

BOND Ready-to-Use ISH

Kappa Probe

Catalog No: PB0645

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.

Gebbruksinstructies

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.

Instrucțiuni de utilizare

Citiți aceste instrucțiuni 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.

تعليمات الاستخدام

يرجى 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.

Verificati 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

Kappa Probe

Catalog No: PB0645

Intended Use

This reagent is for *in vitro* diagnostic use.

Kappa Probe is intended for use in the qualitative identification of Kappa light chain messenger RNA (mRNA) 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

Immunoglobulins are glycoproteins produced in mature B-cells against a specific antigen. Each individual immunoglobulin molecule comprises two heavy and two light polypeptide chains. There are five classes of immunoglobulin, determined by the type of heavy chain. In contrast, there are only two types of light chain: Kappa or Lambda. Each individual immunoglobulin molecule is composed of one of five classes of heavy chains and either Kappa or Lambda light chains. In normal human lymphoid populations, the ratio of Kappa to Lambda light chains is approximately 2:1¹.

B-cell neoplasms are thought to arise from a single transformed cell (monoclonal)². In contrast, reactive states result in proliferation of a number of B-cells (polyclonal). Since immunoglobulins from the same B-cell contain either Kappa or Lambda light chains, light chain restriction or monoclonality can be used to make the distinction between reactive and neoplastic B cell proliferations³.

Kappa Probe is used in conjunction with Lambda Probe for the detection of antibody producing B-cells in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. The method is reproducible and should result in intense, brown cytoplasmic staining of cells containing Kappa mRNA.

Reagents Provided

Kappa Probe is a fluorescein-conjugated oligonucleotide probe supplied in hybridization solution.

Total volume = 5.5 mL

Dilution and Mixing

Kappa 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 vial 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 user⁴.

Precautions

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

KAPPA PROBE

Contains Formaldehyde (<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+P364: Take off contaminated clothing and wash it 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 precautions⁵. 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

Kappa 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 and BOND Polymer Refine Detection. The recommended staining protocol for Kappa Probe is ISH Protocol A. Enzyme retrieval is recommended using the BOND Enzyme Pretreatment 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 Kappa 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 Kappa 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 Kappa 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

PB0645 detected Kappa mRNA in B-cells in spleen and tonsil as well as the occasional B-cell in a wide range of tissues including breast, cervix, liver, salivary gland, parotid gland, small intestine and large intestine. Precursor B-cells were also positive for Kappa mRNA in bone marrow. Additional staining was also seen in epithelial cells of the thyroid, prostate, larynx, esophagus and endometrium, tubules of the kidney, secretory cells in the adrenal glands and Leydig cells. (Total number of normal cases evaluated = 110).

Abnormal Tissues

PB0645 stained 2/6 plasma cell myelomas. No staining was seen in diffuse large B-cell lymphomas (0/3), T-cell lymphomas (0/3), Hodgkin's lymphomas (0/2), a Burkitt's lymphoma (0/1), lung tumors (0/3), liver tumors (0/3), ovarian tumors (0/3), thyroid tumors (0/3), esophageal tumors (0/2), breast tumors (0/2), metastatic tumors of unknown origin (0/2), brain tumors (0/2), testicular tumors (0/2), skin tumors (0/2), a colon tumor (0/1), a stomach tumor (0/1), a rectal tumor (0/1), a tumor of the larynx (0/1) and a tumor of the thymus (0/1). (Total number of abnormal cases evaluated = 44).

PB0645 is recommended for the detection of Kappa light chain mRNA.

Product Specific Limitations

Kappa Probe has been optimised 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 6 may aid in remedial action.

Test samples should be complemented by the appropriate tissue and reagent controls.

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. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. *J Exp Med.* 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. *Transplant Rev.* 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. *J Clin Pathol.* 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. 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

26 February 2020

BOND Ready-to-Use ISH

Kappa Probe

Référence: PB0645

Utilisation Prévue

Ce réactif est destiné au diagnostic *in vitro*.

Kappa Probe est conçue pour l'identification qualitative de l'ARN messenger (ARNm) de la chaîne légère Kappa par 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

Les immunoglobulines sont des glycoprotéines produites dans les cellules B matures et dirigées contre un antigène spécifique. Chaque molécule d'immunoglobuline individuelle comprend deux chaînes polypeptidiques lourdes et deux chaînes légères. Il existe cinq classes d'immunoglobulines, selon le type de chaîne lourde. En revanche, il n'existe que deux types de chaîne légère : Kappa ou lambda. Chaque molécule d'immunoglobuline individuelle se compose de l'une des cinq classes de chaîne lourde et des chaînes légères Kappa ou lambda. Dans les populations lymphoïdes normales chez l'homme, le rapport des chaînes légères Kappa sur les chaînes légères lambda est environ de 2/1.

On pense que les néoplasmes à cellules B sont issus de la transformation d'une seule cellule (monoclonaux)². En revanche, les états réactifs entraînent une prolifération de plusieurs cellules B (polyclonaux). Comme les immunoglobulines issues de la même cellule B contiennent les chaînes légères Kappa ou lambda, cette restriction de chaîne légère ou monoclonalité peut être utilisée pour différencier des proliférations de cellules B réactives et néoplasiques³.

Kappa Probe s'utilise conjointement avec Lambda Probe pour la détection de cellules B productrices d'anticorps sur tissu fixé à la formaline et enrobé de paraffine. La méthode est reproductible et devrait se traduire par un marquage cytoplasmique marron intense des cellules contenant l'ARNm de la chaîne Kappa.

Réactifs Fournis

Kappa Probe est une sonde oligonucléotidique conjuguée à la fluorescéine fournie en solution d'hybridation.

Volume total = 5,5 ml

Dilution et Mélange

Kappa 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 flacon.

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'utilisateur⁴.

Précautions

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

KAPPA 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+P364: 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 adéquates*. 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

Kappa 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 Kappa 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 aux contrôles de tissu et de réactif doit correspondre à celui du Kappa Probe.

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 Kappa Probe 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 Kappa Probe 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 Kappa Probe 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

PB0645 a détecté de l'ARNm Kappa dans les cellules B dans la rate et les amygdales, ainsi que quelques cellules B dans un grand éventail de tissus, y compris la poitrine, le col de l'utérus, le foie, la glande salivaire, la glande parotide, l'intestin grêle et le gros intestin. Des cellules B à précurseurs étaient également positives pour l'ARNm Kappa dans la moelle osseuse. Une coloration supplémentaire a été détectée dans les cellules épithéliales de la thyroïde, de la prostate, du larynx, de l'œsophage et de l'endomètre, des tubules du rein, des cellules sécrétrices dans les glandes surrénales et les cellules de Leydig. (Nombre total de cas normaux évalués = 110).

Tissus tumoraux

PB0645 a coloré 2/6 myélomes de cellules plasmatiques. Aucune coloration n'a été observée dans les lymphomes à grandes cellules B (0/3), lymphomes à cellules T (0/3), lymphomes d'Hodgkin (0/2), lymphome de Burkitt (0/1), tumeurs pulmonaires (0/3), tumeurs du foie (0/3), tumeurs ovariennes (0/3), tumeurs de la thyroïde (0/3), tumeurs de l'œsophage (0/2), tumeurs de la poitrine (0/2), tumeurs métastatiques d'origine inconnue (0/2), tumeurs du cerveau (0/2), tumeurs testiculaires (0/2), tumeurs de la peau (0/2), une tumeur du côlon (0/1), une tumeur de l'estomac (0/1), une tumeur rectale (0/1), une tumeur du larynx (0/1) et une tumeur du thymus (0/1). (Nombre total de cas anormaux évalués = 44).

PB0645 est recommandé pour la détection de chaîne légère Kappa de l'ARNm.

Limites Spécifiques du Produit

Kappa 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 6 peut faciliter les mesures correctrices.

Les échantillons testés doivent être analysés avec les tissus et les contrôles appropriés.

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. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. *J Exp Med.* 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. *Transplant Rev.* 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. *J Clin Pathol.* 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. 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

26 février 2020

BOND Ready-to-Use ISH

Kappa Probe

N. catalogo: PB0645

Uso Previsto

Reagente per uso diagnostico *in vitro*.

L'uso della Kappa Probe è previsto per l'identificazione qualitativa dell'RNA messaggero (mRNA) delle catene leggere Kappa 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

Le immunoglobuline sono glicoproteine prodotte dalle cellule B mature e rivolte contro un antigene specifico. Ogni singola molecola di immunoglobulina è costituita da due catene polipeptidiche pesanti e da due leggere. Esistono cinque classi di immunoglobuline, definite dal tipo di catena pesante, mentre esistono solo due tipi di catene leggere: Kappa e lambda. Ogni singola molecola di immunoglobulina è costituita da una delle cinque classi delle catene pesanti e dalle catene leggere Kappa o lambda. Nelle popolazioni linfocitarie umane normali il rapporto tra catene leggere Kappa e lambda è all'incirca di 2:1¹.

Si ritiene che le neoplasie delle cellule B traggano origine da una singola cellula trasformata (monoclonali)². Viceversa, le condizioni reattive determinano la proliferazione di numerose cellule B (policonali). Dal momento che le immunoglobuline derivate dalla stessa cellula B contengono o le catene leggere Kappa o le lambda, si può utilizzare la restrizione delle catene leggere o la monoclonalità per distinguere tra le proliferazioni reattive e quelle neoplastiche delle cellule B³.

La Kappa Probe viene utilizzata unitamente alla Lambda Probe per l'individuazione delle cellule B che producono anticorpi in sezioni di tessuto fissate in formalina, incluse in paraffina. Il metodo è riproducibile e deve determinare una intensa colorazione marrone del citoplasma delle cellule che contengono l'mRNA delle catene Kappa.

Reagenti Forniti

La Kappa Probe è una sonda oligonucleotidica coniugata con fluoresceina fornita in soluzione per ibridazione.

Volume totale = 5,5 ml

Diluizione e Miscelazione

La Kappa 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 ai test.

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

L'utente deve verificare eventuali condizioni di conservazione diverse da quelle specificate⁴.

Precauzioni

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

KAPPA 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+P364: Togliere tutti 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 precauzioni⁵. 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

Kappa Probe è stato sviluppato per l'uso sul sistema BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III) automatizzato unitamente a Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection e con i reagenti ausiliari BOND. Il protocollo di colorazione raccomandato per Kappa 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 di Kappa Probe.

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 di Kappa Probe 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 sito bersaglio.

Controllo positivo del reagente

Usare RNA Positive Control Probe PB0785 al posto di Kappa Probe 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 del paziente colorati con Kappa Probe. 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

PB0645 ha rilevato mRNA Kappa nelle cellule B di milza e tonsille, oltre che in cellule B occasionali in una vasta gamma di tessuti, tra cui seno, cervice, fegato, ghiandole salivari, ghiandola parotide, intestino tenue e intestino crasso. Anche le cellule B da precursore sono risultate positive all'mRNA Kappa nel midollo osseo. È stata rilevata una colorazione supplementare anche nelle cellule epiteliali di tiroide, prostata, laringe, esofago ed endometrio, tubuli renali, cellule secretive nelle ghiandole surrenali e cellule di Leydig. (Numero totale di casi normali esaminati = 110).

Tessuti neoplastici

PB0645 ha colorato 2/6 mielomi delle plasmacellule. Non è stata riscontrata colorazione nei linfomi diffusi a grandi cellule B (0/3), linfomi a cellule T (0/3), linfomi di Hodgkin (0/2), linfoma di Burkitt (0/1), tumori ai polmoni (0/3), tumori al fegato (0/3), tumori alle ovaie (0/3), tumori tiroidei (0/3), tumori esofagei (0/2), tumori mammari (0/2), tumori metastatici di origine ignota (0/2), tumori al cervello (0/2), tumori testicolari (0/2), tumori della pelle (0/2), tumore del colon (0/1), tumore allo stomaco (0/1), tumore del retto (0/1), tumore della laringe (0/1) e tumore del timo (0/1). (Numero totale di casi anormali esaminati = 44).

PB0645 è consigliata per il rilevamento di mRNA catena leggera Kappa.

Limitazioni Specifiche del Prodotto

La Kappa 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.

Individuazione e Risoluzione dei Problemi

Il riferimento bibliografico n. 6 può essere di aiuto per le azioni di rimedio.

I campioni dei test devono essere completati dagli adeguati controlli dei tessuti e dei reagenti.

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 "Uso 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. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. *J Exp Med.* 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. *Transplant Rev.* 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. *J Clin Pathol.* 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. 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

26 febbraio 2020

BOND Ready-to-Use ISH Kappa Probe

Bestellnr: PB0645

Verwendungszweck

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

Kappa Probe ist für den qualitativen Nachweis von messenger RNA (mRNA) der Kappa-Leichtkette in formalinfixiertem, in Paraffin eingebettetem Gewebe mittels *In-situ*-Hybridisierung (ISH) mit dem automatischen BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) entwickelt 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

Immunglobuline sind Glykoproteine, die in reifen B-Zellen gegen ein spezifisches Antigen gebildet werden. Jedes Immunglobulinmolekül besteht aus zwei schweren und zwei leichten Polypeptidketten. Es gibt fünf Immunglobulinklassen, die durch den Typ der schweren Kette bestimmt werden. Im Gegensatz dazu gibt es nur zwei Typen an leichten Ketten: Kappa oder Lambda. Jedes Immunglobulinmolekül besteht aus einer der fünf verschiedenen schweren Ketten und entweder Kappa- oder Lambda-Leichtketten. In normalen humanen Lymphozytenpopulationen ist das Verhältnis von Kappa- zu Lambda-Leichtketten ungefähr 2:1¹.

Es wird angenommen, dass B-Zell-Neoplasmen aus einer einzelnen transformierten Zelle entstehen (monoklonal)². Im Gegensatz dazu führen reaktive Zustände zur Vermehrung mehrerer B-Zellen (polyklonal). Da Immunglobuline der selben B-Zelle entweder Kappa- oder Lambda-Leichtketten enthalten, kann die Restriktion der leichten Kette oder die Monoklonalität dazu benutzt werden, zwischen reaktiven und neoplastischen B-Zell-Proliferationen zu unterscheiden³.

Kappa Probe wird in Verbindung mit der Lambda Probe zum Nachweis antikörperproduzierender B-Zellen in formalinfixiertem, in Paraffin eingebettetem Gewebe benutzt. Die Methode ist reproduzierbar und sollte zu einer intensiven, braunen zytoplasmatischen Färbung von Zellen führen, die Kappa-mRNA enthalten.

Im Lieferumfang Enthaltene Reagenzien

Kappa Probe ist eine Fluorescein-konjugierte Oligonukleotidsonde, die in einer Hybridisierungslösung geliefert wird.

Gesamtvolumen = 5,5 ml

Verdünnung und Mischung

Kappa 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) entwickelt 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 Fläschchenetikett 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 werden⁴.

Vorsichtsmaßnahmen

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

KAPPA PROBE

Enthält Formalind (<50%)
und Dextran-Sulfat (<30%).
GHS07: Ausrufezeichen.
GHS08:
Gesundheitsgefahr.
Signalwörter: Gefahr.

H360D: Kann das Kind im Mutterleib schädigen.
H315: Verursacht Hautreizungen.
H319: Verursacht schwere Augenreizung.

P201: Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.
P202: Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.
P260: Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen.
P308+P313: BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P314: Bei Unwohlsein ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P264: Nach Gebrauch Hände gründlich waschen.
P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
P305+P351+P338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.
P337+P313: Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P302+P352: BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen.
P332+P313: Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P362+P364: 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 Vorsichtsmaßnahmen⁶. Pipettieren 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

Kappa 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 Kappa Probe. Es wird eine Enzymvorbehandlung unter Anwendung von BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 für 15 Minuten empfohlen.

Es sind stets geeignete Gewebe- und Reagenzkontrollen zu nutzen. Das Protokoll für die Gewebe- und Reagenzkontrollen sollte dem für Kappa Probe 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 Kappa Probe zu verwenden.

Positive Reagenzkontrolle

Verwenden Sie RNA Positive Control Probe PB0785 anstelle Kappa Probe 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 Kappa Probe gefärbten Patientenproben müssen zuletzt untersucht werden. Eine positive Färbeintensität ist im Kontext einer unspezifischen Hintergrundfärbung der RNA Negative Control Probe PB0809 zu bewerten.

Erwartete Ergebnisse

Normale Gewebe

PB0645 detektierte Kappa-mRNA in B-Zellen von Milz und Tonsillen sowie gelegentlich in B-Zellen in einem breiten Spektrum von Gewebeproben, einschl. Brust, Zervix, Leber, Speicheldrüse, Ohrspeicheldrüse, Dünndarm und Dickdarm. B-Vorläuferzellen in Knochenmarkproben wurden ebenfalls auf Kappa-mRNA getestet. Darüber hinaus wurde eine Färbung in den Epithelzellen von Schilddrüse, Prostata, Larynx, Ösophagus und Endometrium, den Tubuli der Niere, den sekretorischen Zellen der Nebenniere und in Leydig-Zellen beobachtet. (Anzahl der insgesamt untersuchten Normalgewebeproben = 110).

Tumorgewebe

PB0645 färbte 2/6 Plasmazytomen. Beim diffusen großzelligen B-Zell-Lymphom (0/3), T-Zell-Lymphom (0/3), Hodgkin-Lymphom (0/2), einem Burkitt-Lymphom (0/1), bei Tumoren von Lunge (0/3), Leber (0/3), Eierstöcken (0/3), Schilddrüse (0/3), Ösophagus (0/2), Brust (0/2), metastatischen Tumoren unbekanntes Ursprungs (0/2), Tumoren von Gehirn (0/2), Testikeln (0/2), Haut (0/2) und je einem Tumor von Colon (0/1), Magen (0/1), Rektum (0/1), Larynx (0/1) und Thymus (0/1) wurde keine Färbung nachgewiesen. (Anzahl der insgesamt untersuchten pathologischen Gewebeproben = 44).

PB0645 wird für die Bestimmung der Kappa-Leichtketten-mRNA empfohlen.

Produktspezifische Einschränkungen

Kappa 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 6.

Die Analyse der Proben sollte zusammen mit geeigneten Gewebe- und Reagenzkontrollen durchgeführt werden.

Falls Sie ungewöhnliche Färbegergebnisse 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. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. *J Exp Med.* 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. *Transplant Rev.* 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. *J Clin Pathol.* 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. 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

26 Februar 2020

BOND Ready-to-Use ISH

Kappa Probe

Catálogo N°: PB0645

Uso Propuesto

Este reactivo es para uso diagnóstico *in vitro*.

Kappa Probe es para uso en la identificación cualitativa de ARN mensajero (ARNm) de cadena ligera Kappa en tejidos fijados en formalina e incluidos en parafina por 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

Las inmunoglobulinas son glucoproteínas producidas en células B maduras contra un antígeno específico. Cada molécula individual de inmunoglobulina consta de dos cadenas de polipéptido pesadas y dos ligeras. Hay cinco clases de inmunoglobulinas, determinadas por el tipo de cadena pesada. Sin embargo, sólo hay dos tipos de cadenas ligeras: Kappa y lambda. Cada molécula de inmunoglobulina ideal de compone de una de las cinco clases de cadenas pesadas y de cadenas ligeras Kappa o lambda. En las poblaciones linfoides humanas normales, la proporción entre cadenas ligeras Kappa y lambda es de aproximadamente 2:1.

Se piensa que los neoplasmas de células B provienen de una única célula transformada (son monoclonales)². Por el contrario, en los estados reactivos se produce una proliferación de diversas células B (policionales). Dado que las inmunoglobulinas procedentes de la misma célula B contienen o cadenas ligeras Kappa p cadenas ligeras lambda, la restricción de cadena ligera o monoclonalidad puede utilizarse para distinguir entre proliferaciones de células B reactivas y neoplásicas³.

Kappa Probe se utiliza junto con Lambda Probe para la detección de células B productoras de anticuerpos en tejidos fijados en formalina e incluidos en parafina. El método es reproducible y debe producir una tinción citoplásmica intensa, de color marrón, de las células que contienen ARNm Kappa.

Reactivos Suministrados

Kappa Probe es una sonda de oligonucleótido conjugado con fluoresceína que se suministra en solución de hibridación.

Volumen total = 5,5 mL.

Dilución y Mezcla

Kappa Probe está listo para usar. No es necesaria la reconstrucción, 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 vial.

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 necesarias⁴.

Precauciones

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

KAPPA 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+P364: Quitar 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 correspondientes⁵. 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

Kappa 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 Kappa 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 los controles de tejidos y de reactivos debe corresponder al de Kappa Probe.

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 Kappa Probe 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 diana.

Control positivo de reactivo

Utilice RNA Positive Control Probe PB0785 en lugar de Kappa Probe 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 Kappa Probe 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

PB0645 detectó ARNm Kappa en células B del bazo y la amígdala, así como en células B aisladas en una amplia gama de tejidos, incluido el mamario, el cervicouterino, el hepático, el de la glándula salival, el de la glándula parótida, el del intestino grueso y el del intestino delgado. Las células B precursoras también dieron resultado positivo para ARNm Kappa en la médula ósea. También se observó tinción en células epiteliales de la glándula tiroidea, la próstata, la laringe, el esófago y el endometrio, y en los túbulos del riñón, las células secretoras de las glándulas suprarrenales y las células de Leydig. (Número total de casos normales evaluados = 110).

Tejidos tumorales

PB0645 tiñó 2/6 mielomas de células plasmáticas. No se observó tinción en los linfomas B difusos de células grandes (0/3), los linfomas de células T (0/3), los linfomas de Hodgkin (0/2), el linfoma de Burkitt (0/1), los cánceres de pulmón (0/3), los cánceres hepáticos (0/3), los cánceres ováricos (0/3), los cánceres tiroideos (0/3), los cánceres esofágicos (0/2), los cánceres de mama (0/2), los cánceres metastásicos de origen desconocido (0/2), los tumores cerebrales (0/2), los tumores testiculares (0/2), los cánceres de piel (0/2), el cáncer de colon (0/1), el cáncer gástrico (0/1), el tumor rectal (0/1), el cáncer de laringe (0/1) y el cáncer de timo (0/1). (Número total de casos anormales evaluados = 44).

Se recomienda PB0645 para detectar el ARNm de las cadenas ligeras Kappa.

Limitaciones Específicas del Producto

Kappa 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 6 puede ser de utilidad en las acciones correctoras.

Las muestras de prueba deben complementarse con los controles adecuados de tejidos y reactivos.

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. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. *J Exp Med.* 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. *Transplant Rev.* 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. *J Clin Pathol.* 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. 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

26 de febrero de 2020

BOND Ready-to-Use ISH

Kappa Probe

Nº de catálogo: PB0645

Utilização

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

A Kappa Probe destina-se a ser usada para a identificação qualitativa de ARN mensageiro (mRNA) da cadeia leve Kappa 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

As imunoglobulinas são glicoproteínas produzidas em linfócitos B maduros contra um antígeno específico. Cada molécula de imunoglobulina individual inclui duas cadeias pesadas e duas cadeias leves de polipéptidos. Existem cinco classes de imunoglobulinas, determinadas pelo tipo de cadeia pesada. Em contrapartida, existem apenas dois tipos de cadeias leves: Kappa ou Lambda. Cada molécula de imunoglobulina individual é constituída por uma de cinco classes de cadeias pesadas e cadeias leves Kappa ou Lambda. Em populações linfóides humanas normais, a razão entre as cadeias leves Kappa e Lambda é de aproximadamente 2:1¹.

Pensa-se que as neoplasias de linfócitos B se originam numa única célula transformada (monoclonal)². Em contrapartida, os estados reactivos resultam na proliferação de vários linfócitos B (policlinal). Dado que as imunoglobulinas do mesmo linfócito B apresentam cadeias leves Kappa ou Lambda, pode utilizar-se a restrição ou monoclonalidade para distinguir entre proliferações de linfócitos B reactivas e neoplásicas³.

A Kappa Probe é usada em conjunto com a Lambda Probe na detecção de linfócitos B produtores de anticorpos em tecidos fixos com formalina e incluídos em parafina. O método é reprodutível e deve originar uma coloração citoplásmica intensa e castanha de células contendo mRNA Kappa.

Reagentes Fornecidos

A Kappa Probe é uma sonda de oligonucleótidos conjugados com fluoresceína, fornecida em solução de hibridização.

Volume total = 5,5 mL

Diluição e Mistura

A Kappa 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 automatizado (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 frasco.

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 utilizador⁴.

Precauções

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

KAPPA 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+P313: 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+P364: 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 adequadas⁵. 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 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.
- Minimizar 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

Kappa 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 Kappa 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 de Kappa Probe.

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 de Kappa Probe 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 de Kappa Probe 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 devem ser considerados inválidos.

Tecido do doente

Examine, no fim, as amostras do doente coradas com Kappa Probe. 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

Tejidos normais

O PB0645 detetou ARNm Kappa em células B no baço e nas amígdalas, bem como células B ocasionais numa grande variedade de tecidos, incluindo tecido mamário, do colo do útero, fígado, glândula salivar, glândula parótida, intestino delgado e intestino grosso. As células B precursoras também obtiveram resultados positivos para ARNm Kappa na medula óssea. Foi também observada uma coloração adicional em células epiteliais da tireóide, próstata, laringe, esófago e endométrio, túbulos renais, células secretoras nas glândulas adrenais e células de Leydig. (Número total de casos normais avaliados = 110).

Tejidos tumorais

O PB0645 corou 2/6 mielomas das células do plasma. Não foi observada coloração em linfomas das células B grandes difusas (0/3), linfoma das células T (0/3), linfomas de Hodgkin (0/2), um linfoma de Burkitt (0/1), tumores pulmonares (0/3), tumores hepáticos (0/3), tumores ovários (0/3), tumores da tireóide (0/3), tumores esofágicos (0/2), tumores mamários (0/2), tumores metastáticos de origem desconhecida (0/2), tumores cerebrais (0/2), tumores testiculares (0/2), tumores da pele (0/2), um tumor do cólon (0/1), um tumor do estômago (0/1), um tumor do reto (0/1), um tumor da laringe (0/1) e um tumor do timo (0/1). (Número total de casos anormais avaliados = 44).

O PB0645 é recomendado para a deteção de ARNm da cadeia leve Kappa.

Limitações Específicas do Produto

A Kappa 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 6 pode ajudar na acção de resolução.

As amostras de teste devem ser complementadas pelos controlos tecidulares e de reagente adequados.

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. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. *J Exp Med.* 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. *Transplant Rev.* 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. *J Clin Pathol.* 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. 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

26 de Fevereiro de 2020

BOND Ready-to-Use ISH

Kappa Probe

Artikelnummer: PB0645

Användningsområde

Reagenset är avsett för *in vitro*-diagnostik.

Kappa Probe är avsedd för användning vid kvalitativ identifikation av budbärar-RNA (mRNA) för lätta kedjor av lambdatyp i formalinfixerad, paraffinbäddad vävnad genom *in situ* hybridisering (ISH) i det automatiserade BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III).

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

Immunoglobuliner är glykoproteiner som producerats i mogna B-celler mot ett specifikt antigen. Varje individuell immunoglobulinmolekyl innefattar två tunga och två lätta polypeptidkedjor. Det finns fem immunoglobulinklasser, bestämda genom typ av tung kedja. Däremot finns det bara två typer av lätta kedjor: Kappa eller lambda. Varje individuell immunoglobulinmolekyl är sammansatt av en av fem klasser av tunga kedjor och antingen Kappa eller lambda lätta kedjor. I normala humana lymfoida populationer är förhållandet mellan Kappa och lambda lätta kedjor ungefär 2:1¹.

B-cellneoplasmer tros uppkomma från en enda transformerad cell (monoklonal)². Däremot resulterar reaktiva tillstånd i proliferation av ett antal B-celler (polyklonala). Eftersom immunoglobuliner från samma B-cell innehåller antingen Kappa eller lambda lätta kedjor, kan restriktion av lätta kedjor eller monoklonalitet användas för att skilja mellan reaktiva och neoplastiska B-cellproliferationer³.

Kappa Probe används tillsammans med Lambda Probe för bestämning av antikropsproducerande B-celler i formalinfixerad, paraffinbäddad vävnad. Metoden är reproducerbar och bör resultera i en intensiv brun cytoplasmfärgning av de celler som innehåller Kappa-mRNA.

Ingående Reagens

Kappa Probe är en fluoresceinkonjugerad oligonukleotid-probe som tillhandahålls i en hybridiseringslösning.

Total volym = 5,5 ml

Spädning och Blandning

Kappa 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 flaskans etikett.

Det finns inga uppenbara tecken som indikerar kontaminering 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 användaren⁴.

Säkerhetsföreskrifter

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

KAPPA PROBE

Innehåller Formamid (<50%)
och dextransulfat (<30%).
GHS07: Utropstecken.
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+P364: 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 webbplats 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 praxis⁵. 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.

Brugsanvisning

Kappa 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 Kappa 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 Kappa Probe-protokollet.

Kvalitetskontroll

Skilnader 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 Kappa Probe 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 Kappa Probe på en begränsad del av varje patientprov för information om bibehållande av nukleinsyror i vävnaden samt sondens tillgång till nukleinsyror. Om den positiva vävnadskontrollen inte uppvisar positiv färgning bör resultat erhållna från testproverna anses vara ogiltiga.

Patientvävnad

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

Förväntade Resultat

Normala vävnader

PB0645 detekterade Kappa-mRNA i B-celler i mjälte och tonsill, såväl som enstaka B-celler i flera olika vävnader inklusive bröst, cervix, lever, spottkörtel, öronspottkörtel, tunntarm samt kolon. Prekursor B-celler var också positiva för Kappa-mRNA i benmärg. Ytterligare färgning sågs även i epitelialceller i sköldkörteln, prostata, struphuvud, matstrupe samt endometrium, njurgångar, sekretoriska celler i binjurarna samt Leydig-celler. (Totalt antal utvärderade normalfall = 110).

Tumörvävnader

PB0645 färgade 2/6 plasmacellsmyelom. Ingen färgning sågs i diffusa, stora B-cellslymfom (0/3), T-cellslymfom (0/3), Hodgkins lymfom (0/2), ett Burkitts lymfom (0/1), lungtumörer (0/3), levertumörer (0/3), äggstockstumörer (0/3) sköldkörteltumörer (0/3), esofagealtumörer (0/2), brösttumörer (0/2), metastatiska tumörer av okänt ursprung (0/2), hjärntumörer (0/2), testikeltumörer (0/2), hudtumörer (0/2), en kolontumör (0/1), en magsäckstumör (0/1), en rektal tumör (0/1), en struphuvudstumör (0/1) samt en thymustumör (0/1). (Totalt antal utvärderade onormala fall = 44).

PB0645 rekommenderas för detektion av Kappa ljuskedje-mRNA.

Produktspecifika Begränsningar

Kappa Probe har optimerats hos Leica Biosystems för att användas 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. Protokolliderna 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 protokolliderna ska optimeras.

Felsökning

Referens 6 kan vara till hjälp vid felsökningsåtgärd.

Testprover ska kompletteras med lämpliga vävnads- och reagenskontroller.

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 BONDS användardokumentation.

Referenser

1. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. *J Exp Med.* 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. *Transplant Rev.* 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. *J Clin Pathol.* 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. 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

26 februari 2020

BOND Ready-to-Use ISH

Kappa Probe

Αρ. καταλόγου: PB0645

Σκοπός Χρήσης

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

Το Kappa Probe προορίζεται για χρήση στην ποιοτική ταυτοποίηση του αγγελιοφόρου RNA (mRNA) της κ ελαφριάς αλυσίδας 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

Οι ανοσοσφαιρίνες είναι γλυκοπρωτεΐνες που παράγονται σε ώριμα Β-κύτταρα ενάντια σε ένα ειδικό αντιγόνο. Κάθε ατομικό μόριο ανοσοσφαιρίνης περιλαμβάνει δύο βαριές και δύο ελαφριές πολυπεπτιδικές αλυσίδες. Υπάρχουν πέντε τάξεις ανοσοσφαιρίνης, που προσδιορίζονται από τον τύπο της βαριάς αλυσίδας. Αντίθετα, υπάρχουν μόνο δύο τύποι ελαφριάς αλυσίδας: κ ή λ. Κάθε ατομικό μόριο ανοσοσφαιρίνης αποτελείται από μία από πέντε τάξεις βαριών αλυσίδων και είτε κ είτε λ ελαφριές αλυσίδες. Σε φυσιολογικούς ανθρώπινους λεμφοειδείς πληθυσμούς, η αναλογία κ προς λ ελαφριών αλυσίδων είναι περίπου 2:1¹.

Τα Β-κυτταρικά νεοπλασμάτα πιστεύεται ότι προέρχονται από ένα μονό μετασχηματισμένο κύτταρο (μονοκλωνικά)². Αντίθετα, αντιδρώσες καταστάσεις έχουν ως αποτέλεσμα τον πολλαπλασιασμό διαφόρων Β-κυττάρων (πολυκλωνικά). Επειδή οι ανοσοσφαιρίνες από το ίδιο Β-κύτταρο περιέχουν είτε κ είτε λ ελαφριές αλυσίδες, ο περιορισμός των ελαφριών αλυσίδων ή η μονοκλωνικότητα είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν για την επίτευξη διάκρισης μεταξύ αντιδρώντων και νεοπλασματικών Β-κυτταρικών πολλαπλασιασμών³.

Το Kappa Probe χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με το Lambda Probe για την ανίχνευση των Β-κυττάρων που παράγουν αντισώματα σε μονιμοποιημένο με φορμόλη, ενσωματωμένο σε παραφίνη ιστό. Η μέθοδος είναι αναπαράγξιμη και πρέπει να έχει ως αποτέλεσμα έντονη, καστανή κυτταροπλασματική χρώση των κυττάρων που περιέχουν mRNA κ αλυσίδας.

Αντιδραστήρια Που Παρέχονται

Το Kappa Probe είναι ένας συζευγμένος με φλουορεσκήνη ανιχνευτής ολιγονουκλεοτιδίων που παρέχεται σε διάλυμα υβριδισμού.

Συνολικός όγκος = 5,5 mL

Αραίωση και Ανάμειξη

Το Kappa Probe είναι έτοιμο για χρήση. Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμειξη, αραίωση ή πιλοδότηση του αντιδραστήριου 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 φιαλιδίου.

Δεν υπάρχουν εμφανείς ενδείξεις που να υποδεικνύουν μόλυνση ή/και αστάθεια. 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 χρήστη⁴.

Προφυλάξεις

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

KAPPA PROBE

Περιέχει Φορμολιόδιο (<50%)

και Θεική 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 χρησιμοποιήσετε 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 ξεπλένετε.

P337+313: Εάν δεν υποχωρεί 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+P364: 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 μεταδότηση λοίμωξης και να απορρίπτονται με κατάλληλες προφυλάξεις⁵. 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 έρθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφθονο ποσότητα 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 επώασης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται ενδέχεται να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Τυχόν τέτοια μεταβολή πρέπει να επικυρώνεται από το χρήστη.

Οδηγίες χρήσης

Το Kappa 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 συνιστώμενο πρωτόκολλο χρώσης για το Kappa 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 Kappa Probe.

Ποιοτικός έλεγχος

Τυχόν διαφορές στην επεξεργασία 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 καταλληλότερος 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 BOND 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 Kappa Probe 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 Kappa Probe με μια τομή κάθε δείγματος ασθενούς, για να παράσχετε 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 το Kappa Probe 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

Το PB0645 ανίχνευσε κάπια mRNA σε Β κύτταρα του σπλήνα και της αμυγδαλής, καθώς και περιστασιακά Β κύτταρα σε μεγάλο εύρος ιστών, όπως στο μαστό, στον τράχηλο της μήτρας, στο ήπαρ, στους σιελογόνους αδένες, στους παραπνευμονικούς αδένες, στο λεπτό έντερο και στο παχύ έντερο. Θετικά για κάπια mRNA ήταν επίσης πρόδρομα Β κύτταρα στο μυελό των οστών. Επιπρόσθετη χρώση παρατηρήθηκε επίσης σε επιθηλιακά κύτταρα του θυρεοειδούς, του προστάτη, του λάρυγγα, του οισοφάγου και του ενδομητρίου, των νεφρών και σωληναρίων, σε εκκριτικά κύτταρα των επινεφριδίων και σε κύτταρα Leydig. (Συνολικός αριθμός φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 110).

Νεοπλασματικοί ιστοί

Κατά τη χρήση του PB0645 παρατηρήθηκε χρώση σε 2/6 μυελώματα πλασματοκυττάρων. Δεν παρατηρήθηκε χρώση σε διάχυτα λεμφώματα μεγάλων Β κυττάρων (0/3), λεμφώματα Τ κυττάρων (0/3), λεμφώματα Hodgkin (0/2), ένα λεμφώμα Burkitt (0/1), όγκους των πνευμόνων (0/3), όγκους του ήπατος (0/3), όγκους των ωοθηκών (0/3), όγκους του θυρεοειδούς (0/3), όγκους του οισοφάγου (0/2), όγκους του μαστού (0/2), μεταστατικούς όγκους ανώματου αιτιολογίας (0/2), όγκους του εγκεφάλου (0/2), όγκους των όρχεων (0/2), όγκους του δέρματος (0/2), έναν όγκο στο κόλον (0/1), έναν όγκο του στομάχου (0/1), έναν όγκο του ορθού (0/1), έναν όγκο του λάρυγγα (0/1) και έναν όγκο του θύμου αδένος (0/1). (Συνολικός αριθμός μη φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 44).

Το PB0645 συνιστάται για την ανίχνευση mRNA κάπια ελαφριάς αλυσίδας.

Ειδικό Περιορισμό Του Προϊόντος

Το Kappa 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 6 ενδέχεται να βοηθήσει στην ενέργεια αποκατάστασης.

Τα δείγματα εξέτασης πρέπει να συμπληρώνονται με τους κατάλληλους μάρτυρες ιστού και αντιδραστηρίων.

Για να αναφέρετε περιπτώσεις ασυνήθιστης χρώσης, επικοινωνήστε με τον τοπικό σας διανομέα ή τα περιφερειακά γραφεία 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. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. *J Exp Med.* 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. *Transplant Rev.* 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. *J Clin Pathol.* 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. 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

26 Φεβρουαρίου 2020

BOND Ready-to-Use ISH

Kappa Probe

Katalognummer: PB0645

Tilsigtet Anvendelse

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

Kappa Probe er beregnet til anvendelse ved kvalitativ identifikation af let Kappakæde-messenger-RNA (mRNA) i formalinfixeret, paraffinindstøbt væv vha. *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

Immunglobuliner er glykoproteiner produceret i modne B-celler mod et specifikt antigen. Hvert enkelt immunglobulinmolekyle består af to tunge og to lette polypeptidkæder. Der er 5 klasser af immunglobulin, der bestemmes af typen af tung kæde. Derimod er der kun 2 typer let kæde: Kappa eller lambda. Hvert enkelt immunglobulinmolekyle er sammensat af en af de fem klasser af tunge kæder og enten lette Kappa- eller lambdakæder. I normale humane lymfoide populationer er forholdet mellem lette Kappa- og lambdakæder ca. 2:1¹.

B-celle-neoplasmers menes at opstå ud fra en enkelt transformeret celle (monoklonal)². Derimod resulterer reaktive tilstande i proliferation af en del B-celler (polyklonal). Da immunglobuliner fra den samme B-celle indeholder enten lette Kappa- eller lambdakæder, kan let kæde-restriktion eller monoklonalitet anvendes til at skelne mellem reaktive og neoplastiske B-celle-proliferaationer³.

Kappa Probe anvendes sammen med Lambda Probe til detektion af antistofproducerende B-celler i formalinfixeret, paraffinindstøbt væv. Metoden er reproducerbar og bør resultere i intens brun cytoplasmatisk farvning af celler indeholdende Kappa-mRNA.

Leverede Reagenser

Kappa Probe er en fluoresceinkonjugeret oligonukleotidprobe leveret i hybridiseringsopløsning.

Totalt volumen = 5,5 ml

Fortynding og Blanding

Kappa 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-system (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Opbevaring og Stabilitet

Opbevares ved 2–8 °C. Produktet er under disse forhold stabilt frem til udløbsdatoen, der er angivet på hætteglassets 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 brugeren⁴.

Forholdsregler

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

KAPPA 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+P364: Alt tilmudset tøj tages af og vaskes inden genanvendelse.

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 forholdsregler⁵. 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

Kappa Probe er udviklet til brug for det automatiserede BOND-system (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) i kombination med Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection og BOND-hjælperreagenser. Brugere. Den anbefalede farvningsprotokol for Kappa 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 Kappa Probe.

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 vævssnit, ofte negative kontrolsteder, men dette skal verificeres af brugeren.

Negativ reagenskontrol

Brug RNA Negative Control Probe PB0809 i stedet for Kappa Probe 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 Kappa Probe på et snit af hver patientprøve for at undersøge holdbarheden af kernesyrerne og samtidig probens tilgængelighed til kernesyrerne. Hvis den RNA Positive Control Probe ikke udviser positiv farvning, må testresultatet fortolkes som ikke brugbart.

Patientvæv

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

Forventede Resultater

Normale væv

PB0645 påviste Kappa-mRNA i B-celler i milt og tonsil samt lejlighedsvis B-celle i en lang række af væv, herunder bryst, cervix, lever, spytkirtel, parotidkirtel, tyndtarm og tyktarm. Precursor-B-celler var også positive for Kappa-mRNA i knoglemarv. Yderligere farvning blev også observeret i epitelceller i thyreoidea, prostata, larynx, øsophagus og endometrium, tubuli i nyren, sekretoriske celler i binyrerne og Leydigs celler. (Samlet antal evaluerede, normale tilfælde = 110).

Tumurvæv

PB0645 farvede 2/6 plasmacellemyelomer. Der blev ikke observeret farvning i diffuse storcellet B-cellelymfomer (0/3), T-cellelymfomer (0/3), Hodgkins lymfomer (0/2), et Burkitts lymfom (0/1), lungetumorer (0/3), levertumorer (0/3), ovarietumorer (0/3), thyreoideatumorer (0/3), øsophagustumorer (0/2), brysttumorer (0/2), metastatiske tumorer af ukendt oprindelse (0/2), hjernetumorer (0/2), testikelumorer (0/2), hudtumorer (0/2), en colontumor (0/1), en mavetumor (0/1), en tumor i rectum (0/1), en tumor i larynx (0/1) og en thymustumor (0/1). (Samlet antal evaluerede, abnorme tilfælde = 44).

PB0645 anbefales til påvisning af Kappa-Igkæde-mRNA.

Produktspecifikke Begrænsninger

Kappa Probe er blevet optimeret hos Leica Biosystems til brug sammen med Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection og BOND-hjælperreagenser. 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 6 kan være til hjælp ved afhjælpende foranstaltninger.

Testprøver skal suppleres med de relevante vævs- og reagenskontroller.

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. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. *J Exp Med.* 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. *Transplant Rev.* 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. *J Clin Pathol.* 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. 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

26 februar 2020

BOND Ready-to-Use ISH

Kappa Probe

Catalogusnummer.: PB0645

Beoogd gebruik

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

Kappa Probe is bedoeld voor gebruik bij de kwalitatieve identificatie van boodschapper-RNA (mRNA) van Kappa lichte ketens 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

Immunoglobulinen zijn glycoproteïnen die in rijpe B-cellen worden geproduceerd als reactie op een specifiek antigeen.

Alle afzonderlijke immunoglobulinemoleculen bevatten twee zware en twee lichte polypeptideketens. Er zijn vijf categorieën immunoglobuline. De indeling wordt bepaald door het type zware keten. Daarentegen zijn er maar twee verschillende lichte ketens: Kappa of Lambda. Alle afzonderlijke immunoglobulinemoleculen bestaan uit één van de vijf categorieën zware ketens, en een lichte Kappaketens of lambdaketen. Bij normale humane lymfoïde populaties is de verhouding Kappaketens tot lambdaketen ongeveer 2:1. Men denkt dat B-cel neoplasma's voortkomen uit één enkele getransformeerde cel (monoklonaal)². Een reactieve status resulteert juist in woeking van meerdere B-cellen (polyklonaal). Omdat immunoglobulines van dezelfde B-cel hetzelfde lichte Kappaketens of lichte lambdaketen bevatten, kan de aanwezigheid van slechts één type lichte ketens of monoklonaliteit worden gebruikt om onderscheid te maken tussen reactieve en neoplastische B-celwoekeringen³.

Kappa Probe wordt gebruikt in combinatie met Lambda Probe voor de detectie van antilichaamproducerende B-cellen, in met formaline gefixeerd, in paraffine ingebed weefsel. De methode is reproduceerbaar en zou moeten resulteren in diepbruine cytoplasmatische kleuring van cellen die Kappa mRNA bevatten.

Geleverde reagentia

Kappa Probe is een fluoresceïne-gekoppelde oligonucleotideprobe in Hybridization Solution.

Totaal volume = 5,5 mL

Verdunnen en mengen

Kappa Probe is klaar voor gebruik. Reconstrueren, mengen, verdunnen of titreren van dit 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 het flesje 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.

Laat het product direct na gebruik weer terugkeren naar een temperatuur van 2-8 °C.

Afwijkende opslagomstandigheden moeten worden geverifieerd door de gebruiker⁴.

Voorzorgsmaatregelen

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

KAPPA 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+P364: 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 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

Kappa Probe is ontwikkeld voor gebruik op het geautomatiseerde BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem), in combinatie met Anti-Fluoresceïn Antibody en BOND Polymer Refine Detection. Het aanbevolen kleuringsprotocol voor Kappa Probe is ISH Protocol A. Het wordt aanbevolen enzymen terug te winnen met behulp van de BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1, gedurende 15 minuten.

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 een indicatie te geven dat de weefsels juist geprepareerd zijn en dat de juiste 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 cellypen 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 Kappa Probe met een coupe van ieder patiëntmonster 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 Kappa Probe met een coupe van ieder patiëntmonster 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 ongeldig worden beschouwd.

Patiëntweefsel

Bekijk patiëntmonsters gekleurd met Kappa Probe 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

PB0645 heeft mRNA van Kappaketen gedetecteerd in B-cellen van de milt en de amandelen, alsmede in enkele B-cellen in een breed scala aan weefsels, van onder meer borst, cervix, lever, speekselklier, oorspreekselklier, dunne darm en dikke darm. Ook zijn er in beenmerg voorloper-B-cellen positief getest voor mRNA van de Kappaketen. Verder is er kleuring waargenomen in epitheelcellen van schildklier, prostaat, larynx, slokdarm en endometrium, niertubuli, secretoire cellen in de bijrienen en Leydigcellen. (Totaal aantal beoordeelde normale gevallen = 110).

Tumorweefsels

PB0645 kleurde 2/6 plasmacelmyelomen. Er werd geen kleuring waargenomen in diffuse grootcellige B-cellyfomen (0/3), T-cellyfomen (0/3), Hodgkinlymfomen (0/2), Burkitt-lymfomen (0/1), longtumoren (0/3), levertumoren (0/3), ovariumtumoren (0/3), schildkliertumoren (0/3), slokdarmtumoren (0/2), borsttumoren (0/2), gemetastaseerde tumoren van onbekende oorsprong (0/2), hersentumoren (0/2), testistumoren (0/2), huidtumoren (0/2), een colontumor (0/1), een maagtumor (0/1), een rectumtumor (0/1), een tumor van de larynx (0/1) en een tumor van de thymus (0/1). (Totaal aantal beoordeelde afwijkende gevallen = 44).

PB0645 wordt aanbevolen voor de detectie van mRNA van Kappa lichte ketens.

Productspecifieke beperkingen

Kappa Probe is door Leica Biosystems geoptimaliseerd voor gebruik met Anti-Fluoresceïn Antibody, BOND Polymer Refine Detection en BOND hulpreagentia. Gebruikers die afwijken van de aanbevolen testprocedures moeten verantwoordelijkheid nemen voor interpretatie van patiëntresultaten onder deze omstandigheden. De protocollijden 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 protocollijden.

Probleemoplossing

Referentie 6 helpt mogelijk bij fouterstelling.

Testmonsters moeten worden aangevuld met het juiste weefsel en de juiste reagenscontroles. 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 labels en Algemene beperkingen, kunt u vinden in "Het gebruik van BOND reagentia" in de gebruikersdocumentatie behorende bij BOND.

Literatuurverwijzingen

1. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. *J Exp Med.* 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. *Transplant Rev.* 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. *J Clin Pathol.* 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. 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

26 februari 2020

BOND Ready-to-Use ISH

Kappa Probe

Katalognummer: No: PB0645

Tiltenkt bruk

Denne reagenten er for *in vitro* diagnostisk bruk.

Kappa Probe er beregnet for anvendelse ved kvalitativ identifisering av Kappa lettjede meldingsledd RNA (mRNA) i formalinfiksrt, parafininnstøpte vev ved *in situ* hybridisering (ISH) med det automatiske BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Den kliniske tolkningen av eventuell flekker eller fravær av slike, bør utfylles med morfologiske studier og forsvarlig kontroll og bør vurderes i sammenheng med pasientens kliniske historie og andre diagnostiske tester av en kvalifisert patolog.

Sammendrag og forklaring

Immunoglobuliner er glykoproteiner fremstilt i modne B-celler mot et spesifikt antigen.

Hver enkelt immunoglobulinmolekyl består av to tunge og to lette polypeptidkjeder. Det finnes fem klasser av immunoglobulin, bestemt av typen tung kjede. I motsetning til dette er det kun to typer lette kjeder: Kappa eller Lambda. Hver enkelt immunoglobulin molekyl er sammensatt av en av fem klasser av tunge kjeder og enten Kappa- eller Lambda lette kjeder. Blant normale humane lymfoide populasjoner er forholdet mellom Kappa til Lambda lette kjeder omtrent 2:1¹.

B-cellesulster antas å skrive seg fra en enkelt transformert celle (monoklonalt)². I motsetning til dette reaktive tilstander resulterer i spredning av et antall B-celler (polyklonale). Siden immunoglobuliner fra den samme B-celle inneholder enten Kappa- eller lambda lette kjeder, kan restriksjon av lette kjeder eller monoklonalitet kan brukes til å gjøre skillet mellom reaktive og neoplastiske B-celle proliferasjoner³.

Kappa Probe blir brukt i forbindelse med Lambda Probe for påvisning av antistoff produserende B-celler i formalinfiksrt, parafininnebygde vev. Fremgangsmåten er reproducerbar og bør resultere i intens brun cytoplasmisk farging av celler inneholdende Kappa mRNA.

Reagens som følger med

Kappa Probe er en fluorescein-konjugert oligonukleotid-sonde levert i hybridiseringsoppløsningen.

Samlet volum = 5,5 mL

Oppløsning og blanding

Kappa Probe er klar til bruk. Rekonstitusjon, blanding, fortynning eller titrering av denne reagens er ikke nødvendig.

Materialer som trengs, men som ikke følger med

Henvist til "Bruke BOND reagenser" i BOND brukerdokumentasjonen for en komplett liste over materialer som kreves for prøvebehandling og *in situ* hybridisering flekker ved hjelp av BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevar ved 2-8 ° C. Produktet er stabilt under disse forholdene opp til utløpsdatoen som er angitt på etiketten.

Det er ingen åpenbare tegn som indikerer forurensning og/eller ustabilitet. Egnede positive og negative kontroller vev skal kjøres samtidig som testvevet.

Gå tilbake til 2-8 ° C umiddelbart etter bruk.

Oppbevaringsbetingelser annet enn de som er oppgitt ovenfor må bekreftes av brukeren⁴.

Forholdsregler

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

KAPPA 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 ØYNENE: 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+P364: Ta av forurenset tøy og vask det før gjenbruk.

Kun til yrkesmessig bruk.

- For å få en kopi av HMS-databladet kontakt din lokale forhandler eller det regionale kontoret til Leica Biosystems eller alternativt, besøk Leica Biosystems Nettside. www.LeicaBiosystems.com.
- Prøver, før og etter fiksering, og alle materialer som er utsatt for dem, skal behandles som om de kan overføre smitte og avhendes med riktige forholdsregler⁵. Pipetter aldri reagenser via munnen og unngå kontakt med hud og slimhinner med reagenser eller prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med sensitive områder, vask med store mengder vann. Oppsøk medisinsk tilsyn.

- Søk råd hos føderale, statlige eller lokale forskrifter for avhending av alle potensielt giftige komponenter.
- Reduser mikrobiell forurensning av reagensene, eller en økning av ikke-spesifikk farging kan forekomme.
- Henting, inkubasjonstidene eller temperaturer enn de som er spesifisert, kan gi feilaktige resultater. Enhver slik endring skal godkjennes av brukeren.

Bruksanvisninger

Kappa 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 og BOND Polymer Refine Detection. Den anbefalte fargingsprotokollen for Kappa Probe er ISH Protocol A. Enzym gjenhenting anbefales å bruke BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1, i 15 minutter.

Passende vev- og reagenskontroller skal alltid brukes. Protokollen for vev- og reagenskontroller skal tilsvare RNA testsonden.

Kvalitetskontroll

Forskjeller i vevbehandling og tekniske prosedyrer i brukerens laboratorium kan medføre signifikant variasjon i resultatene, nødvendigvis yter interne kontroller i tillegg til følgende prosedyrer.

Positiv vevskontroll

Brukes til å angi riktig forberedt vev og riktig fargeteknikker.

En positiv vevskontroll bør inkluderes for hvert sett med testforhold i hver fargekjøring. Et vev med svakt positiv farging er mer egnet enn et vev med sterk positiv farging for optimal kvalitetskontroll og å detektere små nivåer av reagens degradering.

Negativ vevskontroll

Skal undersøkes etter den positive vev kontroll for å kontrollere spesifisiteten av merking av sonden til målet.

Alternativt kan mengden av ulike celletyper tilstede i de fleste vevseksjoner ofte tilbyr negative kontrollområder, men dette må testes og bekreftes av bruker.

Negativ reagenskontroll

Bruk RNA Negative Control Probe PB0809 i stedet for Kappa Probe med en del av hver pasientprøve for å vurdere ikke-spesifikk farging og tillate bedre tolkning av spesifikk farging på målet.

Positiv reagenskontroll

Bruk RNA Positive Control Probe PB0785 i stedet for Kappa Probe med en del av hver pasientprøve for å gi informasjon om bevaring av nukleinsyrer i vevet, så vel som tilgjengeligheten av nukleinsyrer til sonden. Hvis RNA Positive Control Probe unnlater å demonstrere positiv farging, bør resultater med prøvene anses som ugyldige.

Pasientvev

Undersøke pasient prøver farget med Kappa Probe til slutt. Positiv fargingsintensitet skal bli vurdert i sammenheng med hvilken som helst ikke-spesifikk bakgrunnsfarging av RNA Negative Control Probe PB0809.

Forventede resultater

Normalt vev

PB0645 oppdaget Kappa mRNA i B-celler i milten og mandler, så vel som sporadiske B-celler i et bredt spekter av vev inkludert bryst, livmorhals, lever, spyttkjertel, parotid-kjertel, tynntarmen og tykktarmen. Forløper B-celler var også positive for Kappa mRNA i benmargen. Ekstra farging ble også oppdaget i epitelceller i skjoldbruskkjertelen, prostata, strupehode, spiserør og endometriet, tubuli i nyrene, sekresjonscellene i binyrene og Leydig-cellene. (Totalt antall evaluerte normale tilfeller = 110).

Tumorvev

PB0645 farget 2/6 plasmacellemyelomer. Ingen farging ble sett i diffuse store B-cellelymfom (0/3), T-cellelymfom (0/3), Hodgkins lymfom (0/2), en Burkitt lymfom (0/1), lungesvulster (0/3), leversvulster (0/3), ovarietumorer (0/3), skjoldbruskkjertelsvulster (0/3), spiserørsvulster (0/2), brystsvulster (0/2), metastatiske svulster med ukjent opprinnelse (0/2), hjernetumorer (0/2), testikkelsvulster (0/2), hudtumorer (0/2), et kolon tumor (0/1), et magetumor (0/1), et rektal tumor (0/1), en svulst i strupehodet (0/1), og et tumor av thymus (0/1). (Totalt antall evaluerte unormale tilfeller = 44).

PB0645 anbefales for oppdagelse av Kappa lyskjede mRNA.

Produktspesifikke begrensninger

Kappa Probe har blitt optimalisert på Leica Biosystems for bruk med Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection og BOND ekstra reagenser. Brukere som avviker fra anbefalte testprosedyrer må ta ansvar for tolkning av pasient resultater under disse omstendighetene. Protokollen kan variere på grunn av variasjoner i vev fiksering og effektiviteten av enzymatisk oppslutning, og må bestemmes empirisk. RNA Negative Control Probe bør brukes når du optimaliserer gjenfinningsforhold og protokoll flere ganger.

Feilsøking

Referanse 6 kan hjelpe i forbedringstiltak.

Testprøver skal utfylles av faktiske vev- og reagenskontroller. Kontakt din lokale forhandler eller regionale kontor for Leica Biosystems for rapportering av uvanlige flekker.

Videre informasjon

Ytterligere informasjon om *in situ* hybridisering med BOND reagenser, under overskriftene Prinsippet om prosedyren, materialer som er nødvendige, forberedelse, kvalitetskontroll, analysebekreftelse, Tolkning av farging, nøkkel til symboler på etiketter, og generelle begrensninger kan bli funnet i "Bruke BOND-reagenser" i din BOND brukerdokumentasjon.

Referanser

1. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. *J Exp Med.* 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. *Transplant Rev.* 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. *J Clin Pathol.* 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. 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

26 februar 2020

BOND Ready-to-Use ISH

Kappa Probe

Katalog No: PB0645

Kullanım Amacı

Bu reaktif, *in vitro* tanı kullanımı içindir.

Kappa 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 gömülü dokudaki Kappa hafif zincir haberci RNA'sının (mRNA) kalitatif tanımlanmasında kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

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

Özet ve Açıklama

İmmünglobulinler olgun B-hücrelerinde spesifik bir antijene karşı üretilen glikoproteinlerdir.

Her immünglobulin molekülü iki ağır ve iki hafif polipeptit zincirinden meydana gelir. Ağır zincir tipine göre belirlenen beş immünglobulin sınıfı vardır. Bunun aksine, sadece iki hafif zincir tipi vardır: Kappa veya Lambda. Her immünglobulin molekülü beş ağır zincir sınıfı ve ya Kappa ya da Lambda hafif zincirlerinden meydana gelir. Normal insan lenfoid popülasyonlarında Kappa/Lambda hafif zincir oranı yaklaşık olarak 2:1¹'dir.

B-hücreli neoplazmaların tek bir dönüştürülmüş hücreden (monoklonal) doğduğu düşünülmüştür². Bunun aksine, reaktif durumlar birden fazla B-hücresinin proliferasyonu (poliklonal) ile sonuçlanır. Aynı B-hücresinden gelen immünglobulinler Kappa veya Lambda hafif zincirlerini içerdiği için hafif zincir kısıtlaması veya monoklonallık reaktif ve neoplastik B hücreli proliferasyonları arasında ayırım yapmak için kullanılabilir³. Kappa Probe, Lambda Probe'u ile birlikte, antikor üreten formalinde fikse edilmiş parafine gömülü

B-hücrelerini saptamak için kullanılır. Yöntem tekrarlanabilir ve Kappa mRNA'sını transkriptlerini içeren hücrelerin yoğun, kahverengi sitoplazmik boyaması ile sonuçlanmalıdır.

Sağlanan Reaktifler

Kappa Probe hibridizasyon çözeltisi içinde temin edilen fluoresein-konjuge oligonükleotid probdur.

Toplam hacim = 5,5 mL

Seyreltme ve Karıştırma

Kappa Probe kullanıma hazırdır. Bu reaktifin sulandırılması, karıştırılması, seyreltilmesi 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 Stabilite

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 doğrulanmalıdır⁴.

Önlemler

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

KAPPA PROBE

Formamid (<50%) İçeriyor ve

dekstran sülfat (<30%).

GHS07: Ünllem isareti.

GHS08: Sağlık tehlikesi.

Isaret kelimesi: Tehlike.

H360D: Anne karnında

çocuğa 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 etkilene 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: CILT İLE TEMAS HALİNDE: Bol miktarda su ve sabunla yıkayınız.

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

P362+P364: Kontamine olmuş giysileri 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 edilmelidir⁶. Reaktifleri hiçbir zaman ağızınızla 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

Kappa Probe, Anti-Fluorescein Antibody ve Polymer Refine Detection ile kombinasyon halinde otomatik BOND sistemi üzerinde kullanılmak (Leica BOND-MAX sistemini ve Leica BOND-III sistemini de içermektedir) için geliştirilmiştir. Kappa Probe için önerilen boyama protokolü ISH Protocol A'dır. BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 kullanılarak 15 dakika boyunca enzim geri alımı 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 Kappa Probe 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 Kappa Probe 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 Kappa Probe ile boyanmış hasta numunelerini inceleyin. Pozitif boyama yoğunluğu şu probun spesifik olmayan arka plan boyamaya bağlamında değerlendirilmelidir: RNA Negative Control Probe PB0809.

Kullanım Talimatları

Normal Dokular

PB0645 dalak ve tonsilde B-hücrelerinde ve göğüs, serviks, karaciğer, tükürük bezi, parotis bezi, ince bağırsak ve kalın bağırsak gibi çok sayıda dokuda nadir görülen B-hücresindeki Kappa mRNA'yı saptamıştır. Prekürsör B-hücreleri aynı zamanda kemik iliğinde Kappa mRNA için pozitifdir. Tiroid epitelyal hücreleri, prostat, larinks ve özofagus ve endometriyum, böbrek tübülleri, böbreküstü bezlerindeki salgı hücreleri ve Leydig hücrelerinde de ek boyama görülmüştür. (Değerlendirilen toplam normal vaka sayısı = 110).

Tümörleri Dokular

PB0645 2/6 plazma hücresi miyelomlarını boyamıştır. B-hücreli lenfomalar (0/3), T-hücreli lenfoma (0/3), Hodgkin lenfomaları (0/2), Burkitt lenfoması (0/1), akciğer tümörleri (0/3), karaciğer tümörleri (0/3), overyen tümörler (0/3), tiroid tümörleri (0/3), özofagus tümörleri (0/2), göğüs tümörleri (0/2), bilinmeyen nedenden meydana gelen metastatik tümörler (0/2), beyin tümörleri (0/2), testiküler tümörler (0/2), cilt tümörleri (0/2), kolon tümörü (0/1), mide tümörü (0/1), rektal tümör (0/1), larinks tümörü (0/1) ve timus tümöründe (0/1) boyama gözlemlenmemiştir. (Değerlendirilen toplam normal olmayan vaka sayısı = 44).

PB0645 Kappa hafif zincir mRNA'nın saptanması için tavsiye edilir.

Ürüne Özgü Sınırlamalar

Kappa 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 sonuçların yorumlanması ile ilgili sorumluluğu üstlenmelidir. Protokol süreleri doku fiksasyonundaki varyasyon ve enzimatik sindirimin etkililiği nedeniyle farklılık gösterebilir ve ampirik olarak belirlenmelidir. RNA Negative Control Probe geri alma koşulları ve protokol süreleri optimize edilirken kullanılmamalıdır.

Sorun Giderme

Referans 6 sorunların giderilmesinde faydalı olabilir.

Test numuneleri uygun doku ve reaktif kontrolleri ile tamamlanmalıdır. 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 verilmiştir.

Referanslar

1. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. *J Exp Med.* 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. *Transplant Rev.* 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. *J Clin Pathol.* 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. 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

26 Şubat 2020

BOND Ready-to-Use ISH

Карпа Probe

Каталожен №: PB0645

Предназначение

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

Карпа Probe е предназначен за качествена идентификация на матрична РНК (мРНК) с лека верига тип капа 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

Имуноглобулините са гликопротеини, произведени от зрели В-клетки срещу конкретен антиген. Всяка отделна молекула на имуноглобулин се състои от две тежки и две леки полипептидни вериги. Съществуват пет класа имуноглобулини, определени от типа тежка верига. За разлика от тях съществуват само два типа леки вериги: капа или ламбда. Всяка отделна молекула на имуноглобулин се състои от един до пет класа тежки вериги и капа или ламбда леки вериги. При нормални човешки лимфоидни популации, съотношението на капа към ламбда леки вериги е приблизително 2:1¹.

Счита се, че В-клетъчните неоплазми произлизат от единична трансформирана клетка (моноклонална)². Обратно, реактивните състояния водят до пролиферация на редица В-клетки (поликлонални). Тъй като имуноглобулините от същите В-клетки съдържат или лека верига тип капа, или лека верига тип ламбда, може да се използва рестрикция на леката верига или моноклоналност, за да се направи разграничение между пролиферация на реактивни и неопластични В-клетки³.

Карпа Probe се използва в съчетание с Lambda Probe за откриване на продуциращи антитела В-клетки във фиксирана с формалин, вградена в парафин тъкан. Методът е възпроизводим, а очакваният резултат е наситено кафяво оцветяване на цитоплазмата на клетките, съдържащи мРНК с лека верига тип капа.

Предоставени реактиви

Карпа Probe е конюгирана с флуоресцин олигонуклеотидна проба, доставена в разтвор за хибридизация.

Общ обем = 5,5 mL

Разреждане и смесване

Карпа Probe е готов за употреба. Не се изисква възстановяване, смесване, разреждане или титриране на този реактив.

Необходими, но не предоставени материали

Вижте „Употреба на реактиви BOND“ във Вашата документация за потребителя на BOND за пълния списък с 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

Да се съхранява при температура 2 – 8°C. Продуктът е стабилен при тези условия до изтичане на срока на годност, указан на етикета на флакона.

Не са налице очевидни признаци, указващи замърсяване и/или нестабилност. Съответните позитивни и негативни тъкани 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 потребителя⁴.

Предпазни мерки

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

KAPPA 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+P364: Свалете замърсеното облекло и го изперете преди повторна употреба.
Само за професионална употреба.

- За да получите копие на информационния лист за безопасност на материалите, се свържете с Вашия местен дистрибутор или регионален офис на Leica Biosystems, или посетете уеб сайта на Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com.
- Спесимените преди и след фиксация, както и всички материали, изложени на тяхното влияние, трябва да бъдат третираны като способни да предадат инфекция и да бъдат изхвърлени, прилагайки съответните предпазни мерки¹. Никога не пипетирайте реактиви с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реактиви или спесимени. В случай че реактиви или спесимени влязат в контакт с чувствителни зони, да се измият 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, иначе 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

Карпа 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 и BOND Polymer Refine Detection. Препоръчителният протокол за оцветяване за Карпа Probe е ISH Protocol A. Препоръчва се извличане на ензими в продължение на 15 минути с помощта на BOND Enzyme Pretreatment 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 реактива.

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 тъканни срези, често предлага места за негативна контрола, но това трябва да се провери от потребителя.

Негативна контрола на реактива

Използвайте RNA Negative Control Probe PB0809 вместо Карпа Probe 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 реактива

Използвайте RNA Positive Control Probe PB0785 вместо Капа Probe 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

Спесимените на пациенти, оцветени с Капа Probe, трябва да се изследват последни. 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

PB0645 открива мРНК с лека верига тип капа в В-клетките на далака и тонзилите, както и случайните В-клетки в широк набор от тъкани, включително от млечната жлеза, цервикса, черния дроб, слюнчената жлеза, паротидната жлеза, тънките черва и дебелото черво. Прекурсорните В-клетки също дават позитивен резултат за капа мРНК в костния мозък. Допълнително оцветяване също се наблюдава при епителни клетки на щитовидната жлеза, простатата, ларинкса, хранопровода и ендометриума, бъбречните каналчета, секреторните клетки в надбъбречната жлеза и клетките на Лайдиг. (Общ брой на оценените нормални случаи = 110).

Абнормни тъкани

PB0645 оцветява 2/6 плазменоклетъчни миеломи. Не се наблюдава оцветяване при дифузни големи В-клетъчни лимфоми (0/3), Т-клетъчни лимфоми (0/3), лимфоми на Ходжкин (0/2), лимфом на Бържит (0/1), белодробни тумори (0/3), тумори на черния дроб (0/3), тумори на яйчиците (0/3), тумори на щитовидната жлеза (0/3), тумори на хранопровода (0/2), тумори на млечната жлеза (0/2), метастатични тумори с неизвестна етиология (0/2), мозъчни тумори (0/2), тумори на тестисите (0/2), кожни тумори (0/2), тумор на ободното черво (0/1), тумор на стомаха (0/1), ректален тумор (0/1), тумор на ларинкса (0/1) и тумор на тимуса (0/1). (Общ брой на оценените абнормни случаи = 44).

PB0645 се препоръчва за откриване на мРНК с лека верига тип капа.

Специфични ограничения на продукта

Капа Probe е оптимизиран от Leica Biosystems за употреба с Anti-Fluorescein Antibody, BOND Polymer Refine Detection и спомогателни 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 определя емпирично. Трябва да се използва RNA Negative Control Probe при оптимизиране на условията на извличане и времетраенето на протоколите.

Отстраняване на неизправности

Референция 6 може да подпомогне при коригиращи действия.

Тестовите проби трябва да бъдат допълнени от подходящите контроли на тъкани и реактиви.

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* хибридизация с реактиви BOND можете да намерите в „Употреба на реактиви 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. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. *J Exp Med*. 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. *Transplant Rev*. 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. *J Clin Pathol*. 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: *In situ Hybridization A practical approach*. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Дата на издаване

26 Февруари 2020

BOND Ready-to-Use ISH

Kappa Probe

Katalógusszám: PB0645

Alkalmazási terület

Ez a reagens *in vitro* diagnosztikai használatra szolgál.

A Kappa Probe próba a kappa könnyűlánc messenger RNS (mRNS) kvalitatív azonosítására szolgál formálisan 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 immunglobulinok egy specifikus antigén ellen az érett B-sejtekben termelődő glikoproteinek. Minden egyes immunglobulin-molekula két nehéz és két könnyű polipeptidláncból áll. A nehézlánc típusa alapján öt immunglobulin-osztály létezik. Ezzel szemben csupán két könnyűlánc-típus létezik: kappa vagy lambda. Minden egyes immunglobulin-molekula az öt nehézlánc-osztály valamelyikéből és kappa vagy lambda könnyűláncokból áll. A normál humán limfoid populációkban a kappa és lambda könnyűláncok aránya hozzávetőleg 2:1¹.

Azt feltételezik, hogy a B-sejtes daganatok egyetlen transzformált sejtől alakulnak ki (monoklonálisak)². Ezzel szemben a reaktív állapotok számos B-sejt proliferációját okozzák (poliklonálisak). Mivel az azonos B-sejtből származó immunglobulinok csak kappa vagy csak lambda könnyűláncot tartalmaznak, a könnyűlánc-restrikció vagy monoklonalitás felhasználható a reaktív és neoplasztikus B-sejt proliferációk elkülönítésére³.

A Kappa Probe próba a Lambda Probe próbával együtt alkalmazva az antitest-termelő B-sejtek kimutatására szolgál formálisan fixált, paraffinba ágyazott szövetben. A módszer reprodukálható, és intenzív, barna citoplazmikus festődést eredményez a kappa mRNS-t tartalmazó sejtekben.

Biztosított reagens

A Kappa Probe egy hibridizáló oldatban található, fluoreszcenciával konjugált oligonukleotid próba.

Teljes mennyiség = 5,5 ml

Hígítás és elegyítés

A Kappa 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 reagens használat” című részében.

Tárolás és stabilitás

2–8 °C-on tárolandó. A termék ilyen körülmények között az üveg 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 kell⁴.

Óvintézkedések

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

KAPPA 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 óvintézkedést el nem olvasta és meg nem értette.

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

P308+P313: 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+P364: A szennyezett ruhadarabot le kell vetni és újbóli használat előtt ki kell mosni.

Kizárólag szakemberek általi használatra.

- 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 ártalmatlanítani⁶. 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

A Kappa Probe próba automata BOND rendszerrel (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel) és az Anti-Fluorescein Antibody antitesttel és a BOND Polymer Refine Detection kittel való együttes használatra lett kifejlesztve. A Kappa 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.

Poszítív szövetkontroll

A megfelelő szövet-előkészítés és festési technikák ellenőrzésére használatos.

Minden tesztelési körülményegüttes 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 specifikitását 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 a Kappa Probe próba helyett alkalmazza az RNA Negative Control Probe PB0809 készítményt minden betegminta esetén egy metszetenél.

Poszítív reagenskontroll

A nukleinsavak szöveti megtartottságával, valamint a nukleinsavak próba általi hozzáférhetőségével kapcsolatos információk szerzéséhez a Kappa Probe 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

A Kappa Probe 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 PB0645 kimutatta a kappa mRNS-t a lép és a tonsilla B-sejtjeiben, valamint az alábbi szövetek elszört B-sejtjeiben: emlő, méhnyak, máj, nyálmirigy, fültőmirigy, vékonybél és vastagbél. A prekursor B-sejtek szintén pozitívak voltak kappa mRNS-re a csontvelőben.

További festődés volt észlelhető a pajzsmirigy, prosztata, gége, nyelőcső és endometrium hámszejtjei, a vesetubulusok, a mellkésvesék szekretoros sejtjei és a Leydig-sejtek esetén. (Vizsgált normál esetek összesített száma = 110).

Kóros szövetek

A PB0645 a 6 plazmaszajtes mielóma közül 2-t festett meg. Nem volt festődés észlelhető diffúz nagy B-sejtes limfómák (0/3), T-sejtes limfómák (0/3), Hodgkin-limfómák (0/2), a Burkitt-limfóma (0/1), tüdődaganatok (0/3), májdaganatok (0/3), petefészek-daganatok (0/3), pajzsmirigydaganatok (0/3), nyelőcsődaganatok (0/2), emlődaganatok (0/2), ismeretlen eredetű metasztatikus daganatok (0/2), agydaganatok (0/2), heredaganatok (0/2), bőrdaganatok (0/2), vastagbél-daganat (0/1), gyomordaganat (0/1), végbél-daganat (0/1), gégedaganat (0/1) és a csecsemőmirigy tumora (0/1) esetén. (Vizsgált kóros esetek összesített száma = 44).

A PB0645 a kappa könnyűlánc mRNS detektálására ajánlott.

Termékspecifikus korlátozások

A Kappa 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 6. számú hivatkozás segíthet a javító intézkedéseket illetően.

A vizsgálandó mintákat a megfelelő szövet- és reagenskontrollokkal kell kiegészíteni.

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. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. *J Exp Med.* 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. *Transplant Rev.* 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. *J Clin Pathol.* 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. 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

26 február 2020

BOND Ready-to-Use ISH

Kappa Probe

Nr. catalog: PB0645

Utilizare prevăzută

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

Kappa Probe este prevăzută pentru utilizare în identificarea calitativă a mesagerului Kappa cu catenă ușoară RNA (mRNA) în țesut fixat cu formalină și încorporat în parafină, prin hibridizare *in situ* (ISH) utilizând sistemul automatizat BOND (include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III).

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

Rezumat și explicație

Imunoglobulinele sunt glicoproteine produse în celulele B mature împotriva unui antigen specific. Fiecare moleculă individuală de imunoglobulină cuprinde două lanțuri grele și două ușoare de polipeptide. Există cinci clase de imunoglobuline, determinate de tipul lanțului greu. Prin contrast, există numai două tipuri de lanț ușor: Kappa sau Lambda. Fiecare moleculă individuală de imunoglobulină se compune din una din cinci clase de lanțuri grele și lanțuri ușoare Kappa sau Lambda. În populații limfoide umane normale, raportul între lanțurile ușoare Kappa și Lambda este de aproximativ 2:1¹.

Se consideră că neoplasmul celulelor B provin de la o singură celulă transformată (monoclonale)². Prin contrast, stările reactive duc la proliferarea unui număr de celule B (policonale). Întrucât imunoglobulinele de la aceeași celulă B conțin catene ușoare Kappa sau Lambda, restricția de catenă ușoară sau monoclonalitatea pot fi utilizate pentru a distinge între proliferări de celule B reactive și neoplazice B³.

Kappa Probe este utilizată împreună cu Lambda Probe pentru detectarea celulelor B producătoare de anticorpi în țesut fixat cu formalină și încorporat în parafină. Metoda este reproductibilă și ar trebui să ducă la o colorație nucleară intensă cafenie a celulelor care conțin Kappa mRNA.

Reactivi furnizați

Kappa Probe este o probă de oligonucleotide conjugată cu fluoresceină furnizată în soluție de hibridizare.

Volum total = 5,5 ml.

Diluare și amestecare

Kappa 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 flaconului.

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 utilizator⁴.

Precauții

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

KAPPA PROBE

Conține formamidă (<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/îmbrăcăminte 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+P364: Scoateți îmbrăcăminte contaminată și spălați

înainte de reutilizare

Numai pentru utilizatori profesioniști.

- Pentru a obține o copie a fișei tehnice de securitate a materialului, 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 adecvate[®]. 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 la deșeuri a oricăror componente cu potențial toxic.
- Reduceți la minimum contaminarea microbiană a reactivilor, în caz contrar poate apărea o creștere a colorației nespecifice.
- Timpii sau temperaturile de recuperare, incubație care diferă de valorile specificate pot genera rezultate eronate. Orice astfel de modificare trebuie validată de către utilizator.

Instrucțiuni de utilizare

Kappa 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 Kappa 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

Folosit 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 colorație pozitivă slabă este mai adecvat decât un țesut cu colorație 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 Kappa Probe 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 Kappa Probe 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 speciemenele testate trebuie considerate nevalide.

Țesutul pacientului

Examinați speciemenle pacientului colorate cu Kappa Probe ultimele. Intensitatea colorației pozitive trebuie evaluată în contextul oricărei colorații de fundal nespecifice a RNA Negative Control Probe PB0809.

Rezultate așteptate

Țesuturi normale

PB0645 a detectat Kappa mRNA în celule B în splină și amigdale, precum și ocazional celule B într-o varietate de țesuturi care includ țesuturi mamară, de col uterin, hepatice, ale glandelor salivare, glandei parotide, intestinului subțire și intestinului gros. Celulele B precursoră au fost de asemenea pozitive pentru Kappa mRNA în măduva osoasă. A fost de asemenea detectată o colorare vagă suplimentară în celulele epiteliale ale tiroidei, prostatei, laringelui, esofagului și endometrului, ale tubulelor renale, celulelor secretoare din glandele suprarenale și celulele Leydig. (Numărul total al cazurilor normale evaluate = 110).

Țesuturi anormale

PB0645 a detectat 2/6 mioame ale celulelor plasmatică. Nu s-a observat colorare la limfoame difuze cu celule B mari (0/3), limfoame cu celule T (0/3), limfoame Hodgkin (0/2), un limfom Burkitt (0/1), tumori pulmonare (0/3), tumori hepatice (0/3), tumori ovariene (0/3), tumori tiroidiene (0/3), tumori esofagiene (0/2), tumori mamară (0/2), tumori metastatice de origine necunoscută (0/2), tumori cerebrale (0/2), tumori testiculare (0/2), tumori de piele (0/2), o tumoră de colon (0/1), o tumoră gastrică (0/1), o tumoră rectală (0/1), o tumoră a laringelui (0/1) și o tumoră a timusului (0/1). (Numărul total al cazurilor anormale evaluate = 44).

PB0645 este recomandat pentru detectarea mRNA cu catenă ușoară Kappa.

Restricții specifice produsului

Kappa 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 enzimatică, și trebuie să fie determinată empiric. Atunci când se optimizează condițiile de recuperare și timpii protocolului trebuie utilizată RNA Negative Control Probe.

Rezolvarea problemelor

Referința 6 poate ajuta la acțiunile de remediere.

Eșantioanele de test trebuie completate cu țesuturi și reactivi de control adecvați.

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. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. *J Exp Med.* 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. *Transplant Rev.* 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. *J Clin Pathol.* 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. 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

26 februarie 2020

BOND Ready-to-Use ISH

Kappa Probe

Номер по каталогу: PB0645

Назначение

Этот реактив предназначен для диагностики *in vitro*.

Зонд Kappa Probe предназначен для использования в рамках качественного определения матричной РНК (мРНК) легких каппа-цепей в фиксированных формалином и залитых в парафин образцах тканей путем гибридизации *in situ* (in situ hybridization (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

Иммуноглобулины представляют собой гликопротеины, которые образуются в зрелых В-клетках в ответ на специфический антиген. Каждая отдельная молекула иммуноглобулина состоит из двух тяжелых и двух легких полипептидных цепей. Существует пять классов иммуноглобулинов, которые определяются типом тяжелой цепи. Напротив, существует только два типа легких цепей: Каппа или Лямбда. Каждая отдельная молекула иммуноглобулина состоит из тяжелых цепей, представляющих один из пяти классов, и легких цепей либо Каппа, либо Лямбда. В нормальной лимфоидной популяции человека соотношение легких цепей Каппа и Лямбда составляет приблизительно 2:1¹.

Считается, что новообразования В-клеток возникают из единственной трансформированной клетки (моноклональной)². Напротив, реактивные состояния приводят к пролиферации ряда В-клеток (поликлональных). Поскольку иммуноглобулины из той же В-клетки содержат либо легкие цепи Каппа или Лямбда, можно использовать ограничение или моноклональность легкой цепи, чтобы провести различие между реактивными и неопластическими пролиферациями В-клеток³.

Kappa Probe используют в сочетании с Lambda Probe для обнаружения антител, продуцирующих В-клетки в фиксированных формалином и залитых в парафин образцах тканей. Данный метод является воспроизводимым и должен приводить к интенсивному, коричневому цитоплазматическому окрашиванию клеток, содержащих мРНК Каппа.

Реактивы, входящие в комплект поставки

Kappa Probe представляет собой конъюгированный с флуоресцеином олигонуклеотидный зонд, поставляемый в растворе для гибридизации.

Общий объем = 5,5 мл

Разведение и смешивание

Kappa 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 иммуногистохимического окрашивания *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 флакона.

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 пользователем⁴.

Меры предосторожности

- Этот продукт предназначен для диагностики *in vitro*.

KAPPA PROBE

Содержит формамид (Formamide) (<50 %) и сульфат декстрана (Dextran Sulphate) (<30 %).
GHS07: Воспламеняющийся 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+P364: Снимите загрязненную одежду и вымойте ее 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 способными к передаче инфекции и утилизировать, соблюдая соответствующие меры предосторожностей⁶. 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

Карра Probe был разработан для использования в автоматизированной системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica) в сочетании с антителами к флуоресцентину Anti-Fluorescein Antibody и системой обнаружения BOND Polymer Refine Detection. Рекомендуемым протоколом иммуногистохимического окрашивания для Карра 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 проведение 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 дегградации реактива более подходит ткань со слабым положительным окрашиванием, чем ткань с сильным положительным окрашиванием.

Отрицательный контроль ткани

Это испытание следует выполнять после исследования ткани, используемой в качестве положительного контроля с тем, чтобы верифицировать специфичность маркирования зонда относительно цели.

Кроме того, разнообразные типы 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 Карра Probe, предназначенного для испытаний, используйте RNA Negative Control Probe PB0809 (РНК PB0809, который служит в качестве отрицательного контроля).

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 зонда Карра Probe, предназначенного для испытаний, используйте RNA Positive Control Probe PB0785, который служит в качестве положительного контроля. Если RNA Positive Control Probe (PHK-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 зонда Карра Probe, в последнюю очередь. Интенсивность положительного окрашивания следует оценивать в контексте любого неспецифического фонового окрашивания RNA Negative Control Probe PB0809 (PHK-зонда, являющегося отрицательным контролем PB0809).

Ожидаемые результаты

Нормальные ткани

PB0645 обнаруживает мРНК Каппа в В-клетках селезенки и миндалина, а также случайные В-клетки в широком диапазоне изучаемых тканей, включая грудную молочную железу, шейку матки, печень, слюнную железу, окологлазную железу, тонкую кишку и толстую кишку. В-клетки-предшественники также показали положительный результат для мРНК Каппа в костном мозге. Дополнительное окрашивание можно обнаружить в эпителиальных клетках щитовидной железы, простаты, гортани, пищевода и эндометрия, канальцев почек, секреторных клетках надпочечников, а также клетках Лейдига. (Общее число исследованных нормальных тканей = 110).

Патологически измененные ткани

PB0645 окрашивал в 2/6 случаев миелом — опухолей из плазматических клеток. Окрашивания не наблюдалось при следующих патологических состояниях: диффузные крупноклеточные В-лимфоцитарные лимфомы (0/3), Т-клеточные лимфомы (0/3), лимфомы Ходжкина (0/2), лимфомы Бёркитта (0/1), опухоли легкого (0/3), опухоли печени (0/3), опухоли яичников (0/3), опухоли щитовидной железы (0/3), опухоли пищевода (0/2), опухоли молочной железы (0/2), метастатические опухоли неизвестного происхождения (0/2), опухоли головного мозга (0/2), опухоли яичка (0/2), опухоли кожи (0/2), опухоли толстой кишки (0/1), опухоли желудка (0/1), опухоли прямой кишки (0/1), опухоли гортани (0/1) и опухоли тимуса (0/1). (Общее число исследованных патологически измененных образцов = 44).

PB0645 рекомендуется использовать для обнаружения мРНК легких каппа-цепей.

Ограничения, специфичные для этого продукта

Зонд Карра 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 (PHK-зонд, выполняющий функции отрицательного контроля).

Поиск и устранение неполадок

Источник (6) может помочь в принятии мер по устранению неполадок.

Исследуемые образцы необходимо дополнить соответствующими тканями и реактивами, использующимися в качестве контроля.

С сообщениями о необычном окрашивании обращайтесь к своему местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems.

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. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. J Exp Med. 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. Transplant Rev. 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. J Clin Pathol. 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. 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

26 Февраль 2020

BOND Ready-to-Use ISH

Kappa Probe

Nr katalogowy: PB0645

Przeznaczenie

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

Preparat Kappa Probe jest przeznaczony do ilościowego oznaczania informacyjnego RNA (mRNA) łańcuchów lekkich kappa 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. Ocenę powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

Podsumowanie i objaśnienie

Immunoglobuliny to glikoproteiny wytwarzane w dojrzałych limfocytach B przeciwko specyficznemu antygenowi. Każda pojedyncza cząsteczka immunoglobuliny zawiera dwa ciężkie i dwa lekkie łańcuchy polipeptydowe. Istnieje pięć klas immunoglobulin, określonych według rodzaju łańcucha ciężkiego. Z kolei istnieją tylko dwa rodzaje łańcucha lekkiego: Kappa lub Lambda. Każda pojedyncza cząsteczka immunoglobuliny składa się z jednej z pięciu klas łańcuchów ciężkich i lekkich łańcuchów Kappa lub Lambda. W normalnych ludzkich populacjach komórek limfoidalnych stosunek łańcuchów lekkich Kappa do Lambda wynosi w przybliżeniu 2:1.

Uważa się, że nowotwory z limfocytów B powstają z pojedynczej transformowanej komórki (monoklonalnej)². Natomiast stany reaktywne powodują proliferację wielu limfocytów B (poliklonalnych). Ponieważ immunoglobuliny z tego samego limfocyta B zawierają łańcuchy lekkie kappa lub lambda, w celu odróżnienia proliferacji reaktywnych i neoplastycznych limfocytów B można zastosować ograniczenie łańcucha lekkiego lub monoklonalność³.

Preparat Kappa Probe jest używany w połączeniu z Lambda Probe do wykrywania limfocytów B wytwarzających przeciwciała w utrwalonej w formalinie tkance zatopionej w parafinie. Metoda jest powtarzalna i jej efektem powinno być intensywne, brązowe barwienie jądra komórkowego zawierającego mRNA kappa.

Odczynniki znajdujące się w zestawie

Kappa Probe to skoniugowana z fluoresceiną sonda oligonukleotydoma dostarczana w roztworze do hybrydyzacji.

Łączna objętość = 5,5 ml

Rozcieńczanie i mieszanie.

Preparat Kappa 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 do upływu daty ważności podanej na etykiecie fiolki.

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 użytkownika⁴.

Środki ostrożności

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

KAPPA PROBE

Zawiera formamid (<50%) i siarczan dekstranu (<30%).
GHS07: Wykrzyknik.
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/zgłosić się pod opiekę lekarza.
P314: W przypadku złego samopoczucia zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
P264: Dokładnie umyć ręce po użyciu.
P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.
P305+351+338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: 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/zgłosić się pod opiekę lekarza.
P302+352: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Przemycić dużą ilością wody z mydłem.
P332+313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
P362+P364: Zdejmij zanieczyszczoną odzież i umyj ją 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 preparatami przed utrwaleniem i po utrwaleniu, 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.⁵ 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 Kappa Probe został opracowany z myślą o zastosowaniu w automatycznym systemie BOND (obejmującym systemy Leica BOND-MAX i Leica BOND-III) w połączeniu z Anti-Fluorescein Antibody oraz BOND Polymer Refine Detection. Zalecany protokół barwienia dla Kappa Probe to ISH Protocol A. Zalecane jest odzyskiwanie 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.

Ewentualnie 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 Kappa Probe 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 Kappa Probe 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 pobrane od pacjenta barwione Kappa Probe należy badać jako ostatnie. Intensywność barwienia pozytywnego należy oceniać w kontekście ewentualnego niespecyficznego barwienia tła odczynnika RNA Negative Control Probe PB0809.

Oczekiwane wyniki

Tkanki prawidłowe

PB0645 wykrył mRNA kappa w limfocytach B w śledzionie i migdałkach, a także pojedyncze limfocyty B w szerokim zakresie tkanek, w tym sutka, szyjki macicy, wątroby, gruczołu ślinowego, ślinianki przyusznej, jelita cienkiego i jelita grubego. Prekursor limfocytów B był również dodatni dla mRNA Kappa w szpiku kostnym. Dodatkowe wybarwienie zaobserwowano w komórkach nabłonka tarczycy, prostaty, krtani, przełyku i endometriem, kanałkach nerkowych, komórkach wydzielniczych w nadnerczach i komórkach Leydiga. (Łączna liczba ocenionych prawidłowych przypadków = 110).

Tkanki patologiczne

PB0645 zabarwiło 2/6 szpiczaki plazmocytowe. Nie stwierdzono barwienia rozlanych chłoniaków z dużych limfocytów B (0/3), chłoniaków z limfocytów T (0/3), chłoniaków nieziarniczych (0/2), chłoniaków Burkitta (0/1), guzów płuc (0/3), guzów wątroby (0/3), guzów jajnika (0/3), guzów tarczycy (0/3), guzów przełyku (0/2), guzów sutka (0/2), guzów przerzutowych o nieznanym pochodzeniu (0/2), guzów mózgu (0/2), guzów jąder (0/2), nowotworów skóry (0/2), guzów okrężnicy (0/1), guzów żołądka (0/1), guza odbytnicy (0/1), guza krtani (0/1) ani guza grasicy (0/1). (Łączna liczba ocenionych nieprawidłowych przypadków = 44).

Zaleca się stosowanie PB0645 do wykrywania mRNA łańcucha lekkiego kappa.

Szczegółne ograniczenia dla produktu

Preparat Kappa 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 różnicowaniem w zakresie utrwalenia tkanek i skuteczności trawienia enzymatycznego - należy je określić doświadczalnie. Podczas optymalizacji warunków odmaskowywania i czasów protokołu należy stosować RNA Negative Control Probe.

Rozwiązywanie problemów

Odnosiń 6 może być pomocny w podejmowaniu działań zaradczych.

Próbki testowe należy uzupełnić odpowiednimi kontrolami tkanek i odczynników.

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

Dodatkowe informacje

Dodatkowe informacje dotyczące hybridyzacji *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. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. J Exp Med. 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. Transplant Rev. 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. J Clin Pathol. 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. 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

26 lutego 2020

BOND Ready-to-Use ISH

Kappa Probe

Katalogška št.: PB0645

Predvidena uporaba

Ta reagent je namenjen diagnostični uporabi *in vitro*.

Sonda Kappa Probe je namenjena uporabi pri kvalitativni identifikaciji lahkega prenosnika RNA (mRNA) Kappa 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 dopoljevati morfološke študije in ustrezni kontrolni vzorci, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

Povzetek in razlaga

Imunoglobulini so glikoproteini, ki nastajajo v odraslih celicah B proti specifičnemu antigenu. Vsaka molekula imunoglobulina je sestavljena iz dveh težkih in dveh lahkih polipeptidnih verig. Obstaja pet razredov imunoglobulinov, ki se razlikujejo po vrsti težke verige. Nasprotno pa obstajata le dve vrsti lahkih verig: kapa in lambda. Vsaka molekula imunoglobulina je tako sestavljena iz enega od petih razredov težkih verig in kapa ali lambda lahkih verig. V populacijah normalnih humanih limfocitov je razmerje med verigami kapa in lambda približno 2 : 1¹.

B-celične neoplazme naj bi nastale iz ene transformirane celice (monoklonske)². Nasprotno pa reaktivna stanja povzročijo proliferacijo številnih B-celic (poliklonskih). Ker imunoglobulini iz iste B-celice vsebujejo verige Kappa ali Lambda, je mogoče omejitev lahke verige ali monoklonalnost uporabiti za razlikovanje med proliferacijami reaktivnih in neoplastičnih B-celic³.

Sonda Kappa Probe se uporablja v kombinaciji s sondo Lambda Probe za zaznavanje protiteles, ki proizvajajo B-celice v tkivu, fiksiranem s formalinom in vstavljenem v parafin. Ta metoda je ponovljiva in bi morala povzročiti intenzivno rjavo barvanje jedra celic, ki vsebujejo Kappa mRNA.

Priloženi reagenti

Sonda Kappa Probe je fluorescein-konjugirana oligonukleotidna sonda, ki jo dobimo v raztopini hibridizacije.

Skupna prostornina = 5,5 ml.

Redčenje in mešanje

Sonda Kappa 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 stekleničke.

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 navedenih⁴.

Previdnosti ukrepi

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

Sonda KAPPA Probe

Vsebuje formamid (< 50 %) in

dekstranov sulfat (< 30 %).

GHS07: Klicaj.

GHS08: Nevarno za zdravje.

Signalne besede: Nevarno.

H360D: Lahko škoduje nerojenemu 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/meglice/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+P364: Odstranite onesnažena oblačila in jih umijte 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.⁹ 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. Poišcite zdravniško pomoč.
- Sledite zveznim, državnim ali lokalnim predpisom za odstranjevanje katerih koli morebitno strupenih sestavin.
- Pazite, da ne pride do mikrobne 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 Kappa Probe je bila razvito za uporabo na avtomatiziranem sistemu BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III) skupaj s sistemom BOND Polymer Refine Detection. Priporočeni protokol za barvanje za sondo Kappa Probe je ISH Protocol A. Priporočen 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.

Pozitivni 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 sonde Kappa Probe z eno rezino vsakega vzorca bolnika.

Pozitivni kontrolni reagent

Da preverite ohranjenost nukleinskih kislin v tkivu ter dostopnost nukleinskih kislin sondi, uporabite kontrolni reagent RNA Positive Control Probe PB0785 namesto sonde Kappa Probe 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 sondo Kappa Probe. 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

PB0645 je zaznala Kappa mRNA v B-celicah v vranici in mandljih ter občasne B-celice v širokem naboru tkiv, vključno s prsmi, materničnim vratom, jetrih, slinavko, obušesnimi žlezami ter tankim in debelim črevesjem. Predhodne B-celice so bile pozitivne tudi za Kappa mRNA v kostnem mozgu. Dodatno obarvanje je bilo zaznано tudi v epiteljskih celicah ščitnice, prostate, grla in požiralnika, v tubulih ledvic, sekretornih celicah v nadledvičnih žlezah in Leydigovih celicah. (Skupno število ocenjenih normalnih primerov = 110).

Neormalna tkiva

PB0645 je obarval 2/6 mielomov plazematk. Obarvanja niso opazili v difuznih velikih B-celičnih limfomih (0/3), T-celičnih limfomih (0/3), Hodgkinovih limfomih (0/2), Burkintonovem limfomu (0/1), pljučnih tumorjih (0/3), tumorjih jeter (0/3), tumorjih na jajčnikih (0/3), tumorjih ščitnice (0/3), tumorjih požiralnika (0/2), tumorjih dojke (0/2), metastatskih tumorjih neznanega izvora (0/2), možganskih tumorjih (0/2), tumorjih testisov (0/2), tumorjih kože (0/2), tumorju debelega črevesa (0/1), tumorju želodca (0/1), tumorju rektuma (0/1), tumorju grla (0/1) in tumorju priželjca (0/1). (Skupno število ocenjenih anomalnih primerov = 44).

PB0645 je priporočen za zaznavanje lahke verige Kappa mRNA.

Specifične omejitve izdelka

Družba Leica Biosystems je sondo Kappa Probe optimizirala za uporabo s protitelesom proti fluoresceinu, 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.

Odpravljanje težav

Referenca 6 lahko pomaga pri ukrepanju za odpravljanju napake.

Testne vzorce morajo spremljati ustrezne kontrole za tkiva in reagente.

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. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. *J Exp Med.* 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. *Transplant Rev.* 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. *J Clin Pathol.* 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. 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

26 februar 2020

BOND Ready-To-Use ISH

Kappa Probe

Kat. č.: PB0645

Zamýšlené použití

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

Sonda Kappa Probe je určena k použití při kvalitativním stanovení kappa lehkého řetězce messengerové RNA (mRNA) 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).

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

Souhrn a vysvětlení

Imunoglobuliny a glykoproteiny produkované zralými B-buňkami proti specifickému antigenu. Každá samostatná molekula imunoglobulinu se skládá ze dvou těžkých a dvou lehkých polypeptidových řetězců. Existuje pět tříd imunoglobulinů, určených podle typu těžkého řetězce. Naproti tomu existují pouze dva typy lehkého řetězce: kappa nebo lambda. Každá samostatná molekula imunoglobulinu je složena z těžkého řetězce jedné z pěti tříd a lehkého řetězce kappa nebo lambda. U normálních populací lidských lymfocytů buněk je poměr lehkých řetězců kappa:lambda přibližně 2:1.

Domníváme se, že neoplazmata B-buněk pocházejí z jediné transformované buňky (monoklonální)². Naproti tomu reaktivní stavy vedou k proliferaci mnoha B-buněk (polyklonální). Poněvadž imunoglobuliny ze stejných B-buněk obsahují buď kappa, nebo lambda lehké řetězce, restrikce lehkého řetězce nebo monoklonalita může být použita k vytvoření rozdílu mezi reaktivní a neoplastickou proliferací B-buněk³.

Sonda Kappa Probe se používá v konjugaci se sondou Lambda Probe pro detekci B-buněk produkujících protilátky ve tkáni fixované formalinem a zalité v parafínu. Tato metoda je reprodukovatelná a měla by vést k intenzivnímu hnědému zbarvení cytoplazmy buněk, které obsahují kappa mRNA.

Dodávané reagensie

Sonda Kappa Probe je fluorescein-konjugovaná oligonukleotidová sonda dodávaná v hybridizačním roztoku.

Celkový objem = 5,5 ml

Ředění a míchání

Sonda Kappa Probe je připravena k použití. Rekonstituce, míchání, ředění ani titrace této reagensie 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) je uveden v bodě „Použití reagensí BOND“ v uživatelské dokumentaci BOND.

Skladování a stabilita

Uchovávejte při teplotě 2–8 °C. Produkt je za těchto podmínek stabilní až do data expirace uvedeného na štítku lahvičky.

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 uživatel* validovat.

Bezpečnostní opatření

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

KAPPA 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: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

P314: Necitíte-li se dobře, vyhledejte 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. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

P337+313: Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

P302+352: Při STYKU S KÚŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody a mýdla.

P332+313: Při podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

P362+P364: 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 opatření⁶. Nikdy reagencie nepipetujte ústy a zabraňte kontaktu reagencí a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagencie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody. Vyhledejte lékařskou pomoc.
- Údaje o likvidaci jakýchkoli potenciálně toxických komponent prostudujte ve federálních, státních nebo místních nařízeních.
- Minimalizujte mikrobiální kontaminaci reagencí, 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 Kappa Probe byla vyvinuta k použití v automatickém systému BOND (včetně systému Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) v kombinaci s protilátkami proti fluoresceinu a soupravou BOND Polymer Refine Detection. Doporučený protokol o barvení pro sondu Kappa Probe je protokol ISH Protocol A. Odmaskování enzymu se doporučuje použitím soupravy BOND Enzyme Pretreatment 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.

Positivní 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 reagencie je vhodnější tkáň se slabým pozitivním barvením než tkáň se silným pozitivním barvením.

Negativní tkáňová kontrola

Musí 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 sondy Kappa Probe.

Positivní 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 sondy Kappa Probe. 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 sondy Kappa Probe. Intenzita pozitivního barvení musí být zhodnocena v kontextu se vším nespecifickým barvením pozadí u sondy RNA Negative Control Probe PB0809.

Očekávané výsledky

Normální tkáně

Sonda PB0645 detekovala kappa mRNA v B-buňkách ve slezině a mandlích stejně jako přiležitostně B-buňky v širokém spektru tkání včetně prsu, děložního hrdla, jater, slinné žlázy, plic, tenkého a tlustého střeva. Prekursorzy B-buněk byly také pozitivní na kappa mRNA v kostní dřeni. Další barvení bylo také pozorováno u epitelálních buněk štítné žlázy, prostaty, hrtnu, jícnu a endometria, ledvinových tubulů, sekrečních buněk nadledvin a Leydigových buněk. (Celkový počet normálních vyšetřovaných tkání = 110).

Abnormální tkáně

PB0645 barvil 2/6 myelomů plazmatických buněk. Žádné barvení nebylo pozorováno u B-buněčných lymfomů (0/3), T-buněčných lymfomů (0/3), Hodgkinových lymfomů (0/2), Burkittova lymfomu (0/1), nádorů plic (0/3), nádorů jater (0/3), ovariálních nádorů (0/3), nádorů štítné žlázy (0/3), nádorů jícnu (0/2), nádorů prsu (0/2), metastatických nádorů neznámého původu (0/2), nádorů mozku (0/2), testikulárních nádorů (0/2), nádorů kůže (0/2), nádoru tlustého střeva (0/1), nádoru žaludku (0/1), rektálního nádoru (0/1), nádoru hrtnu (0/1) a nádoru thymu (0/1). (Celkový počet vyšetřovaných abnormálních tkání = 44).

Sonda PB0645 je doporučena k detekci kappa lehkých řetězců mRNA.

Omezení specifická pro tento produkt

Sonda Kappa Probe byla společností Leica Biosystems optimalizována pro použití s protilátkami proti fluoresceinu, soupravou BOND Polymer Refine Detection a s pomocnými reagencemi 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 6 může napomoci při provádění nápravných opatření.

Testovací vzorky je nutné doplnit příslušnou tkání a použitím kontrolních reagencí.

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 reagensii BOND“.

Literatura

1. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. *J Exp Med.* 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. *Transplant Rev.* 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. *J Clin Pathol.* 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. 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

26 únor 2020

BOND Ready-to-Use ISH

Kappa Probe

Katalógové č.: PB0645

Zamýšľané použitie

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

Sonda Kappa Probe je určená na kvalitatívne stanovenie mediátorovej RNA (mRNA) v ľahkom reťazci kappu v tkanive zaliatom do parafrínu 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

Imunoglobulíny sú glykoproteíny produkované zrelými B-bunkami proti konkrétnemu antigénu. Každú jednotlivú molekulu imunoglobulínu tvoria dva ťažké a dva ľahké polypeptidové reťazce. Existuje päť tried imunoglobulínov určených podľa typu ťažkého reťazca. Ľahké reťazce však existujú len v dvoch typoch: kappu alebo lambda. Každá jednotlivá molekula imunoglobulínu sa skladá z jednej z piatich tried ťažkých reťazcov a ľahkých reťazcov typu kappu alebo lambda. V normálnych ľudských lymfoidných populáciách je pomer ľahkých reťazcov kappu a lambda približne 2 : 1¹.

Predpokladá sa, že novotvary z B-buniek vznikajú z jednej transformovanej bunky (monoklonálnej)². Reaktívne stavy však vedú k proliferácii mnohých B-buniek (polyklonálnych). Keďže imunoglobulíny z rovnakej B-bunky obsahujú ľahké reťazce kappu alebo lambda, na rozlíšenie proliferácií reaktívnych alebo neoplastických B-buniek³ sa môže použiť reštrikcia ľahkého reťazca alebo monoklonalita.

Sonda Kappa Probe sa používa v spojitosti so sondou Lambda Probe na detekciu B-bunky produkujúcej protiľátky v tkanive zaliatom do parafrínu a fixovanom formalínom. Metóda je reprodukovateľná a mala by viesť k intenzívnemu hneďmu cytoplazmatickému zafarbeniu buniek obsahujúcich mRNA ľahkého reťazca kappu.

Dodané činidlá

Sonda Kappa Probe je oligonukleotidová sonda konjugovaná s fluoresceínom dodávaná v hybridizačnom roztoku.

Celkový objem = 5,5 ml

Riedenie a miešanie

Sonda Kappa Probe je pripravená na okamžité použitie. Rekonštitúcia, miešanie, riedenie ani titrácia tohto činidla nie sú potrebné.

Potrebný nedodaný materiál

Úplný zoznam materiálov potrebných na prípravu 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.

Ukladenie a stabilita

Skladujte pri teplote 2 – 8 °C. Za týchto podmienok nedôjde k významnej strate účinnosti produktu do dátumu expirácie, ktorý sa uvádza na štítku fľaštičky.

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

Okamžite po použití vráťte do teploty 2 – 8 °C.

Iné než vyššie uvedené podmienky skladovania si vyžadujú validáciu používateľom⁴.

Bezpečnostné opatrenia

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

SONDA KAPPA 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+P364: Kontaminovaný odev vyzlečte a pred ďalším použitím vyperte.

Určené iba pre odborníkov.

- Materiálový bezpečnostný list 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 opatrení⁶. 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.
- Neododržanie predpísaných dôb záchytu, inkubačných dôb alebo teplôt môže viesť k nesprávnym výsledkom. Všetky takéto zmeny si vyžadujú validáciu používateľom.

Návod na použitie

Sonda Kappa Probe bola vytvorená na použitie v automatizovanom systéme BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) v spojitosti s protilátkou proti fluorescenciu a systémom BOND Polymer Refine Detection. Odporúčaný protokol farbenia pre sondu Kappa Probe je ISH Protocol A. Na zachytenie enzýmov sa odporúča použiť súpravu BOND Enzyme Pretreatment 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 testovacie sondy 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.

Positívna 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 pre 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 špecificitu značenia sondy na cieľi.

Ako negatívnu kontrolu je možné použiť aj rôzne typy buniek prítomné vo väčšine tkanivových rezov, takýto postup si však vyžaduje validáciu používateľom.

Negatívna kontrola činidlom

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

Positívna kontrola činidlom

Použitie sondy RNA Positive Control Probe PB0785 namiesto testovacej sondy Kappa Probe s časťou 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 sondou Kappa Probe 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

Sonda PB0645 detegovala mRNA ľahkého reťazca kappa v B-bunkách sleziny a tonzily, ako aj priležitostné B-bunky v rôznych tkanivách vrátane pľúc, krčka, pečene, slinných žliaz, príušných žliaz, tenkého a hrubého čreva. Prekurzorové B-bunky boli takisto pozitívne na mRNA ľahkého reťazca kappa v kostnej dreni. Dodatočné zafarbenie bolo takisto pozorované v epitelových bunkách štítnej žľazy, prostaty, hrtanu, pažeráka a endometria, tubuloch obličky, sekrečných bunkách nadobličiek a Leydigových bunkách. (Celkový počet normálnych vyšetrených prípadov = 110).

Abnormálne tkanivá

PB0645 zafarbila 2/6 myelómov plazmových buniek. Zafarbenie nebolo pozorované pri difúzných lymfómoch z veľkých B-buniek (0/3), T-bunkových lymfómoch (0/3), Hodgkinových lymfómoch (0/2), Burkittových lymfómoch (0/1), nádoroch pľúc (0/3), nádoroch pečene (0/3), nádoroch vaječníkov (0/3), nádoroch štítnej žľazy (0/3), nádoroch pažeráka (0/2), nádoroch prsníka (0/2), metastatických nádoroch neznámeho pôvodu (0/2), nádoroch mozgu (0/2), nádoroch semenníka (0/2), nádoroch kože (0/2), nádore hrubého čreva (0/1), nádore žalúdka (0/1), nádore konečníka (0/1), nádore hrtanu (0/1) a nádore detskej žľazy (0/1). (Celkový počet abnormálnych vyšetrených prípadov = 44).

Sonda PB0645 sa odporúča na detekciu mRNA v ľahkom reťazci kappa.

Špecifické obmedzenia pre tento výrobok

Sonda Kappa Probe bola v spoločnosti Leica Biosystems optimalizovaná na použitie s protilátkou proti fluoresceínu, so systémom BOND Polymer Refine Detection a pomocnými činidlami BOND. Používatelia, ktorí sa odchyľia od odporúčaných testovacích postupov, musia akceptovať zodpovednosť za interpretáciu výsledkov pacienta za týchto okolností. Časy podľa protokolu sa môžu líšiť z dôvodu odchýlok vo fixácii tkaniva a účinnosti enzymatického zhusťovania a musia sa zistiť empiricky. Pri optimalizácii podmienok záchytu a časov podľa protokolov je potrebné použiť sondy RNA Negative Control Probe.

Riešenie problémov

Pri náprave môže byť nápomocná referencia 6.

Testovacie vzorky majú doplniť vhodné kontrolné tkanivá a kontrolné činidlá.

Neobyklé 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. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. *J Exp Med.* 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. *Transplant Rev.* 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. *J Clin Pathol.* 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. 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.
6. 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

26 február 2020

BOND الجاهزة للاستعمال في عمليات التهجين في الموضع (ISH)

Kappa Probe

رقم الدليل: PB0645

الاستعمال المستهدف

هذا الكاشف مخصص للاستعمال في أعراض التشخيص في المختبرات.

يمثل الغرض من مسبار Kappa Probe في الامتثال في التحديد النوعي لمرسال الحمض النووي الريبي (mRNA) للسلسلة الخفيفة Kappa في النسيج المثبت بالفورمالين، والمضمن في البارافين عن طريق التهجين في الموضع (ISH)، وذلك باستخدام نظام BOND الالوي (ويشمل نظام Leica BOND-MAX ونظام Leica BOND-III).

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

المخلص والشرح

العلويوليات المناعية عبارة عن بروتيئات سكرية تنتج في خلايا B ناضجة ضد مستضد معين. ويتكون كل جزيي غلوبولين مناعي مفرد من سلسلتين ثقيلتين وعديتي البينيد وسلسلتين خفيفتين عديتي البينيد. هناك خمس فئات من الغلوبولين المناعي، ويتم تحديدها حسب نوع السلسلة الثقيلة. وعلى العكس من ذلك، هناك نوعان فقط من السلاسل الخفيفة: Kappa أو Lambda. يتكون كل جزيء غلوبولين مناعي مفرد من واحدة من خمس فئات من السلاسل الثقيلة وإما سلاسل Kappa أو Lambda الخفيفة. وبالنسبة لمحتوى الأنسجة الليفاوية العادية، تكون نسبة سلاسل Lambda الخفيفة هي 2:1 تقريباً.

يُعتقد أن أورام الخلايا B تنشأ من خلية واحدة متحولة (أحادي النسيلة)؟. في المقابل، تؤدي الحالات التفاعلية إلى تكاثر عدد من الخلايا البائية (متعددة النسيلة). حيث أن الغلوبولينات المناعية من نفس الخلية البائية تحتوي إما على السلسلة الخفيفة Kappa أو Lambda، فإنه يمكن استخدام تقييد السلسلة الخفيفة أو التسائل الأحادية لجعل التمييز يكون بين تكاثر الخلايا البائية التفاعلية والأورمي.

يُستخدم Kappa Probe بالتزامن مع Lambda Probe للكشف عن الجسم المضاد المنتج للخلايا البائية في الأنسجة المثبتة بالفورمالين، والمضمنة بالبارافين. تعد هذه الطريقة قابلة للتكاثر وينبغي أن يؤيدون أي حدث تلوين مكثف، وتلوين سيتوبلازمي بني للخلايا التي تحتوي على mRNA للسلسلة الخفيفة Kappa.

الكواشف المتوفرة

يعد Kappa Probe مسبارًا قليل النوكليوتيد مرافق الفلوريسين يتم تزويده في محلول تهجين.

الحجم الكلي = 5.5 مل

التخفيف والخلط

Kappa Probe جاهز للاستعمال. لا يلزم إعادة تشكيل هذا الكاشف، أو خلطه، أو تخفيفه، أو معايرته.

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 الموضع 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 المومن على ملصق القارورة. ليس ثمة علامات واضحة تشير إلى التلوث وأو عدم الاستقرار. ينبغي تشغيل ضوابط النسيج الإيجابي والسلبى 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 الكاشف مخصص للاستعمال في أعراض التشخيص في المختبرات.

KAPPA PROBE

يحتوي على الفورماميد (>50%)

وكبريتات الديكستران (>30%).

GHS07: علامة تعجب.

GHS08: خطر على الصحة.

كلمات الإشارة: خطر.

H360D: قد يعرض الطفل الذي

لم يُولد بعد.

H315: يسبب تهيج الجلد.

H319: يسبب تهيجًا خفيفًا

في العينين.

P201: حصل على تعليمات خاصة قبل الاستخدام.

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

P260: لا تستنشق الغبار/الأمخنة/الضباب/الأبخرة/الراداز.

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 يُرام.

P264: اغسل اليدين جيدًا بعد المعالجة.

P280: قم بارتداء قفاز واقية/ملابس 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: اخلع الملابس الملوثة واغسلها قبل إعادة استعمالها.

ممسور على المستخدمين المُخصصين.

الحصول 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 عن العنوان الإلكتروني www.LeicaBiosystems.com

ينبغي التعامل مع العينات، قبل التثبيت وبعده، وكذلك مع جميع المواد التي تتعرض لها كما لو كانت قادرة على نقل العدوى، وينبغي التخلص منها مع اتخاذ الاحتياطات السلمية. لا تمص الكواشف مطلقًا عن طريق الفم، وتجنب احتكاك الجلد والأغشية المخاطية بالكواشف أو العينات. إذا كنت الكواشف أو العينات تتكثت بمناطق حساسة، فعليك 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.

- قَالُ التلوث الميكروبي للكواشف وإلا قد تحدث زيادة في التلطيح غير المحدد.
- قد تؤدي ظروف الاسترجاع، أو أوقات الضخامة، 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 مسبار Kappa Probe لاستخدامه في نظام BOND الآلي (يشمل نظامي Leica BOND-III و Leica BOND-MAX) بالاقتران مع Anti-Fluorescein Antibody و BOND Polymer Refine Detection بروتوكول التلوين الموصى به لمسبار Kappa Probe أو ISH Protocol A. يوصى بإسترجاع الإنزيم باستخدام BOND Enzyme 1 Pretreatment Kit، لمدة 15 دقيقة.

ينبغي دائماً استخدام الأنسجة وضوابط الكواشف المناسبة. يجب أن يتوافق بروتوكول الأنسجة وضوابط الكواشف مع بروتوكول مسبار اختبار الحامض النووي الريبزي (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 للإشارة 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 ملامناً بصورة أكبر من النسيج ذي التلطيح الإيجابي القوي، وذلك بغرض ضبط الجودة المثلى والكشف عن مستويات طفيفة من تدهور الكاشف.

ضابط النسيج السلبي

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 السلبي، ولكن يجب التحقق من هذا من جانب المستخدم.

ضابط الكاشف السلبي

استخدم RNA Negative Control Probe PB0809 بدلاً من مسبار Kappa Probe 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 Kappa Probe 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 المطلحة بمسبار Kappa Probe في النهاية. ينبغي تقييم كثافة التلطيح الإيجابي في سياق أي تلطيح غير محدد بالخلفية بخصوص RNA Negative Control Probe PB0809.

النتائج المتوقعة

الأنسجة العادية

كشف PB0645 عن وجود مرسل mRNA للسلسلة الخفيفة Kappa في الخلايا البائية الموجودة في الطحال واللوذين، فضلاً عن الخلايا البائية الموجودة في بعض الأحيان في مجموعة كبيرة من الأنسجة بما في ذلك الثدي، وعنق الرحم، والكبد، والغدة اللعابية، والغدة النكفية، والأمعاء الدقيقة، والأمعاء الغليظة. كانت الخلايا البائية الطبيعية موجبة أيضاً لمرسال mRNA للسلسلة الخفيفة Kappa في نخاع العظام. كما تمت أيضاً مشاهدة تلطيح إضافي في الخلايا الظهارية بالغدة الدرقية، والبروستاتا، والحنجرة، والمريء، وبطانة الرحم، وتبيبات الكلى، والخلايا الإفرازية الموجودة في الغدد الكظرية وخلايا لايدنغ. (إجمالي عدد الحالات العادية التي تم تقييمها = 110).

الأنسجة غير العادية

لطخ 2/6 PB0645 من الأورام النقية بخلايا بلازما. لم تتم ملاحظة وجود أي تلطيح في الأورام المغلوبة بالخلايا البائية الكبيرة المنتشرة (0/3)، والأورام المغلوبة بالخلايا التائية (0/3)، والأورام المغلوبة بالهيدونكتينية (0/2)، وورم ليفيغوما بوركيت (0/1)، وأورام الزئة (0/3)، وأورام المبيض (0/3)، وأورام الكبد (0/3)، وأورام الغدة الدرقية (0/3)، وأورام المريء (0/2)، وأورام الثدي (0/2)، والأورام الثقيلية من أصل غير معروف (0/2)، وأورام المخ (0/2)، وأورام الخصية (0/2)، وأورام الجلد (0/2)، وورم القولون (0/1)، وورم المعدة (0/1)، وورم المستقيم (0/1)، وورم الحنجرة (0/1)، وورم الغدة الصعترية (0/1). (إجمالي عدد الحالات غير العادية التي تم تقييمها = 44).

يوصى باستعمال PB0645 لكشف عن mRNA للسلسلة الخفيفة Kappa.

القيود الخاصة بالمنتج

تم تحسين مسبار Kappa Probe في Leica Biosystems لاستخدامه مع Anti-Fluorescein Antibody و BOND Polymer Refine Detection، وكواشف BOND المساعدة. على المستخدمين الذين يجيدون عن 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 6 في الحصول على إجراء علاجي.

ينبغي استكمال عينات الاختبار بضوابط النسيج والكواشف الملائمة.

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 التحجيز في المواقع باستخدام كواشف BOND، تحت العناوين التالية: مبدأ الإجراء، المواد المطلوبة، إعداد العينة، ضبط الجودة، التحقق من صحة العنصر، تفسير التلطيح، مفتاح الرموز المدونة على الملصقات، والقيود العامة، وذلك في قسم «استعمال كواشف BOND» في وثائق مستخدم BOND التي بحوزتك.

مراجع

1. Levy R, Warnke R, Dorfman RF, Haimovich J. The monoclonality of human B-cell lymphomas. J Exp Med. 1977;145:1014–1024.
2. Friedman JM, Fialow PJ. Cell marker studies of human tumorigenesis. Transplant Rev. 1976;28:17–33.
3. McNicol AM, Farquharson MA, Lee FD, Foulis AK. Comparison of *in situ* hybridization and polymerase chain reaction in the diagnosis of B cell lymphoma. J Clin Pathol. 1998;51:229–233.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.

5. 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.
6. 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.

تاریخ الإصدار

26 فبراير 2020

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