leveres i hybridiseringsløsning.

Totalt volum = 5,5 ml

Fortynning og blanding

RNA Negative Control Probe er klar til bruk. Rekonstituering, blanding, fortynning eller titrering av denne reagensen er ikke nødvendig.

Nødvendige materialer som ikke medfølger

I "Bruk av BOND-reagenser" i BOND-brukerveiledningen finner du en komplett liste over materialer som trengs til prøvebehandling og *in situ* hybridisering-farging med BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevares ved 2–8 °C. Produktet er stabilt under disse forholdene inntil utløpsdatoen som er angitt på etiketten på beholderen.

Det er ingen åpenbare tegn som indikerer kontaminering og/eller ustabilitet. Egnede positive og negative vevskontroller skal kjøres samtidig som testvev.

Returneres til 2–8 °C umiddelbart etter bruk.

Andre oppbevaringsbetingelser enn de som er nevnt ovenfor må verifiseres av brukeren¹.

Forholdsregler

- Dette produktet er beregnet for *in vitro*-diagnostisk bruk.

RNA NEGATIVE CONTROL PROBE

Inneholder Formamid (<50%) og dekstransulfat (<30%).

GHS07: Utropstegn.

GHS08: Helsefare.

Signalord: Fare.

H360D: Kan skade det ufødte barnet.

H315: Irriterer huden.

H319: Gir alvorlig øyeirritasjon.

P201: Innhent særskilt instruks før bruk.

P202: Skal ikke håndteres før alle advarsler er lest og oppfattet.

P260: Ikke innånd støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler.

P308+313: Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søk legehjelp.

P314: Søk legehjelp ved ubehag.

P264: Vask hender grundig etter bruk.

P280: Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller beskyttelse / ansiktsskjerm.

P305+351+338: VED KONTAKT MED ØYENENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen.

P337+313: Ved vedvarende øyeirritasjon: Søk legehjelp.

P302+352: VED HUDKONTAKT: Vask med mye såpe og vann.

P332+313: Ved hudirritasjon: Søk legehjelp.

P362+364: Ta av forurenset tøy og vask det før gjenbruk.

Kun til yrkesmessig bruk.

- For å få en kopi av sikkerhetsdatabladet (MSDS) kan du ta kontakt med den lokale forhandleren eller regionkontoret til Leica Biosystems, eller alternativt gå til Leica Biosystems' nettside, www.LeicaBiosystems.com
- Prøver, før og etter fiksering, og alt materiale som eksponeres for dem, skal behandles som potensielt smittefarlig og avhendes i samsvar med gjeldende forholdsregler². Hold aldri pipetter med reagens i munnen, og unngå at hud og slimhinner kommer i kontakt med reagenser og prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal områdene skylles med rikelig vann. Kontakt lege.
- Følg nasjonale og lokale forskrifter for avhending av komponenter som kan være giftige.
- Reduser mikrobiell kontaminering av reagensene til et minimum, ellers kan det forekomme økt uspesifikk farging.
- Gjenvinning, inkubasjonstider eller temperaturer som er annerledes enn det som er angitt, kan gi unøyaktige resultater. Slike endringer må valideres av brukeren.

Bruksanvisning

RNA Negative Control Probe ble utviklet for bruk på automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) i kombinasjon med Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection og BOND tilhørende reagenser. Den anbefalte fargeprotokollen for RNA Negative Control Probe er ISH Protocol A. Til enzymatisk forbehandling, anbefales det å bruke BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1, i 15 minutter.

Egnede vev og reagens bør alltid benyttes. Protokollen for vev og reagens skal tilsvare den RNA-test sonde.

Kvalitetskontroll

Forskjeller i behandlingen av vev og forskjeller i tekniske prosedyrer i brukerens laboratorium kan gi betydelig variasjon i resultatene, og det kan være nødvendig å foreta regelmessige kontroller på stedet i tillegg til prosedyrene angitt nedenfor.

Positiv vevskontroll

Brukes for å påvise korrekt vevspreparering og fargeteknikker.

En positiv vevskontroll bør inkluderes for hvert sett med testbetingelser i hver fargerunde. Svakt positivt farget vev er mer egnet enn kraftig positivt farget vev til optimal kvalitetskontroll og påvisning av små nivåer reagensnedbrytning.

Negativ vevskontroll

Skal undersøkes etter den positive vevskontrollen for å sikre at prøben merker målet spesifikt. Alternativt har de mange ulike celletypene som finnes i de fleste vevsnettene ofte negative kontrollsteder, men dette må verifiseres av brukeren.

Negativ reagenskontroll

Bruk RNA Negative Control Probe PB0809 i stedet for RNA-testproben på et snitt av hver pasientprøve for å vurdere uspesifikk farging og for å muliggjøre bedre fortolking av spesifikk farging på målet.

Positiv reagenskontroll

Bruk RNA Positive Control Probe PB0785 i stedet for RNA-testproben på et snitt av hver pasientprøve for å få informasjon om preservering av nukleinsyrer i vevet, så vel som tilgjengelighet av nukleinsyrer til prøben. Hvis RNA Positive Control Probe ikke viser positiv farging, skal resultatene til testprøvene anses som ugyldige.

Pasientvev

Undersøk pasientprøver farget med RNA-testprobe sist. Intensiteten av positiv farging bør vurderes i sammenheng med eventuell uspesifikk bakgrunnsfarging av RNA Negative Control Probe PB0809.

Forventede resultater

Normalt vev

Ved bruk av PB0809 ble ingen farging observert i et stort utvalg av vev. (Totalt antall evaluerte normale tilfeller = 96).

Tumorvev

Ved bruk av PB0809 ble ingen farging observert i ovarietumorer (0/3), thyreoideatumorer (0/3), lungetumorer (0/3), levertumorer (0/3), hjernetumorer (0/2), tumorer i spiserør (0/2), brysttumorer (0/2), hudtumorer (0/2), metastatiske tumorer av ukjent opprinnelse (0/2), magetumorer (0/1), tumorer i kolon (0/1), tumorer i rektum (0/1), en tumor i larynx (0/1) og en tumor i thymus (0/1) (Totalt antall evaluerte unormale tilfeller = 29).

PB0809 anbefales brukt som et screeningverktøy for å vurdere farging med RNA-testprobe på en pasientprøve.

Produktspesifikke begrensninger

RNA Negative Control Probe er optimalisert av Leica Biosystems til bruk sammen med Anti-Fluorescein antibody, BOND Polymer Refine Detection og BOND tilleggsreagenser. Brukere som avviker fra de anbefalte testprosedyrene, må selv ta ansvar for tolkingen av pasientresultater i slike situasjoner. Protokolltidene kan variere grunnet variasjon i vevsfiksering og effektiviteten til enzymatisk fordøyelse, og må dermed bestemmes empirisk. RNA Negative Control Probe bør brukes ved optimalisering av gjenvinningsforhold og protokolltider.

Feilsøking

Se referanse nr. 3 for opprettingstiltak.

Ta kontakt med den lokale forhandleren eller regionkontoret til Leica Biosystems for å rapportere om unormal farging.

Ytterligere opplysninger

Du finner mer informasjon om *in situ* hybridisering med BOND-reagenser i "Bruk av BOND-reagenser" i brukerdokumentasjonen for BOND-systemet under overskriftene Testprinsipper, Materieell som kreves, Preparering av prøver, Kvalitetskontroll, Analysekontroll, Tolking av farging, Oversikt over symboler og Generelle begrensninger.

Referanser

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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.

Utgivelsesdato

25 september 2018

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

Katalog No: PB0809

Kullanım Amacı

Bu reaktif, *in vitro* tanı kullanımı içindir.

RNA Negative Control Probe, otomatik BOND sistemi kullanılarak (Leica BOND-MAX sistemini ve Leica BOND-III sistemini de içermektedir) *in situ* hibridizasyon (ISH) yoluyla formalinde fikse edilmiş parafine gömümlü dokudaki spesifik olmayan etkileşimlerden kaynaklanan arka plan boyamasının tanımlanmasında kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

Boyamaların veya bulunmadıklarının klinik yorumu morfolojik çalışmalar ve uygun kontrollerle tamamlanmalı ve uzman bir patolog tarafından hastanın klinik öyküsü ve diğer tanı testleri bağlamında değerlendirilmelidir.

Özet ve Açıklama

RNA Negative Control Probe zebra balığı DNA'sından tasarlanmış ve dizilişlerin insan dizilişleri ile herhangi bir homoloji taşımadığını doğrulamak için Temel Lokal Hizalama Arama Aracı (BLAST) analizi kullanılarak analiz edilmiştir.

RNA Negative Control Probe BOND üzerinde RNA saptaması için kullanılan diğer oligonükleotid problemleri ile geçerli prosedürlerle aynı prosedürler kullanılarak fluoresan etiketi ile üretilmiştir. Dolayısıyla, RNA Negative Control Probe BOND üzerinde RNA ISH için bir negatif kontrol probu olarak idealdir.

Sağlanan Reaktifler

RNA Negative Control Probe hibridizasyon çözeltisi içinde temin edilen fluoresan-konjuge oligonükleotid probdur (200 ng/mL).

Toplam hacim = 5,5 mL

Sevreltme ve Karıştırma

RNA Negative Control Probe kullanıma hazırdır. Bu reaktifin sulandırılması, karıştırılması, sevreltilmesi veya titre edilmesi gerekmez.

Gerekli Olan Fakat Sağlanmamış Malzemeler

BOND sistemi kullanılarak (Leica BOND-MAX sistemini ve Leica BOND-III sistemini de içermektedir) numune işleme ve *in situ* hibridizasyon boyama için gerekli malzemelerin tam listesi için BOND kullanıcı dokümantasyonundaki "BOND Reaktiflerinin Kullanımı" bölümüne bakınız.

Saklama ve Stabilité.

2-8 °C'de saklayın. Ürün kap etiketinde belirtilen son kullanma tarihine kadar bu koşullar altında stabildir.

Kontaminasyon ve/veya instabilite gösteren açık bir belirti yoktur. Uygun pozitif ve negatif doku kontrolleri test dokusu ile aynı anda gerçekleştirilmelidir.

Kullanımdan hemen sonra derhal 2-8 °C sıcaklığa dönün.

Yukarıda belirtilenlerin dışındaki saklama koşulları kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır¹.

Önlemler

- Bu ürün *in vitro* tanı kullanımı için tasarlanmıştır.

RNA NEGATIVE CONTROL PROBE

Formamid (<50%) içeriyor ve dekstran sülfat (<30%).

GHS07: Ünl em isareti.

GHS08: Sağlık tehlikesi.

Isaret kelimesi: Tehlike.

H360D: Anne karnında

çocuga zarar verebilir.

H315: Cilt tahrislerine

neden olur.

H319: Ciddi göz

tahrişine neden olur.

P201: Kullanmadan önce özel talimatları alınız.

P202: Kullanmadan önce tüm güvenlik talimatlarını okuyunuz ve anlayınız.

P260: Toz/duman/gaz/sis/buhar/aerosol solumayınız.

P308+313: Maruziyet veya etkilenme HALİNDE: Tıbbi tavsiye / bakım alın.

P314: Kendinizi iyi hissetmiyorsanız tıbbi tavsiye / bakım alın.

P264: Kullandıktan sonra ellerinizi iyice yıkayınız.

P280: koruyucu eldiven/koruyucu elbise/göz koruyucu/yüz siperi kullanınız.

P305+351+338: GÖZLERLE TEMAS HALİNDE: Birkaç dakika dikkatlice suyla yıkayınız. Mümkünse mevcut kontak lensleri çıkarınız. Yıkamaya devam ediniz.

P337+313: Göz tahrisinin devami halinde: Tıbbi tavsiye / bakım alın.

P302+352: CİLT İLE TEMAS HALİNDE: Bol miktarda su ve sabunla yıkayınız.

P332+313: Cilt tahrisinde: Tıbbi tavsiye / bakım alın.

P362+364: Kontamine olmuş glyisileri çıkarın ve tekrar kullanmadan önce yıkayın.

Sadece uzmanlar tarafından kullanılmalıdır.

- Malzeme Güvenlik Bilgi Formunun bir kopyasını almak için yerel distribütörünüz veya Leica Biosystems bölge ofisi ile iletişime geçin veya Leica Biosystems'in internet sitesini ziyaret edin: www.LeicaBiosystems.com
- Fiksasyondan önce ve sonra numuneler ve bunlara maruz kalan tüm malzemeler enfeksiyon bulaştırabilen maddeler olarak ele alınmalı ve uygun önlemler alınarak imha edilmelidir². Reaktifleri hiçbir zaman ağızınıza pipetlemeyin ve reaktiflerin veya numunelerin cilt ve muköz membranları ile temasından kaçının. Eğer reaktiflerin veya numunelerin hassas bölgelerle temas etmesi halinde, bol su ile yıkayın. Tıbbi yardım alın.
- Toksik olma potansiyeli olan bileşenleri imha etmek için Federal, Devlet veya yerel düzenlemeleri takip edin.
- Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonunu en aza indirin, aksi halde spesifik olmayan boyamada bir artış meydana gelebilir.

- Belirtilenlerin dışındaki geri alma, inkübasyon süreleri veya sıcaklıklar hatalı sonuçlara neden olabilir. Bu gibi değişiklikler kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Kullanım talimatları

RNA Negative Control Probe BOND Polymer Refine Detection ile kombinasyon halinde otomatik BOND sistemi (Leica BOND-MAX sistemini ve Leica BOND-III sistemini de içermektedir) üzerinde kullanılmak için geliştirilmiştir. RNA Negative Control Probe için önerilen boyama protokolü ISH Protocol A'dır. BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 kullanılarak 15 dakika boyunca de enzim ön işlemi tavsiye edilir.

Her zaman uygun doku ve reaktif kontrolleri kullanılmalıdır. Doku ve reaktif kontrolleri protokolü RNA test probunun protokolüne uygun olmalıdır.

Kalite Kontrol

Kullanıcının laboratuvarındaki doku işleme ve teknik prosedürlerdeki farklılıklar sonuçlarda anlamlı değişkenliğe yol açarak aşağıdaki prosedürlere ek olarak düzenli şekilde şirket içi kontrollerin gerçekleştirilmesini gerektirebilir.

Pozitif Doku Kontrolü

Doğru şekilde hazırlanmış dokuları ve uygun boyama tekniklerini göstermek için kullanılır.

Her boyama döngüsünde her test koşulu setine bir pozitif doku kontrolü dahil edilmelidir. Minör düzeydeki reaktif bozulmalarını saptamak için zayıf pozitif boyama yapılan bir doku optimal kalite kontrol için güçlü pozitif boyama yapılmış bir dokudan daha uygundur.

Negatif Doku Kontrolü

Prob etiketinin hedefe göre spesifikliğini doğrulamak için pozitif doku kontrolünden sonra incelenmesi gerekir. Alternatif olarak, birçok doku kesitinde bulunan farklı hücre tipleri sık sık negatif kontrol alanları sunar, fakat bu kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Negatif Reaktif Kontrolü

Spesifik olmayan boyamayı değerlendirmek ve hedefteki spesifik boyamanın daha iyi şekilde yorumlanmasını sağlamak için her hasta numunesinin bir kesiti ile RNA test probu yerine RNA Negative Control Probe PB0809'u kullanın.

Pozitif Reaktif Kontrolü

Dokudaki nükleik asitlerin korunması ve nükleik asitlerin proba ulaşabilirliği hakkında bilgi sağlamak için her hasta numunesinin bir kesiti ile RNA test probu yerine RNA Positive Control Probe PB0785'i kullanın. RNA Positive Control Probe'un pozitif boyama gösteremediği durumlarda, test numuneleri ile elde edilen sonuçlar geçersiz olarak kabul edilmelidir.

Hasta Dokusu

En son RNA test probu ile boyanmış hasta numunelerini inceleyin. Pozitif boyama yoğunluğu şu probun spesifik olmayan arka plan boyaması bağlamında değerlendirilmelidir: RNA Negative Control Probe PB0809.

Öngörülen Sonuçlar

Normal Dokular

PB0809 kullanıldığında çok sayıda dokuda boyama gözlemlenmemiştir. (Değerlendirilen toplam normal vaka sayısı = 96).

Tümörlü Dokular

PB0809 kullanıldığında overyan tümörleri (0/3), tiroid tümörleri (0/3), akciğer tümörleri (0/3), karaciğer tümörleri (0/3), beyin tümörleri (0/2), özofagus tümörleri (0/2), göğüs tümörleri (0/2), cilt tümörleri (0/2), bilinmeyen nedenden meydana gelen metastatik tümörler (0/2), mide tümörleri (0/1), kolon tümörleri (0/1), rektal tümörler (0/1), larinks tümörü (0/1) ve timüs tümöründe (0/1) boyama gözlemlenmemiştir (Değerlendirilen toplam anormal vaka sayısı = 29).

PB0809 bir hasta numunesinde RNA test probu boyamasını değerlendirmek için bir tarama aracı yardımcısı olarak tavsiye edilir.

Ürüne Özgü Sınırlamalar

RNA Negative Control Probe Leica Biosystems'te Anti-Fluorescein antibody, BOND Polymer Refine Detection ve BOND yardımcı reaktifleri ile kullanım için optimize edilmiştir. Tavsiye edilen test prosedürlerine riayet etmeyen kullanıcılar bu koşullar altında hasta sonuçlarının yorumlanması ile ilgili sorumluluğu üstlenmelidir. Protokol süreleri doku fiksasyonundaki varyasyon ve enzimatik sindirimini etkileiliği nedeniyle farklılık gösterebilir ve ampirik olarak belirlenmelidir. RNA Negative Control Probe geri alma koşulları ve protokol süreleri optimize edilirken kullanılmalıdır.

Sorun Giderme

Referans 3 sorunların giderilmesinde faydalı olabilir.

Olağandışı boyamayı bildirmek için yerel distribütörünüz veya Leica Biosystems bölge ofisi ile iletişime geçin.

Daha Fazla Bilgi

BOND reaktifleri *in situ* hibridizasyon hakkında daha fazla bilgi BOND kullanıcı dokümantasyonundaki "BOND Reaktiflerinin Kullanımı" içinde Prosedür Prensipleri, Gereklilikler, Numunenin Hazırlanması, Kalite Kontrol, Miktar Tayini Doğrulaması, Boyamanın Yorumlanması, Etiket Üzerindeki Sembollerin Açıklaması ve Genel Sınırlamalar başlıkları altında bulunabilir.

Referanslar

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.

3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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.

Düzenlenme Tarihi

25 Eylül 2018

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

Каталожен №: PB0809

Предназначение

Този реагент е за употреба при *in vitro* диагностика.

Продуктът RNA Negative Control Probe е предназначен за използване при идентификация на фоново оцветяване, произтичащо от неспецифичните взаимодействия във фиксирана с формалин, вградена в парафин тъкан чрез *in situ* хибридизация (ISH) с помощта на автоматизираната система BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III).

Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания и съответните контроли и да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

Описателна и разяснителна

RNA Negative Control Probe е единичен олигонуклеотид, създаден от ДНК на риба зебра, и анализиран с помощта на анализ чрез инструмента Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), за да се потвърди, че секвенцията няма хомология с човешки секвенции. RNA Negative Control Probe се генерира белязан с флуоресцин, като се използват същите процедури, които се прилагат при други проби от олигонуклеотид, служещи за откриването на PHK на BOND. Ето защо продуктът RNA Negative Control Probe е идеален за проба за негативна контрола за PHK ISH на BOND.

Предоставени реагенти

RNA Negative Control Probe е конюгирана с флуоресцин олигонуклеотидна проба (200 ng/mL), доставена в разтвор за хибридизация.

Общ обем = 5,5 mL

Разреждане и смесване

Продуктът RNA Negative Control Probe е готов за употреба. Не се изисква възстановяване, смесване, разреждане или титриране на този реагент.

Необходими, но непредоставени материали

Вижте „Употреба на реагенти BOND“ във вашата документация за потребителя на BOND за пълен списък от материали, необходими за третиране на спесимени и *in situ* оцветяване с хибридизация при използване на системата BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III).

Съхранение и стабилност

Съхранявайте при температура 2 – 8 °C. Продуктът е стабилен при тези условия до изтичане на срока на годност, указан на етикетата на контейнера.

Не са налице очевидни признаци, указващи замърсяване и/или нестабилност. Съответните позитивни и негативни тъканни контроли трябва да бъдат обработени едновременно с тестовата тъкан.

Да се върне на температура 2 – 8 °C веднага след употреба.

Другите условия на съхранение, освен посочените по-горе, трябва да бъдат проверени от потребителя¹.

Предпазни мерки

- Този продукт е предназначен за *in vitro* диагностика.

RNA NEGATIVE CONTROL PROBE

Съдържа формамид (<50%) и декстран сулфат (<30%).
GHS07: Удивителен знак.
GHS08: Опасност за здравето.
Сигнални думи: Опасност.

H360D: Може да увреди плода.
H315: Предизвиква дразнене на кожата.
H319: Предизвиква сериозно дразнене на очите.

P201: Преди употреба се снабдете със специални инструкции.
P202: Не използвайте, преди да сте прочели и разбрали всички предпазни мерки за безопасност.
P260: Не вдъшвайте прах/пушек/газ/дим/изпарения/аерозоли.
P308+313: ПРИ явна или предполагаема експозиция: Потърсете медицински съвет/помощ.
P314: При неразположение потърсете медицински съвет/помощ.
P264: Измийте ръцете си старателно след употреба.
P280: Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.
P305+351+338: ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: Изплакнете внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно. Продължете с изплакването.
P337+313: При продължително дразнене на очите: Потърсете медицински съвет/помощ.
P302+352: ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА: Измийте обилно със сапун и вода.
P332+313: При поява на кожно дразнене: Потърсете медицински съвет/помощ.
P362+364: Свалете замърсеното облекло и го изперете преди повторна употреба.
Само за професионална употреба.

- За да получите копие на Информационния лист за безопасност на материалите, свържете се с Вашия местен дистрибутор или регионален офис на Leica Biosystems или посетете уебсайта на Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- Спесимените преди и след фиксация, както и всички материали, изложени на тяхното влияние, трябва да бъдат третирани като способни да предадат инфекция и да бъдат изхвърлени, прилагайки съответните предпазни мерки. Никога не пипайте реактивите с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реактиви или спесимени. При контакт на реактиви или спесимени с чувствителни зони измийте зоните с обилно количество вода. Потърсете медицинска помощ.
- Консултирайте се с федералните, държавните или местните регламенти относно изхвърлянето на потенциално токсични компоненти.
- Свеждайте до минимум микробната контаминация на реактивите, в противен случай може да се появи увеличаване на неспецифичното оцветяване.
- Извличането, инкубационните времена или температури, различни от посочените, могат да доведат до погрешни резултати. Всякакви подобни промени трябва да бъдат валидирани от потребителя.

Инструкции за употреба

Продуктът RNA Negative Control Probe е разработен за употреба с автоматизираната система BOND (включва система Leica BOND-MAX и система Leica BOND-III) в комбинация с Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection и спомагателни реактиви BOND. Препоръчителният протокол за оцветяване за RNA Negative Control Probe е ISH Protocol A. Препоръчва се извличане на ензими в продължение на 15 минути с помощта на BOND Enzyme Pre-treatment Kit, Enzyme 1.

Винаги трябва да се използват подходящи контроли на тъкани и реактиви. Протоколът за контролите на тъкани и реактиви трябва да съответства на този за РНК тестова проба.

Качествен контрол

Различията в обработката на тъканите и техническите процедури в лабораторията на потребителя могат да доведат до значително вариране на резултатите, налагащо редовно извършване на вътрешен контрол в допълнение към следните процедури.

Позитивна тъканна контрола

Използва се, за да се покажат правилно приготвени тъкани и правилни техники на оцветяване. Една позитивна тъканна контрола трябва да бъде включена за всеки сет с тестови условия при всяка серия проби за оцветяване.

Тъкан със слабо позитивно оцветяване е по-подходяща от тъкан със силно позитивно оцветяване за оптимален качествен контрол и за откриване на по-малки нива на деградация на реактента.

Негативна тъканна контрола

Трябва да се изследва след позитивната тъканна контрола, за да се провери специфичността на маркирането на целевия елемент от сондата. Алтернативно, разнообразието от различни видове клетки, присъстващи в повечето тъкани срези, често предлага места за негативна контрола, но това трябва да се провери от потребителя.

Негативна контрола на реактента

Използвайте RNA Negative Control Probe PB0809 вместо тестова проба РНК със срез от всеки спесимен на пациента, за да направите оценка на неспецифичното оцветяване и да дадете по-добра интерпретация на специфичното оцветяване на прицелния елемент.

Позитивна контрола на реактента

Използвайте RNA Positive Control Probe PB0785 вместо РНК тестовата проба, със срез от всеки спесимен на пациента, за да предоставите информация за запазването на нуклеиновите киселини в тъканта, както и за достъпността на нуклеиновите киселини за сондата. Ако RNA Positive Control Probe не показва позитивно оцветяване, резултатите от пробите, включени в теста, трябва да се считат за невалидни.

Тъкан от пациента

Изследвайте проби на пациенти, оцветени последно с РНК тестова проба. Наситеността на позитивното оцветяване трябва да бъде оценена в контекста на всяко неспецифично фоново оцветяване на RNA Negative Control Probe PB0809.

Очаквани резултати

Нормални тъкани

При използване на PB0809 не се наблюдава оцветяване при широк набор от тъкани. (Общ брой на оценените нормални случаи = 96).

Абнормни тъкани

При използване на PB0809 не се наблюдава оцветяване при тумори на яйчниците (0/3), тумори на щитовидната жлеза (0/3), белодробни тумори (0/3), тумори на черния дроб (0/3), мозъчни тумори (0/2), тумори на хранопровода (0/2), тумори на гърдата (0/2), кожни тумори (0/2), метастатични тумори (0/2), тумори на стомаха (0/1), тумори на ободното черво (0/1), тумори на дебелото черво (0/1), тумор на ларинкса (0/1) и тумор на тимуса (0/1) (Общ брой на оценените абнормни случаи = 29).

PB0809 се препоръчва като помощен инструмент за скрининг за оценка на оцветяването на тестова проба РНК на спесимен от пациент.

Специфични ограничения на продукта

Продуктът RNA Negative Control Probe е оптимизиран от Leica Biosystems за употреба с Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection и спомагателни реактиви BOND. Потребителите, които се отклоняват от препоръчаните процедури за тестване, трябва да поемат отговорност за интерпретацията на резултатите на пациентите при тези обстоятелства. Времетраенето на протоколите може да варира поради вариацията във фиксацията на тъканта и ефективността на ензиматичната асимилация и трябва да се определи емпирично. Трябва да се използва RNA Negative Control Probe при оптимизиране на условията на извличане и времетраенето на протоколите.

Отстраняване на неизправности

Референция 3 може да подпомогне при коригиращи действия.

Свържете се с Вашия местен дистрибутор или регионалния офис на Leica Biosystems, за да съобщите за необичайно оцветяване.

Допълнителна информация

Допълнителна информация за *in situ* хибридикация с реагенти BOND можете да намерите в „Употреба на реагенти BOND“ във вашата документация за потребителя на BOND под заглавията „Принцип на процедурата“, „Необходими материали“, „Приготвяне на спесимен“, „Контрол на качеството“, „Потвърждаване на анализа“, „Интерпретация на оцветяването“, „Легенда на символите на етикетите“ и „Общи ограничения“.

Използвана литература

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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.

Дата на издаване

25 Септември 2018

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

Katalógusszám: PB0809

Alkalmazási terület

Ez a reagens *in vitro* diagnosztikai használatra szolgál.

Az RNA Negative Control Probe a nem specifikus interakciók miatti háttérfestődés meghatározására szolgál formalinban fixált, paraffinba ágyazott szövetben, *in situ* hibridizáció (ISH) útján, automata BOND rendszer (így a Leica BOND-MAX rendszer vagy a Leica BOND-III rendszer) használatával.

Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegészíteni, valamint az értékelést a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

Összefoglalás és magyarázat

Az RNA Negative Control Probe egyetlen fajta oligonukleotidból áll, amelyet zebradánói DNS-ből állítanak elő és a BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, egy szekvencia-hasonlóság kereső programcsomag) segítségével elemezzék, hogy igazolja, a szekvencia nem homológ semmilyen humán szekvenciával. Az RNA Negative Control Probe fluoreszcein jelöléssel készül azonos módszerek alkalmazva, mint a BOND rendszerrel használatos, az RNS kimutatására szolgáló más oligonukleotid próbák. Ennek köszönhetően az RNA Negative Control Probe ideálisan használható a BOND rendszeren végzett RNS ISH próba negatív kontrolljaként.

Biztosított reagens

Az RNA Negative Control Probe egy hibridizáló oldatban található, fluoreszceinnel konjugált oligonukleotid próba (200 ng/ml).

Teljes mennyiség = 5,5 ml

Hígítás és elegyítés

Az RNA Negative Control Probe használatra kész. Nem szükséges a reagens feloldása, elegyítése, hígítása vagy titrálása.

Szükséges, de nem biztosított anyagok

A minta kezeléséhez és a BOND rendszerrel (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel) végzett *in situ* hibridizációs festéshez szükséges anyagok teljes listáját lásd a BOND felhasználói dokumentáció „BOND reagensek használata” című részében.

Tárolás és stabilitás

2–8 °C-on tárolandó. A termék ilyen körülmények között a tartály címkéjén jelzett lejárat dátumig stabil marad.

Nincsenek szennyeződésre és/vagy instabilitásra utaló egyértelmű jelek. A vizsgált szövettel egy időben a megfelelő pozitív és negatív szövetkontrollok futtatását is el kell végezni.

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

A fentiekben előírtaktól eltérő tárolási feltételeket a felhasználónak ellenőriznie kell¹.

Övintézkedések

- Ez a termék *in vitro* diagnosztikai használatra szolgál.

RNA NEGATIVE CONTROL PROBE

Formamidot (<50%) és dextrán-szulfátot (<30%) tartalmaz.

GHS07: Felkiáltójel.

GHS08: Egészségi veszély.

Jelzőszók: Veszély.

H360D: Károsíthatja a születendő gyermeket.

H315: Bőrirritáló hatású.

H319: Súlyos szemirritációt okoz.

P201: Használat előtt ismerje meg az anyagra vonatkozó különleges utasításokat.

P202: Ne használja addig, amíg az összes biztonsági övintézkedést el nem olvasta és meg nem értette.

P260: A por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzése tilos.

P308+313: Expozíció vagy annak gyanúja esetén: orvosi ellátást kell kérni.

P314: Rosszullét esetén orvosi ellátást kell kérni.

P264: A használatot követően a kezet alaposan meg kell mosni.

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

P305+351+338: SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Óvatos öblítés vízzel több percen keresztül. Adott esetben kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.

P337+313: Ha a szemirritáció nem múlik el: orvosi ellátást kell kérni.

P302+352: HA BŐRRE KERÜL: Lemosás bő szappanos vízzel.

P332+313: Bőrirritáció esetén: orvosi ellátást kell kérni.

P362+364: A szennyezett ruhadarabot le kell vetni, és az újbóli használat előtt ki kell mosni.

Kizárólag szakemberek általi felhasználásra.

- Az anyagbiztonsági adatlap igényléséhez forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához, vagy keresse fel a Leica Biosystems weboldalát a www.LeicaBiosystems.com címen.

- A mintákat fixálás előtt és után, valamint a velük érintkező összes anyagot fertőzések terjesztésére képes anyagként kell kezelni, és megfelelő körültekintéssel kell ártalmatlanítani². Soha ne pipettázza szájjal a reagenseket, továbbá kerülje a bőr és a nyálkahártyák érintkezését a reagensekkel és a mintákkal. Ha a reagensek vagy minták érzékeny területtel érintkeznek, bő vízzel mossa le az érintett területet. Forduljon orvoshoz.
- Minden potenciálisan toxikus összetevő ártalmatlanításával kapcsolatban kövesse a szövetségi, állami és helyi előírásokat.
- Minimálisra kell csökkenteni a reagensek mikrobiális szennyeződését, különben megnövekedhet a nem specifikus festődés.
- A megadottaktól eltérő feltárási körülmények, inkubációs idők és hőmérsékletek hibás eredményekhez vezethetnek. A felhasználónak minden ilyen jellegű változtatást validálnia kell.

Használati útmutató

Az RNA Negative Control Probe automata BOND rendszerrel (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel) és az Anti-Fluorescein Antibody antitesttel, a BOND Polymer Refine Detection kittel és a BOND segédreagensekkel való együttes használatra lett kifejlesztve. Az RNA Negative Control Probe próbához javasolt festési protokoll az ISH Protocol A. Az enzimes feltáráshoz a BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 oldat 15 percig tartó alkalmazása javasolt.

Mindig kell megfelelő szövet- és reagenskontrollokat alkalmazni. A szövet- és reagenskontrollokhoz tartozó protokollnak meg kell felelnie az RNS vizsgálati próba protokolljának.

Minőség-ellenőrzés

A felhasználó laboratóriumában alkalmazott szövetfeldolgozási és technikai eljárások eltérései jelentős különbséget okozhatnak az eredményekben, ami az alábbi eljárásokon túl belső kontrollok rendszeres futtatását teszi szükségessé.

Pozitív szövetkontroll

A megfelelő szövet-előkészítés és festési technikák ellenőrzésére használatos. Minden tesztelési körülményegyettes esetében és minden megfestési sorozatban kell alkalmazni egy pozitív szövetkontrollt.

A gyengén pozitív festődésű szövet alkalmasabb az erősebben pozitív festődésű szövetnél az optimális minőség-ellenőrzéshez, valamint a kismértékű reagensbomlás észleléséhez.

Negatív szövetkontroll

A pozitív szövetkontroll után azért kell megvizsgálni, hogy a próba célnak megfelelő jelölésének specificitását ellenőrizni lehessen. Ezenkívül a legtöbb szövetmetszetben jelen lévő különböző sejttípusok gyakran használhatók negatív kontrollként, de ezeket a felhasználónak kell ellenőriznie.

Negatív reagenskontroll

A nem specifikus festődés kiértékeléséhez és a célsejtekben létrejövő specifikus festődés jobb értelmezéséhez az RNS vizsgálati próba helyett alkalmazza az RNA Negative Control Probe PB0809 készítményt minden betegminta esetén egy metszetenél.

Pozitív reagenskontroll

A nukleinsavak szöveti megtartottságával, valamint a nukleinsavak próba általi hozzáférhetőségével kapcsolatos információk szerzéséhez az RNS vizsgálati próba helyett alkalmazza az RNA Positive Control Probe PB0785 készítményt minden betegminta esetén egy metszetenél. Ha az RNA Positive Control Probe nem mutat pozitív festődést, a vizsgált minták eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

Betegszövet

Az RNS vizsgálati próbával festett betegmintákat vizsgálja meg utolsóként. A pozitív festődés intenzitását az RNA Negative Control Probe PB0809 esetleges nem specifikus háttérfestődésének viszonylatában értékelje.

Várható eredmények

Normál szövetek

A PB0809 alkalmazásával számos különböző szöveten nem volt festődés megfigyelhető. (Vizsgált normál esetek összesített száma = 96).

Kóros szövetek

A PB0809 használatakor nem volt megfigyelhető festődés petefészek-daganatok (0/3), pajzsmirigy-daganatok (0/3), tüdődaganatok (0/3) májdaganatok (0/3), agydgaganatok (0/2), nyelőcső-daganatok (0/2), emlődaganatok (0/2), bőrdaganatok (0/2), ismeretlen eredetű áttétes daganatok (0/2), gyomordaganat (0/1), vastagbél-daganat (0/1), végbél-daganat (0/1), gégedaganat (0/1) és csecsemőmirigy-daganat (0/1) esetén (vizsgált kóros esetek összesített száma = 29).

A PB0809 egy betegminta RNS vizsgálati próba festődésének kiértékelését segítő szűrőeszközként használatos.

Termékspecifikus korlátozások

Az RNA Negative Control Probe terméket a Leica Biosystems az Anti-Fluorescein Antibody antitesttel, a BOND Polymer Refine Detection kittel és a BOND segédreagensekkel való használatra optimalizálta. A tesztelési eljárásoktól való eltérés esetén a felhasználó felelőssége a betegeredmények értelmezése az adott körülmények között. A protokoll végrehajtásához szükséges idő a szövet fixálásának és az enzimes emésztés hatékonyságának eltérései miatt változó lehet, ezért tapasztalati alapon történő meghatározást igényel. A feltárási körülmények és a protokollidők optimalizálásakor használni kell az RNA Negative Control Probe készítményt.

Hibaelhárítás

A 3. számú hivatkozás segíthet a javító intézkedéseket illetően.

Szokatlan festődés bejelentéséhez forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához.

További információk

A BOND reagensekkel végzett *in situ* hibridizációra vonatkozó további információkat a BOND felhasználói dokumentáció „BOND reagensek használata” című részében talál a következő szakaszokban: Az eljárás elve, Szükséges anyagok, A minták előkészítése, Minőség-ellenőrzés, A teszt ellenőrzése, A festődés értelmezése, A címkéken szereplő szimbólumok magyarázata és Általános korlátozások.

Irodalomjegyzék

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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.

Kiadás dátuma

25 szeptember 2018

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

Nr. catalog: PB0809

Utilizare prevăzută

Acest reactiv este destinat utilizării pentru diagnosticare *in vitro*.

RNA Negative Control Probe este prevăzută pentru utilizare în identificarea colorației de fundal rezultate din interacțiuni nespecifice în țesut fixat cu formalină și încorporat în parafină, prin hibridizare *in situ* (ISH) utilizând sistemul automatizat BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III).

Interpretarea clinică a oricărei colorații sau a absenței acestora trebuie verificată prin studii morfologice, folosind proceduri de control adecvate, și trebuie evaluată în contextul antecedentelor clinice ale pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

Rezumat și explicație

RNA Negative Control Probe este o singură oligonucleotidă, concepută din ADN de pește zebură și analizată utilizând analiza Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) pentru a confirma că secvența nu are omologie cu vreo secvență umană. RNA Negative Control Probe este generată cu o etichetă de fluoresceină utilizând aceleași proceduri care sunt aplicate la alte probe de oligonucleotide utilizate în detectarea ARN pe BOND. Prin urmare, RNA Negative Control Probe este ideală ca probă de control negativ pentru ARN ISH pe BOND.

Reactivi furnizați

RNA Negative Control Probe este o probă de oligonucleotide conjugată cu fluoresceină (200 ng/ml) furnizată în soluție de hibridizare. Volum total = 5,5 ml.

Diluare și amestecare

RNA Negative Control Probe este gata de utilizare. Reconstituirea, amestecarea, diluarea sau titrarea acestui reactiv nu sunt necesare.

Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate

Consultați „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația dumneavoastră de utilizare a sistemului BOND pentru o listă completă a materialelor necesare pentru tratarea speciemenelor și colorarea prin hibridizare *in situ* utilizând sistemul BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III).

Depozitare și stabilitate

A se depozita la 2–8 °C. Produsul este stabil în aceste condiții până la data expirării indicată pe eticheta recipientului.

Nu există semne evidente care să indice contaminarea și/sau instabilitatea. Trebuie utilizate țesuturi de control adecvate, pozitive și negative, în același timp cu țesutul de test.

A se returna la 2–8 °C imediat după utilizare.

Alte condiții de depozitare decât cele specificate mai sus trebuie verificate de către utilizator¹.

Precauții

- Acest produs este destinat utilizării pentru diagnosticare *in vitro*.

RNA NEGATIVE CONTROL PROBE

Conține fomamidă (<50%) și sulfat de dextran (<30%).

GHS07: Semn de exclamare.

GHS08: Pericol pentru sănătate.

Cuvinte de avertizare: Pericol.

H360D: Poate dăuna fătului.

H315: Provoacă

iritarea pielii.

H319: Provoacă o

iritare gravă a ochilor.

P201: Procurați instrucțiuni speciale înainte de utilizare.

P202: A nu se manipula decât după ce au fost citite și înțelese toate măsurile de securitate.

P260: Evitați să inspirați praful/fumul/gazul/ceața/vaporii/pulverizarea.

P308+313: ÎN CAZ DE expunere sau de posibilă expunere: Consultați medicul.

P314: Consultați medicul, dacă nu vă simțiți bine.

P264: Spălați-vă bine mâinile după manipulare.

P280: Purtați mănuși de protecție/imbrăcăminte de protecție/ echipament de protecție a ochilor/ echipament de protecție a feței.

P305+351+338: ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: Clătiți cu atenție cu apă, timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți.

P337+313: Dacă iritarea ochilor persistă: Consultați medicul.

P302+352: ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA: Spălați cu multă apă și săpun.

P332+313: În caz de iritare a pielii: Consultați medicul.

P362+364: Scoateți îmbrăcăminte contaminată și spălați înainte de reutilizare.

Numai pentru utilizatori profesioniști.

- Pentru a obține o copie a fișei tehnice de securitate pentru material, luați legătura cu distribuitorul dvs. local sau cu biroul regional al Leica Biosystems sau, ca alternativă, vizitați site-ul web al Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

- Specimenele, înainte și după fixare, precum și toate materialele expuse la acestea, trebuie manipulate ca și când ar avea potențialul de a transmite infecții și trebuie eliminate luând măsurile de precauție adecvate². Nu pipetați niciodată reactivii cu gura și evitați contactul reactivilor și probelor cu pielea și membranele mucoase. Dacă reactivii sau probele vin în contact cu suprafețele sensibile, spălați cu apă din abundență. Solicitați asistență medicală.
- Consultați reglementările naționale, județene sau locale pentru informații privind eliminarea oricăror componente cu potențial toxic.
- Reduceți la minimum contaminarea microbiană a reactivilor, în caz contrar poate apărea o creștere a colorării nespecifice.
- Timpii sau temperaturile de recuperare, incubare care diferă de valorile specificate pot genera rezultate eronate. Orice astfel de modificare trebuie validată de către utilizator.

Instrucțiuni de utilizare

RNA Negative Control Probe a fost dezvoltată pentru utilizarea pe sistemul automat BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III) în combinație cu Anti-Fluorescein Antibody și BOND Polymer Refine Detection. Protocolul de colorație recomandat pentru RNA Negative Control Probe este ISH Protocol A. Se recomandă pretratarea enzimatică utilizând BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1, timp de 15 minute.

Trebuie utilizate întotdeauna țesuturi și reactivi de control corespunzători. Protocolul pentru țesuturile și reactivii de control trebuie să corespundă cu cel al probei de testare ARN.

Controlul calității

Diferențele în ceea ce privește procesarea țesutului și procedurile tehnice în laboratorul utilizatorului pot cauza o variabilitate semnificativă a rezultatelor, necesitând efectuarea cu regularitate de controale interne, în plus față de următoarele proceduri.

Țesutul de control pozitiv

Folosiți pentru a indica țesuturile pregătite corect și tehnicile de colorare adecvate. O probă de țesut de control pozitiv trebuie să fie inclusă pentru fiecare set de condiții de testare în fiecare etapă de colorare.

Un țesut cu colorare pozitivă slabă este mai adecvat decât un țesut cu colorare pozitivă puternică în vederea unui control optim al calității și pentru a detecta nivelurile minore de degradare a reactivului.

Țesutul de control negativ

Trebuie examinat după țesutul de control pozitiv pentru a verifica specificitatea informațiilor etichetării probei față de țintă. Ca alternativă, varietatea de tipuri diferite de celule prezente în majoritatea secțiunilor tisulare oferă frecvent locuri de control negativ, dar acest lucru trebuie verificat de către utilizator.

Reactivul de control negativ

Folosiți RNA Negative Control Probe PB0809 în locul probei de testare ARN cu o secțiune din specimenul fiecărui pacient pentru a evalua colorarea nespecifică și a permite o mai bună interpretare a colorării specifice la țintă.

Reactivul de control pozitiv

Folosiți RNA Positive Control Probe PB0785 în locul probei de testare ADN cu o secțiune din specimenul fiecărui pacient pentru a furniza informații despre conservarea acizilor nucleici în țesut precum și accesibilitatea acizilor nucleici pentru probă. Dacă RNA Positive Control Probe nu demonstrează colorația pozitivă, rezultatele obținute cu speciunile testate trebuie considerate nevalide.

Țesutul pacientului

Examinați speciunile pacientului colorate cu proba de testare ADN ultimele. Intensitatea colorării pozitive trebuie evaluată în contextul oricărei colorații de fundal nespecifice a RNA Negative Control Probe PB0809.

Rezultate așteptate

Țesuturi normale

La utilizarea PB0809 nu s-a observat vreo colorare la o varietate de țesuturi. (Numărul total al cazurilor normale evaluate = 96).

Țesuturi anormale

Using PB0809 nu a fost observată vreo colorare în tumori ovariene (0/3), tumori tiroidiene (0/3), tumori pulmonare (0/3), tumori hepatice (0/3), tumori cerebrale (0/2), tumori esofagiene (0/2), tumori mamare (0/2), tumori ale pielii (0/2), tumori metastatice de origine necunoscută (0/2), tumori gastrice (0/1), tumori de colon (0/1), tumori rectale (0/1), o tumoră a laringelui (0/1) și o tumoră a timusului (0/1) (Număr total de cazuri anormale evaluate = 29).

PB0809 este recomandată pentru a ajuta ca instrument de screening pentru evaluarea colorației unei probe de testare ARN pe un specimen al pacientului.

Restricții specifice produsului

RNA Negative Control Probe a fost optimizată la Leica Biosystems pentru utilizarea cu Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection și cu reactivii auxiliari BOND. Utilizatorii care se abat de la procedurile de testare recomandate trebuie să accepte responsabilitatea pentru interpretarea rezultatelor pacientului în aceste circumstanțe. Timpii protocolului pot varia, datorită variației în fixarea țesutului și eficacității digestiei enzimatice, și trebuie să fie determinați empiric. Atunci când se optimizează condițiile de recuperare și timpii protocolului trebuie utilizată RNA Negative Control Probe.

Rezolvarea problemelor

Referința 3 poate ajuta la acțiunile de remediere.

Contactați distribuitorul dumneavoastră local sau biroul regional al Leica Biosystems pentru raportarea colorării neobișnuite.

Informații suplimentare

Informații suplimentare referitoare la hibridizarea *in situ* cu reactivi BOND, sub titlurile Principiul procedurii, Materiale necesare, Pregătirea specimenului, Controlul calității, Verificarea analizei, Interpretarea colorării, Explicarea simbolurilor de pe etichete și Limitări generale pot fi găsite în „Utilizarea Reactivilor BOND” din documentația dumneavoastră de utilizare a sistemului BOND.

Referințe

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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.

Data publicării

25 septembrie 2018

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

Номер по каталогу: PB0809

Назначение

Этот реактив предназначен для диагностики *in vitro*.

Зонд RNA Negative Control Probe предназначен для использования в рамках определения фонового окрашивания в результате неспецифического взаимодействия в фиксированных формалином и залитых в парафин образцах тканей путем гибридизации *in situ* (ISH) с использованием автоматизированной системы BOND (включающей системы Leica BOND-MAX и Leica BOND-III).

Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями с надлежащими контролями и должна быть оценена квалифицированным патологом с учетом анамнеза пациента и других диагностических тестов.

Краткое изложение и пояснение

Зонд RNA Negative Control Probe представляет собой одиночный олигонуклеотид, изготовленный из ДНК полосатого данио и проанализированный с помощью средства поиска основного локального выравнивания (BLAST) для подтверждения того, что последовательность не гомологична ни одной последовательности человека. Зонд RNA Negative Control Probe генерируется с флуоресцеиновой меткой посредством таких же процедур, какие применяются к другим олигонуклеотидным зондам, используемым для детекции РНК в системе BOND. Следовательно, RNA Negative Control Probe идеально подходит в качестве зонда отрицательного контроля для ISH РНК в системе BOND.

Реактивы, входящие в комплект поставки

Зонд RNA Negative Control Probe представляет собой конъюгированный с флуоресцеином олигонуклеотидный зонд (200 нг/мл), поставляемый в растворе для гибридизации.

Общий объем = 5,5 мл

Разведение и смешивание

RNA Negative Control Probe готов к применению. Этот реактив не нуждается в восстановлении, смешивании, разведении или титровании.

Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

Полный список материалов, необходимых для обработки и окрашивания путем гибридизации *in situ* образцов в системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica), имеется в разделе «Применение реактивов BOND» документации пользователя системы BOND.

Хранение и стабильность

Хранить при температуре 2–8 °С. В этих условиях продукция остается стабильной до истечения срока годности, который указан на этикетке контейнера.

Не существует очевидных признаков, свидетельствующих о контаминации и/или нестабильности (реактива). Ткани, использующиеся в качестве соответствующих положительного и отрицательного контроля, следует подготавливать в то же самое время, что и исследуемые ткани.

Немедленно после применения вернуть на хранение при 2–8 °С.

Условия хранения, отличающиеся от указанных выше, должны быть верифицированы пользователем¹.

Меры предосторожности

- Этот продукт предназначен для диагностики *in vitro*.

RNA NEGATIVE CONTROL PROBE

Содержит формамид (Formamide) (<50 %) и сульфат декстрана (Dextran Sulphate) (<30 %).
GHS07: Воспламеняющий знак.
GHS08: Опасность для здоровья человека.
Сигнальное слово: Опасно.

H360D: Может нанести вред нерожденному ребенку.
H315: Вызывает раздражение кожи.
H319: Вызывает серьезное раздражение глаз.

P201: Перед использованием необходимо получить специальные указания.
P202: Не использовать до тех пор, пока не будут прочтены и приняты к сведению все указания по технике безопасности.
P260: Не вдыхайте пыль, дым, газ, туман, пары и распыления.
P308+313: В случае воздействия или обеспокоенности: обратитесь за медицинской помощью.
P314: Обратитесь за медицинской помощью/консультацией, если вы отмечаете ухудшение самочувствия.
P264: После обращения с веществом тщательно вымойте руки.
P280: Используйте защитные перчатки, защитную одежду, защиту глаз и лица.
P305+351+338: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: В течение нескольких минут тщательно промойте водой. Если вы носите контактные линзы, по возможности снимите их. Продолжайте промывать глаза водой.
P337+313: Если раздражение глаз не проходит: обратитесь за медицинской помощью.
P302+352: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промойте большим количеством воды с мылом.
P332+313: В случае возникновения раздражения кожи: обратитесь за медицинской помощью.
P362+364: Снимите загрязненную одежду и выстирайте перед повторным использованием.
Только для профессионального использования.

- Для получения копии паспорта безопасности химической продукции обратитесь к местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems либо посетите веб-сайт компании Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- С образцами (до и после фиксации) и всеми материалами, на которые они воздействуют, следует обращаться как с потенциально опасными при передаче инфекции и утилизировать, соблюдая соответствующие меры предосторожности². Никогда не набирайте реактивы в пипетку ртом. Избегайте контакта реактивов и образцов с кожей и слизистыми оболочками. В случае контакта реактивов или образцов с чувствительными зонами промойте их большим количеством воды. Обратитесь за медицинской помощью.
- По вопросам утилизации любых возможно токсических компонентов выполняйте требования федеральных, региональных или местных нормативных документов.
- Сводите к минимуму микробное загрязнение реактивов во избежание усиления неспецифического окрашивания.
- Нарушение указанных в инструкции правил демаскировки, времени инкубации и термической обработки может привести к ошибочным результатам. Любые подобные изменения должны быть валидированы пользователем.

Инструкция по применению

Зонд RNA Negative Control Probe был разработан для использования в автоматизированной системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica) в сочетании с антителами к флуоресцеину Anti-Fluorescein Antibody, системой обнаружения BOND Polymer Refine Detection и дополнительными реактивами BOND. Рекомендуемым протоколом иммуногистохимического окрашивания для RNA Negative Control Probe является ISH Protocol A. Ферментативное демаскирование рекомендуется выполнять с использованием набора предварительной обработки фермента BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 в течение 15 минут.

Всегда следует использовать ткани и реактивы, представляющие собой соответствующие контроли. Протокол, в котором применяются ткани и реактивы, являющиеся контролями, должен соответствовать тому, который проводится с использованием РНК-зонда, предназначенного для испытаний.

Контроль качества

Различия в методах обработки тканей и технических процедурах, выполняемых в лаборатории пользователя, могут привести к существенной вариабельности результатов, в связи с чем требуется регулярное выполнение внутрилабораторных контролей в дополнение к указанным ниже процедурам.

Положительный контроль ткани

Применяется для проверки правильности подготовки тканей и методов окрашивания. В каждый набор условий теста при каждом цикле окрашивания следует включать один срез ткани для положительного контроля.

Для оптимального контроля качества и обнаружения незначительных уровней деградации реактива более подходит ткань со слабым положительным окрашиванием, чем ткань с сильным положительным окрашиванием.

Отрицательный контроль ткани

Это испытание следует выполнять после исследования ткани, использующейся в качестве положительного контроля с тем, чтобы верифицировать специфичность маркирования зонда относительно цели. Кроме того, разнообразие типов клеток для отрицательного контроля можно часто найти в большинстве срезов тканей, однако такие препараты должны быть проверены пользователем.

Отрицательный контроль реактива

Для оценки неспецифического окрашивания и лучшей интерпретации специфического окрашивания целевой области при исследовании срезов каждого образца, взятого у пациента, вместо зонда для испытуемого образца РНК используйте RNA Negative Control Probe PB0809.

Реактив, представляющий собой положительный контроль

Для получения информации о сохранности нуклеиновых кислот в тканях, а также о возможности их достичь с помощью зонда при исследовании срезов каждого образца, взятого у пациента, вместо РНК-зонда, предназначенного для испытаний, используйте RNA Positive Control Probe PB0785, которая служит в качестве положительного контроля. Если RNA Positive Control Probe (РНК-зонд, использующийся в качестве положительного контроля), демонстрирует неудовлетворительные результаты с точки зрения положительного окрашивания, результаты исследования образцов следует считать недостоверными.

Ткань, полученная у пациента

Исследуйте образцы ткани, взятой у пациента и окрашенной с использованием РНК-зонда, предназначенного для испытаний, в последнюю очередь. Интенсивность положительного окрашивания следует оценивать в контексте любого неспецифического фонового окрашивания RNA Negative Control Probe PB0809 (РНК-зонда, являющегося отрицательным контролем PB0809).

Ожидаемые результаты

Нормальные ткани

При использовании PB0809 окрашивания не наблюдалось в широком диапазоне изучаемых тканей. (Общее число исследованных нормальных тканей = 96).

Патологически измененные ткани

При использовании PB0809 не наблюдалось окрашивания опухолей яичников (0/3), опухолей щитовидной железы (0/3), опухолей легких (0/3), опухолей печени (0/3), опухолей мозга (0/2), опухолей пищевода (0/2), опухолей молочной железы (0/2), опухолей кожи (0/2), метастатических опухолей неизвестного происхождения (0/2), опухолей желудка (0/1), опухолей толстого кишечника (0/1), опухолей прямой кишки (0/1), опухолей гортани (0/1) и опухоли вилочковой железы (0/1) (общее число исследованных патологически измененных образцов = 29).

PB0809 рекомендован в качестве скринингового инструмента для оценки окрашивания зонда для испытуемого образца РНК в образце пациента.

Ограничения, специфичные для этого продукта

Зонд RNA Negative Control Probe оптимизирован компанией Leica Biosystems для применения с реактивами Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection и дополнительными реактивами BOND. Пользователи, отклоняющиеся от рекомендованных процедур анализа, должны брать на себя ответственность за интерпретацию результатов исследований пациентов, выполненных в таких условиях. Продолжительность выполнения протокола может варьировать в зависимости от варианта фиксации тканей и эффективности ферментативного расщепления и должна определяться эмпирически. В процессе оптимизации условий демаскирования антигенов и продолжительности выполнения протокола должен использоваться RNA Negative Control Probe (РНК-зонд, выполняющий функции отрицательного контроля).

Поиск и устранение неполадок

Источник (3) может помочь в принятии мер по устранению неполадок.

Обратитесь к местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems, если в ходе работы регистрируется необычное окрашивание (ткани, образца).

Дополнительная информация

Дополнительная информация, касающаяся проведения гибридизации *in situ* с использованием реактивов BOND, содержится в рубриках «Принцип метода», «Необходимые материалы», «Подготовка образцов», «Контроль качества», «Проверка достоверности анализа», «Интерпретация окрашивания», «Значения символов в маркировке продукции» и «Общие ограничения» раздела «Применение реактивов BOND» в документации пользователя системы BOND.

Список источников

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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.

Дата выпуска

25 Сентябрь 2018

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

Nr katalogowy: PB0809

Przeznaczenie

Ten odczynnik jest przeznaczony do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Preparat RNA Negative Control Probe jest przeznaczony do barwienia tła wynikającego z niespecyficznego oddziaływań w utrwalonej formaliną tkance zatopionej w parafinie przez hybrydyzację *in situ* (ISH) przy użyciu automatycznego systemu BOND (w tym systemów Leica BOND-MAX i Leica BOND-III).

Kliniczną interpretację wybarwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocena powinna przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

Podsumowanie i objaśnienie

RNA Negative Control Probe to pojedynczy oligonukleotyd sporządzony z DNA dania pręgowanego i analizowana przy pomocy Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) w celu potwierdzenia, że sekwencja nie wykazuje homologii z żadnymi ludzkimi sekwencjami. RNA Negative Control Probe generuje się za pomocą znakowania fluoresceiną, stosując takie same procedury, jak w przypadku sond oligonukleotydowych stosowanych do wykrywania RNA w systemach BOND. W związku z tym RNA Negative Control Probe to idealna sonda kontroli negatywnej dla RNA ISH w systemie BOND.

Odczynniki znajdujące się w zestawie

Preparat RNA Negative Control Probe to skoniugowana z fluoresceiną sonda oligonukleotydowa (200 ng/ml) dostarczana w roztworze do hybrydyzacji.

Łączna objętość = 5,5 ml

Rozcieńczanie i mieszanie.

Preparat RNA Negative Control Probe jest gotowy do użycia. W przypadku tego odczynnika nie jest konieczne dodawanie wody, mieszanie, rozcieńczanie ani miareczkowanie.

Wymagane materiały niedołączone do zestawu

Aby uzyskać pełną listę materiałów potrzebnych do przygotowania próbek i barwienia immunohistochemicznego *in situ* za pomocą systemu BOND (w tym systemów Leica BOND-MAX i Leica BOND-III) zob. „Korzystanie z odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika BOND.

Przechowywanie i trwałość

Przechowywać w temperaturze 2-8°C. Produkt jest stabilny w tych warunkach od upływu daty ważności podanej na etykiecie pojemnika.

Nie istnieją żadne widoczne oznaki skażenia i/lub niestabilności. Odpowiednie pozytywne i negatywne kontrole tkankowe należy przeprowadzać w tym samym czasie co badanie tkanki.

Niezwłocznie po użyciu ponownie umieścić w temperaturze 2-8°C.

Przechowywanie w warunkach innych od wskazanych powyżej wymaga weryfikacji użytkownika.

Środki ostrożności

- Test jest przeznaczony do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

RNA NEGATIVE CONTROL PROBE

Zawiera formamid (<50%) i siarczan dekstranu (<30%).

GHS07: Wykrzykownik.

GHS08: Zagrożenie dla zdrowia.

Słowa sygnalizujące:

Niebezpieczeństwo.

H360D: Może działać

szkodliwie na dziecko

w łonie matki

H315: Działa

drażniąco na skórę.

H319: Działa

drażniąco na oczy.

P201: Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi środkami ostrożności.

P202: Nie używać przed zapoznaniem się i zrozumieniem wszystkich środków bezpieczeństwa.

P260: Nie wdychać pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy.
P308+313: W PRZYPADKU narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady lekarza.

P314: W przypadku złego samopoczucia należy zasięgnąć porady lekarza.

P264: Dokładnie umyć ręce po użyciu.

P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.

P305+351+338: W PRZYPADKU KONTAKTU Z OCZAMI:

Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

P337+313: W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady lekarza.

P302+352: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Przemyć dużą ilością wody z mydłem.

P332+313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry: Zasięgnąć porady lekarza.

P362+364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem.

Wyłącznie do użytku zawodowego.

- Aby otrzymać egzemplarz karty charakterystyki, należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub regionalnym biurem Leica Biosystems, lub odwiedzić stronę internetową, www.LeicaBiosystems.com.
- Z próbkami przed utwaleniem i po utwaleniu, jak również ze wszystkimi materiałami, które mają z nimi styczność, należy obchodzić się tak, jak z materiałami potencjalnie zakaźnymi i należy je utylizować, zachowując odpowiednie środki ostrożności.⁷ Podczas pobierania pipetą nie wolno zasysać odczynników ustami i należy unikać kontaktu odczynników i preparatów ze skórą oraz błonami śluzowymi. W razie kontaktu odczynników lub próbek ze szczególnie narażonymi miejscami przemyć miejsce kontaktu dużą ilością wody. Należy zasięgnąć porady lekarza.
- Wszelkie potencjalnie toksyczne składniki należy utylizować zgodnie z krajowymi lub lokalnymi przepisami.
- Chronić odczynniki przed skażeniem drobnoustrojami, ponieważ może ono doprowadzić do zwiększonego barwienia niespecyficznego.
- Zastosowanie czasów odzyskiwania, inkubacji lub temperatur innych niż podano w instrukcji może spowodować błędne wyniki. Wszelkie zmiany tego typu muszą zostać zweryfikowane przez użytkownika.

Instrukcja stosowania

Preparat RNA Negative Control Probe został opracowany z myślą o zastosowaniu w automatycznym systemie BOND (obejmującym systemy Leica BOND-MAX i Leica BOND-III system) w połączeniu z Anti-Fluorescein Antibody oraz BOND Polymer Refine Detection i pomocniczymi odczynnikami BOND. Zalecany protokół barwienia dla RNA Negative Control Probe to ISH Protocol A. Zalecane jest odmaskowywanie enzymu przy użyciu zestawu BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 przez 15 minut.

Zawsze należy stosować odpowiednie kontrole tkanek i odczynników. Protokół kontroli tkanek i odczynników powinien odpowiadać protokołowi z sondy do badań RNA.

Kontrola jakości

Różnice w przetwarzaniu tkanek i procedurach technicznych w laboratorium użytkownika mogą doprowadzić do znacznej zmienności wyników, co oznacza konieczność dodatkowego przeprowadzania regularnych kontroli wewnętrznych.

Tkankowa kontrola pozytywna

Stosowana w celu wskazania prawidłowo przygotowanych tkanek i prawidłowych technik barwienia. W każdej serii barwienia każdy zestaw warunków testowych powinien uwzględniać jedną tkankową kontrolę pozytywną.

Do optymalnej kontroli jakości i do wykrywania niewielkich poziomów degradacji odczynników bardziej nadaje się tkanka o słabym barwieniu pozytywnym niż tkanka o silnym barwieniu pozytywnym.

Tkankowa kontrola negatywna

Należy ją wykonać po tkankowej kontroli pozytywnej, aby sprawdzić swoistość znakowania docelowej substancji przez sondę. Eventualnie tkankowa kontrola negatywna może obejmować różne typy komórek obecne w większości skrawków tkankowych, jednak powinno to zostać zweryfikowane przez użytkownika.

Negatywna kontrola odczynnika

Aby przeprowadzić ocenę barwienia niespecyficznego oraz umożliwić lepszą interpretację barwienia specyficznego należy użyć RNA Negative Control Probe PB0809 zamiast sondy RNA na każdym skrawku z próbki pobranej od pacjenta.

Pozytywna kontrola odczynnika

Aby uzyskać informacje o zachowaniu kwasów nukleinowych w tkance, a także o możliwości znakowania kwasów nukleinowych przez sondę, należy użyć RNA Positive Control Probe PB0785 zamiast sondy RNA na każdym skrawku z próbki pobranej od pacjenta. Jeśli RNA Positive Control Probe nie wykaże odpowiedniego pozytywnego barwienia, wyniki testu przeprowadzonego na próbkach pobranych od pacjenta należy uznać za nieważne.

Tkanka pacjenta

Próbki pacjenta barwione sondą RNA należy badać jako ostatnie. Intensywność barwienia pozytywnego należy oceniać w kontekście ewentualnego niespecyficznego barwienia tła w RNA Negative Control Probe PB0809.

Oczekiwane wyniki

Tkanki prawidłowe

Przy zastosowaniu PB0809 w wielu tkankach nie stwierdzono barwienia. (Łączna liczba ocenionych prawidłowych przypadków = 96).

Tkanki patologiczne

Używając PB0809 nie obserwowano barwienia w guzach jajnika (0/3), guzach tarczycy (0/3), guzach płuc (0/3), guzach wątroby (0/3), guzach mózgu (0/2), guzach przełyku (0/2), guzach sutka (0/2), rakach skóry (0/2), guzach przerzutowych o nieznanym pochodzeniu (0/2), guzach żołądka (0/1), guzach okrężnicy (0/1), guzie odbyticy (0/1), guzie krtani (0/1) i guzie grasicy (0/1) (całkowita liczba ocenionych przypadków patologicznych = 29).

Zaleca się stosowanie preparatu PB0809 jako narzędzia przesiewowego do oceny barwienia sondy RNA na próbce pobranej od pacjenta.

Szczegółne ograniczenia dla produktu

Preparat RNA Negative Control Probe został zoptymalizowany w Leica Biosystems pod kątem stosowania z Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection i pomocniczymi odczynnikami BOND. W tych okolicznościach użytkownicy, którzy postępują niezgodnie z zalecanymi procedurami testowymi muszą wziąć odpowiedzialność za interpretację wyników chorego. Czasy protokołu mogą być różne w związku ze zróżnicowaniem w zakresie utwalenia tkanek i skuteczności trawienia enzymatycznego - należy je określić doświadczalnie. Podczas optymalizacji warunków odmaskowywania i czasów protokołu należy stosować RNA Negative Control Probe.

Rozwiązywanie problemów

Oдноśnik 3 może być pomocny w podejmowaniu działań zaradczych.

W celu zgłoszenia nietypowego barwienia należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub z regionalnym biurem firmy Leica Biosystems.

Dodatkowe informacje

Dodatkowe informacje dotyczące hybrydyzacji *in situ* przy użyciu odczynników BOND opisanej w rozdziałach „Zasady postępowania”, „Wymagane materiały”, „Przygotowanie próbek”, „Kontrola jakości”, „Weryfikacja testu”, „Interpretacja barwienia”, „Objaśnienie symboli na etykietach” i „Ograniczenia ogólne” można znaleźć w rozdziale „Stosowanie odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika systemu BOND.

Literatura

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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.

Data publikacji

25 września 2018

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

Katalogška št.: PB0809

Predvidena uporaba

Ta reagent je namenjen diagnostični uporabi *in vitro*.

Sonda RNA Negative Control Probe je namenjena uporabi pri identifikaciji obarvanja ozadja, ki je posledica nespecifičnih interakcij v tkivu, fiksiranem s formalinom in vstavljenem v parafin, s hibridizacijo (ISH) *in situ* z uporabo avtomatiziranega sistema BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III).

Klinično razlago kakršnega koli obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopolnjevati morfološke študije in ustrezni kontrolni vzorci, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

Povzetek in razlaga

Sonda RNA Negative Control Probe je enojni oligonukleotid, pripravljen iz DNA cebrice, ki se analizira z uporabo analize Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) za potrditev, da zaporedje nima homologije z nobenim humanim zaporedjem. Sonda RNA Negative Control Probe je pripravljena s fluoresceinsko oznako z uporabo enakega postopka kot pri oligonukleotidnih sondah, ki se uporabljajo za zaznavanje RNA v sistemu BOND. Iz tega razloga je sonda RNA Negative Control Probe idealna sonda negativne kontrole za ISH RNA v sistemu BOND.

Priloženi reagenti

Sonda RNA Negative Control Probe je fluorescein-konjugirana oligonukleotidna sonda (200 ng/ml), ki jo dobimo v raztopini hibridizacije. Skupna prostornina = 5,5 ml.

Redčenje in mešanje

Sonda RNA Negative Control Probe je pripravljena za uporabo. Rekonstitucija, mešanje, redčenje ali titracija tega reagenta niso potrebni.

Potrebni materiali, ki niso priloženi

Glejte »Uporaba reagentov BOND« v priloženi dokumentaciji BOND za uporabnika za popoln seznam materialov, ki so potrebni za obdelavo vzorcev in barvanje s hibridizacijo *in situ* pri uporabi sistema BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III).

Shranjevanje in stabilnost

Hraniti pri temperaturi 2–8 °C. Izdelek je stabilen pod temi pogoji do datuma izteka roka uporabnosti, ki je naveden na oznaki vsebnika.

Ni očitnih znakov, ki bi kazali na kontaminacijo in/ali nestabilnost. Primerno pozitivno in negativno kontrolno tkiva morate obdelati hkrati s testnim vzorcem tkiva.

Takoj po uporabi ohladite na temperaturo 2–8 °C.

Uporabnik mora potrditi ustreznost pogojev shranjevanja, če se ti razlikujejo od zgoraj navedenih¹.

Previdnosti ukrepi

• Ta izdelek je namenjen za diagnostično uporabo *in vitro*.

RNA NEGATIVE CONTROL PROBE

Vsebuje formamid (< 50 %) in dekstranov sulfat (< 30 %).

GHS07: Klicaj.

GHS08: Nevarno za zdravje.

Signalne besede: Nevarno.

H360D: Lahko škoduje

nerojnemu otroku.

H315: Povzroča

draženje kože.

H319: Povzroča hudo

draženje oči.

P201: Pred uporabo pridobiti posebna navodila.

P202: Ne uporabljajte, dokler se ne seznanite z vsemi varnostnimi ukrepi.

P260: Ne vdihavati prahu/dima/plina/meglence/hlapov/razpršila.

P308+313: PRI izpostavljenosti ali sumu izpostavljenosti: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.

P314: Ob slabem počutju poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.

P264: Po uporabi temeljito umiti roke.

P280: Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za oči/zaščito za obraz.

P305+351+338: PRI STIKU Z OČMI: Previdno izpirati z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem.

P337+313: Če draženje oči ne preneha: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.

P302+352: PRI STIKU S KOŽO: Umiti z veliko mila in vode.

P332+313: Če nastopi draženje kože: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.

P362+364: Sledi kontaminirana oblačila in jih oprati pred ponovno uporabo.

Omejeno na strokovne uporabnike.

• Kopijo varnostnega lista lahko dobite pri lokalnem distributerju ali regionalni pisarni družbe Leica Biosystems ali na spletnem mestu www.LeicaBiosystems.com.

• Z vzorci, pred fiksiranjem in po njem, in vsemi materiali, s katerimi so prišli v stik, morate rokovati, kot da bi lahko prenašali okužbe, in pri njihovem odstranjevanju upoštevati ustrezne previdnostne ukrepe.² Nikoli ne pipetirajte reagentov skozi usta; pazite, da reagenti in vzorci ne pridejo v stik s kožo ali sluznicami. Če reagenti ali vzorci pridejo v stik z občutljivimi deli, jih izperite z obilo vode. Poiščite zdravniško pomoč.

- Sledite zveznim, državnim ali lokalnim predpisom za odstranjevanje katerih koli morebitno strupenih sestavin.
- Pazite, da ne pride do mikrobné okužbe reagentov, saj lahko povzroči nespecifično barvanje.
- Če uporabite čas ali temperature razkrivanja in inkubacije, ki se razlikujejo od navedenih, lahko pridobite napačne rezultate. Uporabnik mora validirati morebitne spremembe.

Navodila za uporabo

Sonda RNA Negative Control Probe je bila razvita za uporabo na avtomatiziranem sistemu BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III) skupaj s sistemoma Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection in pomožnimi reagenti BOND. Priporočeni protokol za barvanje za sondo RNA Negative Control Probe je ISH Protocol A. Priporočeni način pridobivanja encimov je z uporabo BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 za 15 minut.

Vedno morate uporabljati ustrezne kontrolna tkiva in reagente. Protokol za kontrolna tkiva in kontrolne reagente mora biti primeren za test s sondo RNA.

Kontrola kakovosti

Razlike pri obdelavi tkiva in tehničnih postopkih v laboratoriju uporabnika lahko vodijo do precejšnje variabilnosti rezultatov, kar zahteva redne interne kontrole učinkovitosti poleg spodaj navedenih postopkov.

Positivni kontrolni vzorci tkiva

Uporabite jih za opredelitev pravilno pripravljenih tkiv in ustreznih tehnik barvanja. Pri vsakem postopku barvanja morate vsakemu sklopu preizkusnih pogojev dodati en pozitiven kontrolni vzorec tkiva.

Za najboljšo kontrolo kakovosti in zaznavanje manjših ravni razpadanja reagentov je tkivo s šibkim pozitivnim obarvanjem bolj primerno kot tkivo z močnim pozitivnim obarvanjem.

Negativni kontrolni vzorci tkiva

Pregledati jih morate po pregledu pozitivnih kontrolnih vzorcev tkiva, da preverite specifičnost označevanja tarče s sondo. Drugače pa se kot negativni kontrolni vzorci pogosto uporablja vrsta različnih celic, ki so prisotne v večini rezin tkiv, vendar pa mora tako uporabo preveriti uporabnik.

Negativni kontrolni reagent

Za oceno nespecifičnega obarvanja in boljšo razlago specifičnega obarvanja uporabite kontrolni reagent RNA Negative Control Probe PB0809 namesto testne sonde RNA z eno rezino vsakega vzorca bolnika.

Positivni kontrolni reagent

Da preverite ohranjenost nukleinskih kislin v tkivu ter dostopnost nukleinskih kislin sondi, uporabite kontrolni reagent RNA Positive Control Probe PB0785 namesto testne sonde RNA z eno rezino vsakega vzorca bolnika. Če sonda RNA Positive Control Probe ne kaže pozitivnega obarvanja, morate rezultate vzorcev šteti za neveljavne.

Bolnikovo tkivo

Nazadnje preglejte bolnikove vzorce, obarvane s testno sondo RNA. Intenzivnost pozitivnega obarvanja morate oceniti v kontekstu morebitnega nespecifičnega obarvanja ozadja v kontrolnem vzorcu z izdelkom RNA Negative Control Probe PB0809.

Pričakovani rezultati

Normalna tkiva

Z izdelkom PB0809 niso opazili obarvanja številnih drugih tkiv. (Skupno število ocenjenih normalnih primerov = 96).

Nenormalna tkiva

Pri uporabi PB0809 niso opazili obarvanja pri tumorjih jajčnikov (0/3), tumorjih ščitnice (0/3), pljučnih tumorjih (0/3), tumorjih na jetrih (0/3), možganskih tumorjih (0/2), ezofagealnih tumorjih (0/2), tumorjih na dojkah (0/2), kožnih tumorjih (0/2), metastatskih tumorjih neznanega izvora (0/2), želodčnih tumorjih (0/1), tumorjih kolona (0/1), rektalnih tumorjih (0/1), tumorju grla (0/1) in tumorju priželjca (0/1) (Skupno število ocenjenih nenormalnih primerov = 29).

PB0809 se priporoča kot orodje presejanja za oceno barvanja pri testu s sondo RNA na bolnikovem vzorcu.

Specifične omejitve izdelka

Družba Leica Biosystems je sondo RNA Negative Control Probe optimizirala za uporabo s Anti-Fluorescein Antibody, s sistemom BOND Polymer Refine Detection in pomožnimi reagenti BOND. Uporabniki, ki odstopijo od priporočenih preizkusnih postopkov, morajo prevzeti odgovornost za razlago bolnikovih rezultatov pod temi pogoji. Trajanje protokola se lahko spreminja zaradi sprememb pri fiksaciji tkiva in učinkovitosti encimske razgradnje, zato ga je treba določiti empirično. Pri optimizaciji pogojev pridobivanja in trajanja protokola morate uporabiti izdelek RNA Negative Control Probe.

Odravljanje težav

Referenca 3 lahko pomaga pri ukrepanju za odpravljanju napake.

Če želite poročati o nenavadnem obarvanju, se obrnite na svojega lokalnega distributerja ali regionalno pisarno družbe Leica Biosystems.

Dodatne informacije

Dodatne informacije o hibridizaciji *in situ* z reagenti BOND so na voljo v priloženi dokumentaciji za uporabnika »Uporaba reagentov BOND« v poglavjih Načelo postopka, Potrebni materiali, Priprava vzorcev, Kontrola kakovosti, Verifikacija testa, Razlaga obarvanja, Legenda simbolov na oznakah in Splošne omejitve.

Viri

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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.

Datum izdaje

25 september 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH RNA Negative Control Probe

Kat. č.: PB0809

Zamýšlené použití

Tato reagenzie je určena k diagnostickému použití *in vitro*.

Kontrola RNA Negative Control je určena k použití při stanovení barvení pozadí vznikajícího při nespecifických interakcích ve tkáni fixované formalinem a zalité v parafínu hybridizací *in situ* (ISH) pomocí automatického systému BOND (včetně systému Leica BOND-MAX a Leica BOND-III system).

Klinickou interpretaci jakéhokoliv barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfologickým vyšetřením s použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

Souhrn a vysvětlení

Sonda RNA Negative Control Probe je jediný oligonukleotid získaný z DNA zebříčky a analyzovaný metodou Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) k doložení, že tato sekvence neobsahuje žádnou homologii s lidskými sekvencemi. Sonda RNA Negative Control Probe je značená fluoresceinem za použití stejného postupu, jakým se připravují další oligonukleotidové sondy používané k detekci RNA v systémech BOND. Proto je sonda RNA Negative Control Probe ideální negativní kontrolní sondou při RNA ISH na systému BOND.

Dodávané reagenzie

Sonda RNA Negative Control Probe je fluorescein-konjugovaná oligonukleotidová sonda (200 ng/ml) dodávaná v hybridizačním roztoku. Celkový objem = 5,5 ml

Ředění a míchání

Sonda RNA Negative Control Probe je připravena k použití. Rekonstituce, míchání, ředění ani titrace této reagenzie nejsou nutné.

Potřebný materiál, který není součástí dodávky

Úplný seznam materiálů potřebných ke zpracování vzorku a k barvení místa hybridizace *in situ* pomocí systému BOND (včetně systému Leica BOND-MAX a Leica BOND-III system) je uveden v bodě „Použití reagenzií BOND“ v uživatelské dokumentaci BOND.

Skladování a stabilita

Uchovávejte při teplotě 2–8 °C. Produkt je za těchto podmínek stabilní až o datum expirace uvedeného na štítku nádoby.

Neexistují zjevné známky indikující kontaminaci anebo nestabilitu. Současně s vyšetřovanou tkání je třeba provést i hodnocení příslušné pozitivní a negativní tkáňové kontroly.

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

Podmínky skladování jiné než výše uvedené musí uživatel¹ validovat.

Bezpečnostní opatření

- Tento produkt je určen pouze pro diagnostické použití *in vitro*.

SONDA RNA NEGATIVE CONTROL PROBE

Obsahuje formamid (< 50 %) a dextran sulfát (< 30 %).
GHS07: Vykřičník.
GHS08: Ohrožení zdraví.
Signální slova: Nebezpečí.

H360D: Může poškodit plod v těle matky.
H315: Dráždí kůži.
H319: Způsobuje vážné podráždění očí.

P201: Před použitím si obstarejte speciální instrukce.
P202: Nepoužívejte, dokud jste si nepřečetli všechny bezpečnostní pokyny a neporozuměli jim.
P260: Nevdechujte prach/dým/plyn/mlh/páru/aerosoly.
P308+313: PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhleďte lékařskou pomoc/ošetření.
P314: Necítíte-li se dobře, vyhleďte lékařskou pomoc/ošetření.
P264: Po manipulaci si důkladně omyjte ruce.
P280: Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.
P305+351+338: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně oplachujte vodou. Vyměňte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.
P337+313: Přetrvává-li podráždění očí: Vyhleďte lékařskou pomoc/ošetření.
P302+352: PŘI STYKU S KÚŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody a mýdla.
P332+313: Při podráždění kůže: Vyhleďte lékařskou pomoc/ošetření.
P362+364: Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte.
Omezeno na profesionální uživatele.

- Výtisk bezpečnostního listu materiálu získáte od místního distributora nebo oblastní kanceláře společnosti Leica Biosystems, nebo můžete navštívit webové stránky Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Se vzorky, před fixací i po fixaci, a se všemi materiály, které s nimi přišly do kontaktu, je nutno zacházet, jako by mohly přenášet infekci, a zlikvidovat je s použitím příslušných bezpečnostních opatření¹. Nikdy reagenzie nepipetujte ústy a zabraňte kontaktu reagenzií a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagenzie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody. Vyhleďte lékařskou pomoc.
- Údaje o likvidaci jakýchkoli potenciálně toxických komponent prostudujte ve federálních, státních nebo místních nařízeních.

- Minimalizujte mikrobiální kontaminaci reagensií, mohlo by dojít ke zvýšení výskytu nespecifického barvení.
- Získávání, inkubační doby nebo teploty jiné než specifikované mohou vést k chybným výsledkům. Všechny takové změny musí být uživatelem validovány.

Návod k použití

Sonda RNA Negative Control Probe byla vyvinuta k použití v automatickém systému BOND (včetně systému Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) v kombinaci s Anti-Fluorescein Antibody, soupravou BOND Polymer Refine Detection a pomocnými reagensii BOND. Protokol doporučeného barvení pro sondu RNA Negative Control Probe je ISH Protocol A. Odmaskování enzymu je doporučeno za použití soupravy BOND Enzyme Pre-treatment Kit, Enzyme 1 na 15 minut.

Vždy se musí použít příslušné tkáňové a reagenční kontroly. Protokol tkáňové a reagenční kontroly musí odpovídat kontrolám RNA testovací sondy.

Kontrola jakosti

Rozdíly ve zpracování tkání a v technických postupech v laboratoři uživatele mohou způsobit významnou variabilitu výsledků, což vyžaduje kromě níže uvedených postupů i pravidelné provádění kontrol v laboratoři.

Pozitivní tkáňová kontrola

Používá se k průkazu správně připravených tkání a správných barvicích technik. V každém barvicím cyklu musí být použita jedna pozitivní tkáňová kontrola pro každý soubor testovacích podmínek.

Pro optimální kontrolu jakosti a k detekci menšího stupně degradace reagenzie je vhodnější tkáň se slabým pozitivním barvením než tkáň se silným pozitivním barvením.

Negativní tkáňová kontrola

Musi být vyšetřena po pozitivní tkáňové kontrole k ověření specifity označení sondy podle cílové tkáně. Alternativně často představuje místa negativní kontroly řada různých typů buněk přítomných ve většině tkáňových řezů, to ale musí uživatel validovat.

Negativní reagenční kontrola

K vyhodnocení nespecifického barvení a umožnění lepší interpretace specifického barvení cílové tkáně použijte na řezu z každého vzorku

pacienta kontrolu RNA Negative Control Probe PB0809 namísto testovací sondy RNA.

Pozitivní reagenční kontrola

K získání informací o konzervaci nukleových kyselin ve tkáni a přístupnosti nukleových kyselin pro sondu použijte na řezu z každého vzorku pacienta kontrolu RNA Positive Control Probe PB0785 namísto testovací sondy RNA. Pokud sonda RNA Positive Control Probe nevykazuje pozitivní barvení, musí být výsledky testovaných vzorků považovány za neplatné.

Tkáň pacienta

Nakonec vyšetřete vzorky pacienta barvené pomocí RNA testovací sondy. Intenzita pozitivního barvení musí být zhodnocena v kontextu se vším nespecifickým barvením pozadí u sondy RNA Negative Control Probe PB0809.

Očekávané výsledky

Normální tkáně

Při použití PB0809 nebylo barvení pozorováno u mnoha různých tkání. (Celkový počet normálních vyšetřovaných tkání = 96).

Abnormální tkáně

Při použití sondy PB0809 nebylo pozorováno žádné barvení u vzorků nádoru ovarii (0/3), nádoru štítné žlázy (0/3), nádoru plic (0/3), nádoru jater (0/3), nádoru mozku (0/2), nádoru jícnu (0/2), nádoru prsu (0/2), nádoru kůže (0/2), metastatických nádorů neznámého původu (0/2), nádoru žaludku (0/1), nádoru tlustého střeva (0/1), nádoru rekta (0/1), nádoru hrtanu (0/1) a nádoru thymu (0/1). (Celkový počet vyšetřovaných abnormálních případů = 29).

Sonda PB0809 se používá jako screeningový nástroj k vyhodnocení barvení RNA testovací sondy ve vzorku pacienta.

Omezení specifická pro tento produkt

Sonda RNA Negative Control Probe byla společností Leica Biosystems optimalizována pro použití s Anti-Fluorescein Antibody, soupravou BOND Polymer Refine Detection a s pomocnými reagensii BOND. Uživatelé, kteří se při vyšetření odchýlí od doporučeného postupu, musí za těchto okolností přijmout odpovědnost za interpretaci výsledků u pacienta. Doby uvedené v protokolu se mohou lišit v důsledku odchylek při fixaci tkání a účinnosti enzymatické digesce a musí být stanoveny empiricky. Při optimalizaci podmínek při získávání a dob v protokolu musí být použita sonda RNA Negative Control Probe.

Řešení problémů

Odkaz 3 může napomoci při provádění nápravných opatření.

S hlášením neobvyklého barvení kontaktujte místního distributora nebo oblastní kancelář společnosti Leica Biosystems.

Další informace

Další informace o hybridizaci *in situ* reagensii BOND naleznete pod názvy Princip metody, Potřebné materiály, Příprava vzorku, Kontrola kvality, Ověření testů, Interpretace barvení, Vysvětlení symbolů na štítcích a Obecná omezení v uživatelské dokumentaci BOND, v bodě „Použití reagensií BOND“.

Literatura

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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.

Datum vydání

25 září 2018

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

Katalógové č.: PB0809

Zamýšľané použitie

Toto činidlo je určené na diagnostické použitie *in vitro*.

Sonda RNA Negative Control Probe je určená na identifikáciu zafarbenia pozadia vyplývajúceho z nešpecifických interakcií v tkanive zaliatom v parafíne a fixovanom formalínom prostredníctvom hybridizácie *in situ* (ISH) použitím automatizovaného systému BOND (vrátane systému Leica BOND-MAX a Leica BOND-III).

Klinická interpretácia akéhokoľvek zafarbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými vyšetreniami a zodpovedajúcimi kontrolami. Výsledky je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a ďalších diagnostických testov vedených kvalifikovaným patológom.

Zhrnutie a vysvetlenie

Sonda RNA Negative Control Probe je jednoduchý oligonukleotid, vytvorená z DNA pruhovaného dániou a analyzovaná použitím analýzy pomocou nástroja Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), aby sa potvrdilo, že sekvencia nie je podobná žiadnym ľudským sekvenciám. Sonda RNA Negative Control Probe je vygenerovaná s označením fluoresceínu pomocou rovnakej procedúry aká sa používa pri iných oligonukleotidových sondách používaných pri detekcii RNA v BOND. V dôsledku toho je sonda RNA Negative Control Probe ideálna ako negatívna kontrolná sonda pri RNA ISH v BOND.

Dodané činidlá

Sonda RNA Negative Control Probe je oligonukleotidová sonda konjugovaná s fluoresceínom (200 ng/ml) dodávaná v hybridizačnom roztoku.

Celkový objem = 5,5 ml

Riedenie a miešanie

RNA Negative Control Probe je pripravená na použitie. Rekonštitúcia, miešanie, nedeňenie ani titrácia tohto činidla nie sú potrebné.

Potrebný nedodaný materiál

Úplný zoznam materiálov potrebných na spracovanie vzorky a zafarbenie pri hybridizácii *in situ* pomocou systému BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) si pozrite v časti „Používanie činidiel BOND“ v používateľskej dokumentácii k systému BOND.

Ukladanie a stabilita

Skladujte pri teplote 2 – 8 °C. Za týchto podmienok sú všetky komponenty stabilné až do dátumu expirácie, ktorý sa uvádza na štítku zásobníka.

Neexistujú žiadne evidentné známky signalizujúce kontamináciu a/alebo nestabilitu. Súčasne s testovaným tkanivom treba analyzovať aj kontroly s pozitívnym aj negatívnym tkanivom.

Okamžite po použití vráťte do prostredia s teplotou 2 – 8 °C.

Iné než vyššie uvedené podmienky skladovania si vyžadujú validáciu používateľom¹.

Bezpečnostné opatrenia

- Tento produkt je určený na diagnostické použitie *in vitro*.

RNA NEGATIVE CONTROL PROBE

Obsahuje formamid (<50 %) a dextrán sulfát (<30 %).

GHS07: Výkričník.

GHS08: Nebezpečný pre zdravie.

Signálne slová: Nebezpečenstvo.

H360D: Môže poškodiť nenarodené dieťa.
H315: Dráždi kožu.
H319: Spôsobuje vážne podráždenie očí.

P201: Pred použitím sa oboznámte s osobitnými pokynmi.

P202: Nepoužívajte, kým si neprečítate a nepochopíte všetky bezpečnostné opatrenia.

P260: Nevdychujte prach/dym/plyn/hmlu/pary/aerosóly.

P308+313: Po expozícii alebo podozrení z nej: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

P314: Ak pociťujete zdravotné problémy, vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

P264: Po manipulácii si dôkladne umyte ruky.

P280: Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre.

P305+351+338: PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Opatrne niekoľko minút oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.

P337+313: Ak podráždenie očí pretrváva: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

P302+352: PRI KONTAKTE S POKOŽKOU: Umyte veľkým množstvom mydla a vodou.

P332+313: Ak sa prejaví podráždenie pokožky: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

P362+364: Kontaminovaný odev vyzlečte a pred opätovným použitím vyperte.

Určené iba pre odborníkov.

- Kartu bezpečnostných údajov materiálov vám poskytne miestny distribútor alebo regionálna pobočka spoločnosti Leica Biosystems, prípadne navštívte webovú lokalitu spoločnosti Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com.

- So vzorkami pred fixáciou a po nej a všetkými materiálmi, ktoré s nimi prišli do kontaktu, je nutné manipulovať ako s potenciálne infekčnými a zlikvidovať ich pri dodržaní zodpovedajúcich bezpečnostných opatrení². Činidlá nikdy nepipetujte ústami a zabráňte kontaktu činidiel a vzoriek s kožou a sliznicami. Ak sa činidlá alebo vzorky dostanú do kontaktu s citlivými oblasťami, umyte ich veľkým množstvom vody. Vyhľadajte lekársku pomoc.
- Likvidáciu prípadných potenciálne toxických súčastí definujú federálne, štátne alebo miestne predpisy.
- Minimalizujte mikrobiálnu kontamináciu činidiel. V opačnom prípade môže dôjsť k zvýšeniu nešpecifického zafarbenia.
- Nedodržanie predpísaných dôb záchytu, inkubačných dôb alebo teplôt môže viesť k nesprávnym výsledkom. Všetky takéto zmeny si vyžadujú validáciu používateľom.

Návod na použitie

Sonda RNA Negative Control Probe bola vytvorená na použitie v automatizovanom systéme BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) v kombinácii s Anti-Fluorescein Antibody, systémom BOND Polymer Refine Detection a pomocnými činidlami BOND. Odporúčany protokol farbenia pre sondu RNA Negative Control Probe je ISH Protocol A. Na vyhľadávanie enzýmov sa odporúča použiť súpravu BOND Enzyme Pre-treatment Kit, Enzyme 1, po dobu 15 minút.

Vždy sa musia používať vhodné kontroly tkanivom a činidlom. Protokol pre kontroly tkanivom a činidlom musí zodpovedať protokolu pre testovaciu sondu RNA.

Kontrola kvality

Rozdiely v spracovaní tkaniva a technických postupoch v laboratóriu používateľa môžu viesť k významnému kolísaniu výsledkov, čo si vyžaduje, okrem nasledujúcich postupov, aj pravidelné interné kontroly.

Pozitívna kontrola tkanivom

Identifikuje správne pripravené tkanivá a správne techniky zafarbenia. Každá súprava testových podmienok v každom cykle zafarbenia musí obsahovať jednu pozitívnu kontrolu tkanivom.

Tkanivo so slabým pozitívnym farbením je na optimálnu kontrolu kvality a na detekciu slabšej degradácie činidla vhodnejšie než tkanivo so silným pozitívnym farbením.

Negatívna kontrola tkanivom

Nutné vyšetriť po pozitívnej kontrole tkanivom s cieľom overiť špecifickosť značenia sondy na cieľ. Ako negatívnu kontrolu je možné použiť aj rôzne typy buniek prítomné vo väčšine tkanivových rezov, takéto postup si však vyžaduje validáciu používateľom.

Negatívna kontrola činidlom

Na vyhodnotenie nešpecifického zafarbenia použite sondu RNA Negative Control Probe PB0809 namiesto testovacej sondy RNA s rezom jednotlivých vzoriek pacienta, čo umožní lepšiu interpretáciu špecifického farbenia cieľa.

Pozitívna kontrola činidlom

Použitie sondy RNA Positive Control Probe PB0785 namiesto testovacej sondy RNA s rezom vzorky jednotlivých pacientov poskytne informácie o zachovaní nukleových kyselín v tkanive, ako aj o dostupnosti nukleových kyselín pre sondu. Ak sonda RNA Positive Control Probe nebude vykazovať pozitívne zafarbenie, výsledky testovaných vzoriek je nutné považovať za neplatné.

Tkanivo pacienta

Pacientske vzorky zafarbené testovacou sondou RNA preskúmajte ako posledné. Intenzitu pozitívneho farbenia je nutné vyhodnotiť v kontexte prípadného nešpecifického zafarbenia sondy RNA Negative Control Probe PB0809 na pozadí.

Očakávané výsledky

Normálne tkanivá

Pri použití PB0809 nebolo pozorované žiadne zafarbenie na širokej škále rôznych tkanív. (Celkový počet normálnych vyšetrených prípadov = 96).

Abnormálne tkanivá

Pri používaní PB0809 sa nezistilo žiadne zafarbenie pri nádoroch vaječníkov (0/3), nádoroch štítnej žľazy (0/3), nádoroch pľúc (0/3), nádoroch pečene (0/3), nádoroch mozgu (0/2), nádoroch pažeráka (0/2), nádoroch prsníka (0/2), nádoroch kože (0/2), metastatických nádoroch neznámeho pôvodu (0/2), nádoroch žalúdka (0/1), nádoroch hrubého čreva (0/1), nádoroch konečníka (0/1), nádore hrtana (0/1) a nádore detskej žľazy (0/1) (celkový počet hodnotených abnormálnych prípadov = 29).

PB0809 sa odporúča ako skríningový nástroj na zhodnotenie zafarbenia testovacej sondy RNA na vzorke pacienta.

Špecifické obmedzenia pre tento výrobok

Sonda RNA Negative Control Probe bola v spoločnosti Leica Biosystems optimalizovaná na použitie s Anti-Fluorescein Antibody, so systémom BOND Polymer Refine Detection a pomocnými činidlami BOND. Používatelia, ktorí sa odchytili od odporúčaných testovacích postupov, musia akceptovať zodpovednosť za interpretáciu výsledkov pacienta za týchto okolností. Časy jednotlivých protokolov sa môžu líšiť z dôvodu odchýlok vo fixácii tkaniva a účinnosti enzymatického zhrustenia a musia sa zistiť empiricky. Pri optimalizácii podmienok vyhľadávania a časov jednotlivých protokolov je potrebné použiť sondu RNA Negative Control Probe.

Riešenie problémov

Pri náprave môže byť nápomocná referencia 3.

Neobvyklé zafarbenie ohláste miestnemu distribútorovi alebo regionálnej pobočke spoločnosti Leica Biosystems.

Ďalšie informácie

Ďalšie informácie o hybridizácii *in situ* s činidlami BOND nájdete v častiach Princíp postupu, Požadované materiály, Príprava vzorky, Kontrola kvality, Overenie testu, Interpretácia zafarbenia, Legenda k symbolom na označení a Všeobecné obmedzenia v používateľskej dokumentácii k systému BOND „Používanie činidiel BOND“.

Referencie

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. 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.

Dátum vydania

25 septembra 2018

BOND™ Ready-to-Use ISH RNA Negative Control Probe

رقم الدليل: PB0809

الاستعمال المستهدف

هذا الكاشف مخصص للاستعمال في أغراض التشخيص في المختبرات.

يتمثل الغرض من RNA Negative Control Probe في تحديد تلوين الخلفية الناتج عن التفاعلات غير النوعية في النسيج المثبت بالفورمالين، والمضمن في البارافين عن طريق التهجين الموضعي (ISH)، وذلك باستخدام نظام Leica BOND-MAX (ويشمل نظام Leica BOND-MAX و نظام Leica BOND-III).

ينبغي أن يستكمل التفسير السريري لوجود أي تلوين أو غيابيه من خلال الدراسات المورفولوجية والوضوابط الصحيحة، وينبغي تقييم ذلك في سياق التاريخ السريري للمريض وغيره من الاختبارات التشخيصية التي يجريها أخصائي مؤهل في علم الأمراض.

الملخص والشرح

RNA Negative Control Probe هو عبارة عن قليل النوكليوتيد أحادي، تم تصميمه من الحمض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين (DNA) لسمك دانيو المخطط وتم تحليله باستخدام أداة البعث عن المحادة المحلية الأساسية (BLAST) للتأكد على أن التسلسل لا يحمل أي تماثل مع أي تسلسل بشري. تم إنشاء RNA Negative Control Probe بمصق الفلوريسين باستخدام الإجراءات نفسها كما هو مطبق على المسابير قليلة النوكليوتيد المستخدمة في الكشف عن الحمض النووي الريبوزي (RNA) على BOND. لذلك، فإن مسبار RNA Negative Control Probe يعد مثاليًا كمسبار تحكم سلبي للتهجين الموضعي للحمض النووي الريبوزي (RNA ISH) على BOND.

الكواشف المتوفرة

يعد RNA Negative Control Probe مسبارًا قليل النوكليوتيد مترافق الفلوريسين (200 نانوغرام/مل) يتم تزويده في محلول تهجين.

الحجم الكلي = 5.5 مل

التخفيف والخلط

RNA Negative Control Probe جاهز للاستعمال. لا يلزم إعادة تشكيل هذا الكاشف، أو خلطه، أو تخفيفه، أو معاريته.

المواد المطلوبة لكنها غير متوفرة

ارجع إلى «استعمال كواشف BOND» في وثائق مستخدم BOND التي بحوزتك للحصول على قائمة كاملة بالمواد المطلوبة لمعالجة العينات والتلوين التهجين في الموضوع باستخدام نظام BOND (يشمل نظامي Leica BOND-MAX و Leica BOND-III).

التخزين والاستقرار

يُخزن في درجة حرارة 2-8 درجة مئوية. يكون المنتج مستقرًا في ظل هذه الظروف حتى تاريخ انتهاء الصلاحية المدون على ملصق الحاوية.

ليس ثمة علامات واضحة تشير إلى التلوث وأو عدم الاستقرار. ينبغي تشغيل ضوابط النسيج الإيجابية والسلبية الملائمة في نفس الوقت الذي يجري فيه اختبار النسيج.

أعد درجة الحرارة إلى 2-8 درجة مئوية بعد الاستعمال مباشرة.

يجب التحقق من ظروف التخزين بمعرفة المستخدم بخلاف الظروف المحددة أعلاه.

الاحتياطات

هذا المنتج مخصص للاستعمال في أغراض التشخيص في المختبرات.

RNA NEGATIVE CONTROL PROBE

H360D: قد يضر الطفل الذي لم يولد بعد.

H315: يسبب تهيج الجلد.

H319: يسبب تهيجًا خطيرًا في العينين.

GHS07: علامة تعجب.

GHS08: خطر على الصحة.

كلمات الإشارة: خطر.

P201: حصل على تعليمات خاصة قبل الاستخدام.

P202: لا تبدأ في التعامل حتى تقرأ جميع احتياطات السلامة وتفهمها.

P260: لا تستنشق الغبار/ال دخان/الضباب/الأبخرة/الروائح.

P281: استخدم معدات الوقاية الشخصية كما هو مطلوب.

P308+313: في حالة التعرض أو المخاوف: احصل على المشورة الطبية/الاهتمام الطبي.

P314: احصل على المشورة الطبية/الاهتمام الطبي إذا شعرت أنك لست على ما يرام.

P264: اغسل اليدين جيدًا بعد المعالجة.

P280: قم بارتداء قفاز واقية/وسيلة حماية للعين/وسيلة حماية للوجه.

P305+351+338: في حالة العينين: اشطف بحرص بالماء لبضع دقائق. انزع العدسات اللاصقة إذا كانت موجودة ومن السهل خلعها. استمر في الشطف.

P337+313: في حالة استمرار تهيج العينين: احصل على المشورة الطبية/الاهتمام الطبي.

P302+352: في حالة الجلد: اغسل بكمية وفيرة من الماء والصابون.

P332+313: في حالة حدوث تهيج الجلد: احصل على المشورة الطبية/الاهتمام الطبي.

P362: أخلع الملابس الملوثة واغسلها قبل إعادة استعمالها.

مقصور على المستخدمين المتخصصين.

للحصول على نسخة من صحيفة بيانات سلامة المواد، اتصل بالموزع المحلي لديك أو مكتب Leica Biosystems الإقليمي، أو يمكنك بدلاً من ذلك زيارة موقع Leica Biosystems على شبكة الويب على العنوان الإلكتروني www.LeicaBiosystems.com

ينبغي التعامل مع العينات، قبل التثبيت وبعد، وكذلك مع جميع المواد التي تتعرض لها كما ولو كانت قادرة على نقل العدوى، وينبغي التخلص منها مع اتخاذ الاحتياطات السليمة. لا تمس الكواشف مطلقًا عن طريق الفم، وتجنب احتكاك الجلد والأغشية المعاطية بالكواشف أو العينات. إذا كانت الكواشف أو العينات تحتك بمنطقة حساسة، فمليك بغسل هذه المناطق بكميات وفيرة من الماء. اطلب المشورة الطبية.

راجع اللوائح الفيدرالية، أو لوائح الولاية، أو اللوائح المحلية للتخلص من أي مكونات سامة محتملة.

قلّل التلوث الميكروبي للكواشف ولا قد تحدث زيادة في التلوين غير المحدد.

قد تؤدي ظروف الاسترجاع، أو أوقات الحضانة، أو درجات الحرارة بخلاف تلك الظروف المحددة إلى الحصول على نتائج خاطئة. أي تغيير كهذا يجب التحقق منه من جانب المستخدم.

إرشادات الاستعمال

تم تطوير RNA Negative Control Probe لاستخدامه في نظام BOND الآلي (يشمل نظامي Leica BOND-MAX و Leica BOND-III) بالاقتران مع Anti-Fluorescein و Antibody Protocol A. يومى باستخدام الإنزيم باستخدام BOND Enzyme Pretreatment Kit. لمدة 15 دقيقة.

ينبغي دائماً استخدام الأسمجة وضوابط الكواشف المناسبة. يجب أن يتوافق بروتوكول الأسمجة وضوابط الكواشف مع بروتوكول مسبار اختبار الحامض النووي الريبي (RNA).

ضبط الجودة

قد تؤدي الاختلافات في معالجة الأنسجة والإجراءات التقنية في مختبر المستخدم إلى حدوث تباين كبير في النتائج، مما يتطلب الأداء المنتظم للضوابط الداخلية بالإضافة إلى الإجراءات التالية.

ضابط النسيج الإيجابي

يستخدم لإشارة إلى الأنسجة التي تم إعدادها بصورة صحيحة وأساليب التلطيح السليمة. يجب تضمين نسيج إيجابي واحد لكل مجموعة من ظروف الاختبار في كل عملية تلطيح.

يكون النسيج ذو التلطيح الإيجابي الضعيف ملائماً بصورة أكبر من النسيج ذي التلطيح الإيجابي القوي، وذلك بغرض ضبط الجودة المثلى والكشف عن مستويات طفيفة من تدهور الكاشف.

ضابط النسيج السلبى

ينبغي فحصه بعد ضابط النسيج الإيجابي للتحقق من خصوصية وضع تسميات المسبار نحو الهدف. وبدلاً من ذلك، هناك مجموعة متنوعة من مختلف أنواع الخلايا الموجودة في معظم قطاعات النسيج توفر في كثير من الأحيان مواقع التحكم السلبى، ولكن يجب التحقق من هذا من جانب المستخدم.

ضابط الكاشف السلبى

استخدم RNA Negative Control Probe PB0809 بدلاً من مسبار اختبار الحمض النووي الريبوزي (RNA) مع قطاع من كل عينة من المرضى لتقييم التلطيح غير المحدد والسماح بتفسير التلطيح المحدد عند الهدف بشكل أفضل.

ضابط الكاشف الإيجابي

استخدم RNA Positive Control Probe PB0785 بدلاً من مسبار اختبار RNA مع قطاع من كل عينة من المرضى لتوفير معلومات حول حفظ الأحماض النووية في النسيج وكذلك إمكانية وصول الأحماض النووية إلى المسبار. إذا فشل RNA Positive Control Probe في إظهار التلطيح الإيجابي، فينبغي اعتبار نتائج عينات الاختبار غير صحيحة.

نسيج المريض

فحص عينات المرضى المطلخة بمسبار اختبار RNA في النهاية. ينبغي تقييم كثافة التلطيح الإيجابي في سياق أي تلطيح غير محدد بالخلفية بخصوص RNA Negative Control Probe PB0809.

النتائج المتوقعة

الأنسجة الطبيعية

لم تتم ملاحظة أي تلطيح باستخدام PB0809 في مجموعة كبيرة من الأنسجة. (إجمالي عدد الحالات العادية التي تم تقييمها = 96).

الأنسجة غير الطبيعية

باستخدام PB0809 لم تتم ملاحظة أي تلطيح في أورام المبيض (0/3)، وأورام الغدة الدرقية (0/3)، وأورام الرئة (0/3)، وأورام الكبد (0/3)، وأورام المخ (0/2)، وأورام المريء (0/2)، وأورام الثدي (0/2)، وأورام الجلد (0/2)، والأورام الغليظة من أصل غير معروف (0/2)، وأورام المعدة (0/1)، وأورام القولون (0/1)، وأورام المستقيم (0/1)، وورم الحنجرة (0/1)، وورم الغدة الصغرى (0/1) (إجمالي عدد الحالات غير العادية التي تم تقييمها = 29).

يوصى باستخدام PB0809 كأداة فحص للمساعدة في تقييم تلطيح مسبار اختبار الحمض النووي الريبوزي (RNA) على عينة مريض.

القيود الخاصة بالمنتج

تم تحسين RNA Negative Control Probe باستخدامه مع Anti-Fluorescein Antibody و BOND Polymer Refine Detection، وكواشف BOND المساعدة على المستخدمين الذين يحددون إجراءات الاختبار الموصى بها قبول تحمل المسؤولية عن تفسير نتائج المرضى في ظل هذه الظروف. قد تختلف أوقات البروتوكول بسبب الاختلاف في تثبيت الأنسجة وفعالية هضم الإنزيمات، ويجب تحديد ذلك تجريبياً. ينبغي استعمال RNA Negative Control Probe عند تحسين ظروف الاسترجاع وأوقات البروتوكول.

اكتشاف المشكلات وحلها

قد يساعد المرجع رقم 3 في الحصول على إجراء علاجي.

اتصل بالموزع المحلي لديك أو بمكتب Leica Biosystems الإقليمي للإبلاغ عن أي تلطيح غير اعتيادي.

المزيد من المعلومات

يمكن العثور على المزيد من المعلومات حول التجهيز في الموضوع باستخدام كواشف BOND، تحت العناوين التالية: مبدأ الإجراء، المواد المطلوبة، إعداد العينة، ضبط الجودة، التحقق من صحة الفحص، تفسير التلطيح، مفتاح الرموز المدونة على الملصقات، والقيود العامة، وذلك في قسم «استعمال كواشف BOND» في وثائق مستخدم BOND التي بحوزتك.

مراجع

1. Pringle JH, Primrose L, Kind CN, et al. *In situ* hybridization demonstration of poly-adenylated RNA sequences in formalin-fixed paraffin sections using a biotinylated oligonucleotide poly d(T) probe. *Journal of Pathology*. 1989;158(4):279—286.
2. Lewin B. Units of transcription and translation: the relationship between heterogeneous nuclear RNA and messenger RNA. *Cell*. 1975;4:11—20.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
4. 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.
5. Wilkinon DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinon DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18—20.

تاريخ الإصدار

2018 ربيع الثاني

Leica Biosystems Newcastle Ltd 
Balliol Business Park
Benton Lane
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW
United Kingdom
☎ +44 191 215 4242

Leica Biosystems Canada
71 Four Valley Drive
Concord, Ontario L4K 4V8
Canada
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Inc
1700 Leider Lane
Buffalo Grove IL 60089
USA
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Melbourne
Pty Ltd
495 Blackburn Road
Mt Waverley VIC 3149
Australia
☎ +61 2 8870 3500