

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Negative Control

Catalog No: PB0731

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



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

Instructions for Use

Please read before using this product.

Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

Istruzioni per L'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

Instrucciones de Uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

Instruktioner vid Användning

Var god läs innan ni använder produkten.

Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

Brugsanvisning

Læs venligst før produktet tages i brug.

Gebruiksaanwijzing

Lezen vóór gebruik van dit product.

Bruksanvisning

Vennligst les denne før du bruker produktet.

Kullanım Talimatları

Lütfen bu ürünü kullanmadan önce okuyunuz.

Инструкции за употреба

Моля, прочетете преди употреба на този продукт.

Használati utasítás

A termék használatba vétele előtt olvassa el.

Instruțiuni de utilizare

Citiți aceste instruțiuni înainte de a utiliza produsul.

Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

Instrukcja obsługi

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

Návod k použití

Čtěte před použitím tohoto výrobku.

Návod na použitie

Prosím, prečítajte si ho pred použitím produktov.

إرشادات الاستعمال

يُرجى القراءة قبل استخدام هذا المنتج.

Check the integrity of the packaging before use.

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

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

Vor dem Gebrauch die Verpackung auf Unversehrtheit überprüfen.

Comprobar la integridad del envase, antes de usarlo. Verifique a integridade da embalagem antes de utilizar o produto.

Kontrollera att paketet är obrutet innan användning. Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευασίας πριν από τη χρήση.

Kontroller, at pakken er ubeskadiget før brug.

Controleer de verpakking vóór gebruik.

Sjekk at pakningen er intakt før bruk.

Kullanmadan önce ambalajın bozulmamış olmasını kontrol edin.

Проверете целостта на опаковката преди употреба.

Használat előtt ellenőrizze a csomagolás épségét.

Verificați integritatea ambalajului înainte de a utiliza produsul.

Перед применением убедитесь в целостности упаковки.

Przed użyciem należy sprawdzić, czy opakowanie jest szczelne.

Pred uporabo preverite celovitost embalaže.

Před použitím zkontrolujte neporušenost obalu.

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

BOND™ Ready-To-Use ISH

DNA Negative Control

Catalog No: PB0731

Intended Use

This reagent is for *in vitro* diagnostic use.

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

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

Summary and Explanation

DNA Negative Control consists of the hybridization solution used in the BOND HPV and DNA Positive Control Probe Probes. DNA Negative Control is used in place of the probe, thereby enabling the assessment of background staining resulting from non-specific interactions within the specimen sample under investigation.

Reagents Provided

DNA Negative Control is a hybridization solution.

Total volume = 6.25 mL

Dilution and Mixing

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

Materials Needed but Not Provided

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

Storage and Stability

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

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

Return to 2–8 °C immediately after use.

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

Precautions

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

DNA NEGATIVE CONTROL

Contains Formamide (<70%).

GHS08: Health hazard.

Signal words: Danger.

H360D: May damage the unborn child.

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.

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

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

P314: Get medical advice/attention if you feel unwell. 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 precautions¹. 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.
- Minimise 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

DNA Negative Control was developed for use on the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system) in combination with Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution and BOND Polymer Refine Detection. The recommended staining protocol for the DNA Negative Control is ISH Protocol B. Enzymatic pre-treatment 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 DNA 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 DNA Negative Control PB0731 in place of the DNA test probe with a section of each patient specimen to evaluate non-specific staining and allow better interpretation of specific staining at the target.

Positive Reagent Control

Use DNA Positive Control Probe PB0682 in place of the DNA test probe with a section of each patient specimen to provide information on the preservation of nucleic acids in the tissue as well as accessibility of nucleic acids to the probe. If the DNA Positive Control Probe fails to demonstrate positive staining, results with the test specimens should be considered invalid.

Patient Tissue

Examine patient specimens stained with DNA test probe last. Positive staining intensity should be assessed within the context of any non-specific background staining of the DNA Negative Control PB0731.

Results Expected

Normal Tissues

Using PB0731 no staining was observed in a wide range of tissues. (Total number of normal cases evaluated = 112).

Abnormal Tissues

Using PB0731 no staining was observed in ovarian tumors (0/4), thyroid tumors (0/3), lung tumors (0/3), esophageal tumors (0/2), breast tumors (0/2), stomach tumors (0/2), soft tissue tumors (0/2), tongue tumors (0/2), metastatic tumors of unknown origin (0/2), liver tumors (0/2), kidney tumors (0/2), cervical tumors (0/2), colon tumors (0/2), rectal tumors (0/2), skin tumors (0/2), a tumor of the larynx (0/1), a tumor of the thymus (0/1) and a tumor of the brain (0/1). (Total number of abnormal cases evaluated = 37).

PB0731 is recommended to aid as a screening tool to evaluate staining of a DNA test probe on a patient specimen.

Product Specific Limitations

DNA Negative Control has been optimized at Leica Biosystems for use with Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection and BOND ancillary reagents on formalin-fixed, paraffin-embedded cervical tissue. 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 type, fixation and processing. In addition, BOND Enzyme concentration and incubation time may require optimization depending on tissue type, processing and fixation conditions. Negative reagent controls should be used when optimizing pre-treatment conditions and protocol times.

Troubleshooting

Reference 3 may aid in remedial action. Contact your local distributor or the regional office of Leica Biosystems to report unusual staining.

Further Information

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

Bibliography

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Date of Issue

17 October 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Negative Control

Référence: PB0731

Utilisation Prévue

Ce réactif est destiné au diagnostic *in vitro*.

DNA Negative Control est destiné à une utilisation dans l'identification de coloration du fond suite à des interactions non spécifiques dans un tissu fixé au formol et inclus dans la paraffine par hybridation *in situ* (ISH), à l'aide du système automatisé BOND (qui comprend le système Leica BOND-MAX et le système Leica BOND-III).

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

DNA Negative Control se compose de la solution d'hybridation utilisée dans les sondes BOND HPV Probe et DNA Positive Control Probe. DNA Negative Control s'utilise à la place de la sonde et permet ainsi d'évaluer le marquage constitutif résultant d'interactions non spécifiques au sein de l'échantillon clinique étudié.

Réactifs Fournis

DNA Negative Control est une solution d'hybridation.

Volume total = 6.25 mL

Dilution et Mélange

DNA Negative Control est prêt à l'emploi. Reconstitution, mélange, dilution ou titration de ce réactif non nécessaire.

Matériel Nécessaire mais Non Fournis

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* sur l'automate BOND (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III).

Conservation et Stabilité

Conserver à une température comprise entre 2–8 °C. Dans ces conditions, le produit reste stable jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette du récipient.

Il n'y a pas de signe évident indicateur d'une contamination et/ou d'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 conservation différentes de celles ci-dessus doivent être contrôlées par l'utilisateur¹.

Précautions

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

DNA NEGATIVE CONTROL

Contient Formamide (<70%).

GHS08: Danger pour la santé.

Mentions d'avertissement: Danger.

H360D: Peut nuire au fœtus.

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.

P280: Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

P308+313: EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée: consulter un médecin.

P314: Consulter un médecin en cas de malaise.

Usage réservé aux professionnels.

- Pour obtenir un exemplaire de la fiche technique des substances dangereuses (Material Safety Data Sheet), contactez votre distributeur local ou le bureau régional de Leica Biosystems, ou consultez 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, doivent être manipulés comme s'ils étaient à risque infectieux et éliminés avec les précautions adéquates². Ne jamais pipeter les réactifs à la bouche et éviter le contact de la peau et des muqueuses avec les réactifs ou les échantillons. Si des réactifs ou des échantillons entrent en contact avec des zones sensibles, rincer abondamment à l'eau. Consultez un médecin.
- Renseignez-vous sur les réglementations fédérales, nationales et locales concernant l'élimination des composés potentiellement toxiques.
- Éviter une contamination microbienne des réactifs, qui peut favoriser un marquage non spécifique.
- Des durées ou des températures de démasquage ou d'incubation autres que celles spécifiées peuvent entraîner des résultats erronés. Tout changement doit être validé par l'utilisateur.

Mode d'Emploi

DNA Negative Control été développé pour être utilisé sur le système automatisé BOND (qui comprend le système Leica BOND-MAX et le système Leica BOND-III) en combinaison avec Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution et BOND Polymer Refine Detection. Le protocole de coloration recommandé pour DNA Negative Control est ISH Protocol B. Un prétraitement enzymatique est recommandé avec BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1, pendant 15 minutes.

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

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 DNA Negative Control PB0731 à la place de la sonde d'essai d'ADN 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 DNA Positive Control Probe Probe PB0682 à la place de la sonde d'essai d'ADN 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 DNA Positive Control Probe ne présente pas de marquage positif, les résultats des échantillons d'essai doivent être considérés comme invalides.

Tissu du patient

Examiner les échantillons du patient marqués avec la sonde d'essai d'ADN en dernier. L'intensité du marquage positif ne doit être évaluée que par rapport au marquage non spécifique obtenu avec DNA Negative Control PB0731.

Résultats Attendus

Tissus sains

À l'aide de PB0731, aucune coloration n'a été observée dans un large éventail de tissus. (Nombre total de cas normaux évalués = 112).

Tissus tumoraux

À l'aide de PB0731, aucune coloration n'a été observée dans les tumeurs ovariennes (0/4), tumeurs de la thyroïde (0/3), tumeurs pulmonaires (0/3), tumeurs de de l'œsophage (0/2), tumeurs mammaires (0/2), tumeurs de l'estomac (0/2), tumeurs des tissus mous (0/2), tumeurs de la langue (0/2), tumeurs métastatiques d'origine inconnue (0/2), tumeurs du foie (0/2), tumeurs rénales (0/2), tumeurs cervicales (0/2), tumeurs du côlon (0/2), tumeurs rectales (0/2), tumeurs de la peau (0/2), une tumeur du larynx (0/1), une tumeur du thymus (0/1) et une tumeur cérébrale (0/1). (Nombre total de cas anormaux évalués = 37).

PB0731 est recommandé pour aider en tant qu'outil de dépistage afin d'évaluer la coloration d'une sonde d'essai d'ADN sur le spécimen d'un patient.

Limites Spécifiques du Produit

DNA Negative Control a été optimisé par Leica Biosystems pour une utilisation avec Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection et les réactifs auxiliaires BOND sur du tissu de col de l'utérus fixé au formol et inclus en paraffine. Les utilisateurs qui ne respectent pas les procédures recommandées prennent la responsabilité de l'interprétation des résultats des patients dans ces conditions. Les durées du protocole peuvent varier en raison des variations de type, de fixation et de traitement des tissus. En outre, la concentration en BOND[®] Enzyme et la durée d'incubation peuvent nécessiter une optimisation en fonction du type de tissu, de son traitement et des conditions de fixation. Des contrôles réactifs négatifs doivent être testés lors de l'optimisation des conditions de prétraitement et des durées du protocole.

Identification des Problèmes

La référence bibliographique n° 3 peut aider à la mise au point d'une mesure corrective.

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

Informations Complémentaires

Vous trouverez des informations complémentaires sur l'hybridation *in situ* à l'aide des réactifs BOND sous les en-têtes suivants du chapitre "Utilisation des réactifs BOND" de votre manuel d'utilisation BOND: Principes de la méthode, Matériel nécessaire, Préparation des échantillons, Contrôle qualité, Vérification de l'analyse, Interprétation du marquage, Légende des symboles sur les étiquettes et Limites générales.

Bibliographie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.,18–20.

Date de Publication

17 octobre 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH

DNA Negative Control

N. Catalogo: PB0731

Uso Previsto

Reagente per uso diagnostico *in vitro*.

Il DNA Negative Control è studiato per essere usato nell'identificazione della colorazione di fondo dovuta a interazioni non specifiche in tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina sottoposti a tecniche di ibridazione *in situ* (ISH) 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.

Sommario e Spiegazione

Il DNA Negative Control è costituito dalla soluzione di ibridazione utilizzata nelle BOND HPV e DNA Positive Control Probe Probes. Il DNA Negative Control viene utilizzato al posto della sonda e permette di valutare la colorazione di fondo prodotta da interazioni aspecifiche all'interno del campione analizzato.

Reagenti Forniti

Il DNA Negative Control è una soluzione di ibridazione.

Volume totale = 6.25 mL

Diluizione e Miscelazione

Il DNA Negative Control è pronto per l'uso. Non è necessario ricostituire, miscelare, diluire o titolare il reagente.

Materiale Necessario Non Fornito

Per un elenco completo del materiale necessario per il trattamento del campione e la colorazione per 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 riportata sull'etichetta del contenitore.

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

Immediatamente dopo l'uso, riportare a 2–8 °C.

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

Precauzioni

- Il prodotto è destinato all'uso diagnostico *in vitro*.

DNA NEGATIVE CONTROL
Contiene Formammide (<70%).
GHS08: Pericolo per la salute.
Avvertenze: Pericolo.

H360D: Può nuocere al feto.

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.

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

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

P314: In caso di malessere, consultare un medico.

Riservato ad utenti professionali.

- Una copia della Scheda di sicurezza può essere richiesta al distributore locale o all'ufficio di zona di Leica Biosystems o, in alternativa, visitando il sito di Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com
- I campioni, prima e dopo la fissazione, e tutti i materiali esposti ad essi devono essere manipolati come potenziali vettori di infezione e smaltiti con le opportune precauzioni². Non pipettare mai i reagenti con la bocca ed evitare il contatto dei reagenti e dei campioni con la cute e le mucose. Se un reagente o un campione viene a contatto con zone sensibili, lavare abbondantemente con acqua. Consultare un medico.
- Consultare la normativa nazionale, regionale o locale per lo smaltimento dei componenti potenzialmente tossici.
- Ridurre al minimo la contaminazione microbica dei reagenti per non incrementare il rischio di una colorazione non specifica.
- Tempi o temperature di incubazione o di riconoscimento diversi da quelli specificati possono fornire risultati erronei. Ogni eventuale modifica deve essere convalidata dall'utente.

Istruzioni per l'Uso

Il DNA Negative Control è stato sviluppato per essere usato con il sistema automatizzato BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III) in combinazione con l'Anti-Biotin Antibody, la Stringency Wash Solution e il BOND Polymer Refine Detection. Il protocollo di colorazione raccomandato per DNA Negative Control è ISH Protocol B. Si raccomanda un pretrattamento enzimatico

usando BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 per 15 minuti.

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

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 DNA Negative Control PB0731 al posto della sonda test di DNA con una sezione di ogni campione del paziente per valutare la colorazione aspecifica e per consentire una migliore interpretazione della colorazione specifica in corrispondenza del bersaglio.

Controllo positivo del reagente

Usare DNA Positive Control Probe PB0682 al posto della sonda test di DNA 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 DNA 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 la sonda test di DNA. L'intensità della colorazione positiva va analizzata nel contesto di qualsiasi colorazione aspecifica di fondo di DNA Negative Control PB0731.

Risultati Attesi

Tessuti normali

Utilizzando PB0731, non è stata osservata colorazione in una vasta gamma di tessuti. (Numero totale di casi normali esaminati = 112).

Tessuti neoplastici

Utilizzando PB0731, non è stata osservata colorazione nei tumori ovarici (0/4), tumori tiroidei (0/3), tumori ai polmoni (0/3), tumori esofagei (0/2), tumori mammari (0/2), tumori allo stomaco (0/2), tumori dei tessuti molli (0/2), tumori alla lingua (0/2), tumori metastatici di origine ignota (0/2), tumori al fegato (0/2), tumori ai reni (0/2), tumori cervicali (0/2), tumori al colon (0/2), tumori al retto (0/2), tumori della pelle (0/2), tumore alla laringe (0/1), tumore del timo (0/1) e tumore al cervello (0/1). (Numero totale di casi anormali esaminati = 37).

PB0731 è consigliata quale strumento di ausilio allo screening per valutare la colorazione di un DNA di prova su un campione di pazienti.

Limitazioni Specifiche del Prodotto

Il DNA Negative Control è stato ottimizzato da Leica Biosystems per l'uso con l'Anti-Biotin Antibody, la Stringency Wash Solution, il BOND Polymer Refine Detection e i reagenti ausiliari BOND su tessuto cervicale fissato in formalina, incluso in paraffina. 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 nel tipo di tessuto, nella fissazione e nel trattamento. Inoltre può essere necessario ottimizzare la concentrazione e il tempo di incubazione del BOND Enzyme in base al tipo di tessuto e alle condizioni di trattamento e di fissazione. Nell'ottimizzazione delle condizioni di pretrattamento e dei tempi del protocollo si devono impiegare dei controlli negativi del reagente.

Soluzione Problemi

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

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

Ulteriori Informazioni

Ulteriori 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. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Data di Pubblicazione

17 ottobre 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Negative Control

Bestellnr.: PB0731

Verwendungszweck

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

DNA Negative Control wurde für den Nachweis einer Hintergrundfärbung in formalinfixiertem, paraffineingebettetem Gewebe aufgrund nicht spezifischer Wechselwirkungen bei *In-situ*-Hybridisierungs-Verfahren (ISH) auf dem automatisierten BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) entwickelt.

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 des Patienten und anderen diagnostischen Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

Zusammenfassung und Erläuterung

DNA Negative Control besteht aus der Hybridisierungslösung, die für die BOND HPV und die DNA Positive Control Probe verwendet wird. DNA Negative Control wird anstelle der Sonde benutzt, um eine Bewertung der durch unspezifische Wechselwirkungen im untersuchten Gewebepreparat verursachten Hintergrundfärbung zu ermöglichen.

Mitgelieferte Reagenzien

DNA Negative Control ist eine Hybridisierungslösung.

Gesamtvolumen = 6.25 mL

Verdünnung und Mischung

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

Erforderliche, aber Nicht Mitgelieferte Materialien

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

Lagerung und Stabilität

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

Es gibt keine klaren Anzeichen für eine Kontamination und/oder Instabilität des Produkts. Passende positive und negative Gewebekontrollen sollten zusammen mit dem untersuchten Gewebe analysiert werden.

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

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

Vorsichtsmaßnahmen

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

DNA NEGATIVE CONTROL

Enthält Formamid (<70%).
GHS08: Gesundheitsgefahr.
Signalwörter: Gefahr.

H360D: Kann das Kind im
Mutterleib schädigen.

P201: Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.
P202: Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.
P260: Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen.
P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
P308+313: BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P314: Bei Unwohlsein.
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 diese Infektionen übertragen können und versorgen Sie sie unter Beachtung der entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen². Pipettieren Sie Reagenzien niemals mit dem Mund und vermeiden Sie den Kontakt von Haut und Schleimhäuten mit Reagenzien oder Präparaten. Falls Reagenzien oder Präparate mit empfindlichen Bereichen in Kontakt gekommen sind, spülen Sie diese mit reichlich Wasser. Holen Sie anschließend ärztlichen Rat ein.
- Beachten Sie bei der Entsorgung potentiell toxischer 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 den angegebenen Retrievals, Inkubationszeiten oder Temperaturen kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Diesbezügliche Änderungen müssen vom Anwender selbst getestet werden.

Gebrauchsanleitung

DNA Negative Control wurde für die Verwendung in dem automatisierten BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) in Kombination mit Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution und BOND Polymer Refine Detection entwickelt. ISH Protocol B ist das empfohlene Färbeprotokoll für DNA Negative Control. Es wird eine Enzymvorbehandlung unter Anwendung von BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 für 15 Minuten.

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

Qualitätskontrolle

Unterschiede bei der Gewebeparbeitung 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 DNA Negative Control PB0731 anstelle der DNA-Testsonde zu verwenden.

Positive Reagenzkontrolle

Verwenden Sie DNA Positive Control Probe Probe PB0682 anstelle der DNA-Testsonde bei einem Schnitt jedes Patientenpräparates, um Informationen über die Erhaltung von Nukleinsäuren in dem Gewebe und die Zugänglichkeit von Nukleinsäuren zu der Sonde zu erhalten. Falls DNA Positive Control Probe keine positive Färbung nachweisen kann, sollten die mit den Testproben erzielten Ergebnisse als ungültig betrachtet werden.

Patientengewebe

Die mit der DNA-Testsonde gefärbten Patientenproben müssen zuletzt untersucht werden. Eine positive Färbintensität ist im Kontext einer unspezifischen Hintergrundfärbung der DNA Negative Control PB0731 zu bewerten.

Erwartete Ergebnisse

Normale Gewebe

PB0731 zeigte keinerlei Färbung in einem breiten Spektrum von Gewebeproben. (Anzahl der insgesamt untersuchten Normalgewebeproben = 112).

Tumorgewebe

Mit PB0731 wurde bei Tumoren von Eierstöcken (0/4), Schilddrüse (0/3), Lunge (0/3), Ösophagus (0/2), Brust (0/2), Magen (0/2), Weichteiltumoren (0/2), Tumoren der Zunge (0/2), metastatischen Tumoren unbekanntem Ursprungs (0/2), Tumoren von Leber (0/2), Niere (0/2), Zervix (0/2), Colon (0/2), Rektum (0/2), Haut (0/2) und je einem Tumor von Larynx (0/1), Thymus (0/1) und Gehirn (0/1) keine Färbung nachgewiesen. (Anzahl der insgesamt untersuchten pathologischen Gewebeproben = 37).

PB0731 wird zur Unterstützung beim Screening zur Beurteilung der Anfärbung einer DNA-Testsonde in einer Patientenprobe empfohlen.

Produktspezifische Einschränkungen

DNA Negative Control wurde von Leica Biosystems zur Verwendung mit dem Anti-Biotin Antibody, der Stringency Wash Solution, dem BOND Polymer Refine Detection und BOND-Zusatzreagenzien in formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten Zervixgeweben 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 den Gewebearbeiten und bei der Gewebefixierung und -verarbeitung variieren und müssen empirisch bestimmt werden. Darüber hinaus müssen die Konzentration und die Inkubationszeit des BOND Enzyme je nach Gewebearbeit, -verarbeitung und -fixierungsbedingungen angepasst werden. Bei der Optimierung der Vorbehandlungsbedingungen und Verfahrenszeiten sollten negative Reagenzkontrollen eingesetzt werden.

Fehlersuche

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

Falls Sie ungewöhnliche Farbeergebnisse beobachten, wenden Sie sich an Ihre örtliche Vertriebsfirma oder an 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.

Bibliografie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp,18–20.

Ausgabedatum

17 Oktober 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH

DNA Negative Control

Catálogo N°. : PB0731

Indicaciones de Uso

Este reactivo es para uso diagnóstico *in vitro*.

DNA Negative Control está pensado para su uso en la identificación de la tinción de fondo (ruido) resultado de las interacciones inespecíficas en el tejido fijado en formalina e incluido en parafina mediante la hibridación *in situ* (ISH), utilizando el sistema automatizado BOND (incluye los sistemas Leica BOND-MAX y 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

DNA Negative Control consta de una solución de hibridación utilizada en las sondas de BOND HPV y DNA Positive Control Probe. DNA Negative Control se utiliza en lugar de la sonda, permitiendo así la evaluación de la tinción de fondo resultante de interacciones inespecíficas con la muestra bajo investigación.

Reactivos Suministrados

DNA Negative Control es una solución de hibridación.

Volumen total = 6.25 mL

Dilución y Mezcla

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

Material Necesario pero No Suministrado

Consulte "Uso de reactivos BOND", en la documentación del usuario de BOND, para ver la lista completa de materiales necesarios para el tratamiento de muestras y la tinción por hibridación *in situ* usando el sistema BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III).

Conservación y Estabilidad

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

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

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

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

Precauciones

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

DNA NEGATIVE CONTROL

Contiene Formamida (<70%).

GHS08: Peligro para la salud.

Palabras de advertencia: Peligro.

H360D: Puede dañar al feto.

P201: Pedir instrucciones especiales antes del uso.

P202: No manipular la sustancia antes de haber leído y comprendido todas las instrucciones de seguridad.

P260: No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.

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

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

P314: Consultar a un médico en caso de malestar.

Limitado a usuarios profesionales.

- Si desea obtener una copia 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, www.LeicaBiosystems.com
- Las muestras, antes y después de ser fijadas, y cualquier material en contacto con ellas, deben ser tratadas como sustancias capaces de transmitir infecciones y deben desecharse con las precauciones correspondientes². No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y las mucosas con reactivos o muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas sensibles, lávelas enseguida con abundante agua. 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 y temperaturas de exposición e incubación diferentes de los especificados pueden dar resultados erróneos. Cualquier cambio que se produzca deberá ser validado por el usuario.

Instrucciones de Uso

DNA Negative Control se desarrolló para su uso en el sistema automatizado BOND (incluye los sistemas Leica BOND-MAX y Leica BOND-III) en combinación con Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution y BOND Polymer Refine Detection. El protocolo de tinción recomendado para DNA Negative Control es ISH Protocol B. El pretratamiento enzimático se recomienda usando BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1, durante 15 minutos.

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

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 realizadas. 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 sonda. 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 DNA Negative Control PB0731 en lugar de la sonda para el ensayo de ADN 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 DNA Positive Control Probe PB0682 en lugar de la sonda para el ensayo de ADN 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 DNA Positive Control Probe no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras analizadas deben considerarse no válidos.

Tejido del paciente

Examine las muestras del paciente teñidas con la sonda para el ensayo de ADN al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica de DNA Negative Control PB0731.

Resultados Esperados

Tejidos normales

Al emplear PB0731, en una amplia gama de tejidos no se observó tinción. (Número total de casos normales evaluados = 112).

Tejidos tumorales

Al emplear PB0731 no se observó tinción en los cánceres ováricos (0/4), los cánceres tiroideos (0/3), los cánceres de pulmón (0/3), los cánceres esofágicos (0/2), los cánceres de mama (0/2), los cánceres gástricos (0/2), los sarcomas del tejido blando (0/2), los cánceres de lengua (0/2), los cánceres metastásicos de origen desconocido (0/2), los cánceres hepáticos (0/2), los cánceres de riñón (0/2), los tumores cervicales (0/2), los cánceres de colon (0/2), los tumores rectales (0/2), los cánceres de piel (0/2), el cáncer de laringe (0/1), el cáncer de timo (0/1) y el cáncer cerebral (0/1). (Número total de casos anormales evaluados = 37).

Se recomienda PB0731 como asistente de cribado para valorar la tinción del sensor de ADN de prueba en una muestra del paciente.

Limitaciones Específicas del Producto

DNA Negative Control se ha optimizado en Leica Biosystems para su uso con Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection y reactivos auxiliares BOND en tejido cervical fijado en formalina e incrustado en parafina. 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 el tipo de tejido, en la fijación y en el procesado. Además, es posible que sea necesario optimizar la concentración y el tiempo de incubación de BOND Enzyme en función del tipo de tejido, del procesado y de las condiciones de fijación. Es recomendable utilizar controles de reactivo negativos cuando se optimicen las condiciones de pretratamiento y los tiempos de protocolo.

Resolución de Problemas

La referencia 3 puede ayudar en las acciones correctoras.

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

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.

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Fecha de Publicación

17 de octubre de 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH

DNA Negative Control

Nº de Catálogo: PB0731

Utilização Prevista

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

O DNA Negative Control destina-se a utilização na identificação da coloração em segundo plano resultante de interações não específicas em tecidos embebidos em parafina e fixados em formalina pela hibridização *in situ* (ISH) utilizando o sistema BOND (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

O DNA Negative Control é constituído pela solução de hibridização utilizada nas sondas DNA Positive Control Probe e HPV BOND. O DNA Negative Control é utilizado em vez da sonda, permitindo assim a avaliação da coloração de fundo proveniente de interações inespecíficas dentro do amostra sob investigação.

Reagentes Fornecidos

O DNA Negative Control consiste numa solução de hibridização.

Volume total = 6.25 mL

Diluição e Mistura

O DNA Negative Control está pronto a utilizar. Não é necessária reconstituição, mistura, diluição ou titulação deste reagente.

Materiais Necessários mas Não Fornecidos

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

Armazenamento e Estabilidade

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

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

Coloque entre 2–8 °C imediatamente depois de utilizar

Condições de armazenamento diferentes das acima especificadas devem ser confirmadas pelo utilizador ¹.

Precauções

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

DNA NEGATIVE CONTROL
Contém Formamida (<70%).
GHS08: Perigo para a saúde.
Palavras-sinal: Perigo.

H360D: Pode afectar o
nascimento.

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.

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

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

P314: Em caso de indisposição, consulte um médico.

Limitado a utilizadores profissionais.

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

Instruções de Utilização

O DNA Negative Control foi desenvolvido para utilização no sistema BOND automatizado (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III) em combinação com o Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution e BOND Polymer Refine Detection. O protocolo de coloração recomendado para DNA Negative Control é o ISH Protocol B. Recomenda-se o pré-tratamento enzimático com BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1, durante 15 minutos.

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

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 DNA Negative Control PB0731 em vez da sonda de teste de ADN 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 DNA Positive Control Probe PB0682 em vez da sonda de teste de ADN 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 DNA Positive Control Probe não demonstrar uma coloração positiva, os resultados obtidos com as amostras do teste não devem ser considerados válidos.

Tecido do doente

Examine, no fim, as amostras do doente coradas com a sonda de teste de ADN. A intensidade da coloração positiva deve ser avaliada no contexto de qualquer coloração não específica de fundo de DNA Negative Control PB0731.

Resultados Esperados

Tecidos normais

Utilizando o PB0731 não foi observada coloração numa grande variedade de tecidos. (Número total de casos normais avaliados = 112).

Tecidos tumorais

Utilizando o PB0731 não foi observada coloração em tumores ováricos (0/4), tumores da tireóide (0/3), tumores pulmonares (0/3), tumores esofágicos (0/2), tumores mamários (0/2), tumores do estômago (0/2), tumores dos tecidos moles (0/2), tumores da língua (0/2), tumores metastáticos de origem desconhecida (0/2), tumores hepáticos, (0/2), tumores renais (0/2), tumores do colo do útero (0/2), tumores do cólon (0/2), tumores do reto (0/2), tumores de pele (0/2), um tumor da laringe (0/1), um tumor do timo (0/1) e um tumor cerebral (0/1). (Número total de casos anormais avaliados = 37).

O PB0731 é recomendado para ajudar como uma ferramenta de rastreio para avaliar a coloração de uma sonda de teste de ADN numa amostra do paciente.

Limitações Específicas para o Produto

DNA Negative Control foi otimizada na Leica Biosystems para utilização com o Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection e reagentes auxiliares BOND em tecidos do colo do útero fixos com formalina e embebidos em parafina. Os utilizadores que se desviem dos procedimentos de teste recomendados devem assumir a responsabilidade pela interpretação dos resultados dos doentes nestas circunstâncias. Os tempos do protocolo podem variar, em virtude de variações ao nível do tipo de tecido, fixação e processamento. Para além disso, a concentração da BOND Enzyme e o tempo de incubação podem requerer optimização, dependendo do tipo de tecido, condições de processamento e de fixação. Os controlos de reagente negativos devem ser usados quando se optimizam as condições de pré-tratamento e os tempos do protocolo.

Resolução de Problemas

A Referência 3 pode ajudar na acção de resolução.

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

Informações Adicionais

Poderá encontrar informações adicionais sobre hibridização *in situ* com reagentes BOND nas secções de Princípios do Procedimento, Materiais Necessários, 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. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Data de Emissão

17 de Outubro de 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Negative Control

Artikelnummer: PB0731

Användningsområde

Reagenset är avsett för *in vitro*-diagnostik.

DNA Negative Control är avsedd för användning vid identifiering av bakgrundsfärgning som resulterar ur icke specifika interaktioner i formalinfixerad, paraffinbäddad vävnad vid *in situ*-hybridisering (ISH) med användning av det automatiserat BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX- och Leica BOND-III-system).

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

DNA Negative Control består av hybridiseringslösning som används i BOND HPV och DNA Positive Control Probe Probes. DNA Negative Control används i stället för proben, vilket därmed möjliggör utvärdering av bakgrundsfärgning resulterande från icke-specifika interaktioner i provet under undersökningen.

Ingående Reagenser

DNA Negative Control är en hybridiseringslösning.

Total volym = 6.25 mL

Spädning och Blandning

DNA Negative Control är färdig att användas. Denna reagens behöver varken rekonstitueras, blandas, spädas eller titreras.

Nödvändig 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 *in situ* hybridisering-färgning med BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III).

Förvaring och Stabilitet

Förvara vid 2–8 °C. Produkten är stabil under dessa förhållanden fram till utgångsdatum som anges på behållarens 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 användaren¹.

Säkerhetsföreskrifter

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

DNA NEGATIVE CONTROL

H360D: Kan skada det ofödda barnet.

Innehåller Formamid (<70%).

GHS08: Hälsofara.

Signalord: Fara.

P201: Inhämta särskilda instruktioner före användning.

P202: Använd inte produkten innan du har läst och förstätt säkerhetsanvisningarna.

P260: Inandas inte damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej.
P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.

P308+313: Vid exponering eller misstanke om exponering
Sök läkarhjälp.

P314: Sök läkarhjälp vid obehag.

Endast för yrkesmässig användning.

- Du kan få tag på ett säkerhetsdatablad genom att kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor, eller besöka Leica Biosystems webbplats www.LeicaBiosystems.com
- Prover, både före och efter fixering, samt all materiel som exponeras för dem, bör behandlas och avfallshanteras som potentiellt smittbärande material¹. Munpipettera aldrig reagens och undvik att hud eller slemhinnor kommer i kontakt med reagens eller prover. Om reagens eller prover skulle komma i kontakt med känsliga områden bör du tvätta dig med rikliga mängder vatten. Kontakta läkare.
- Angående avfallshantering av potentiellt toxiska material hänvisar vi till gällande europeiska, nationella och lokala bestämmelser och förordningar.
- Minimera mikrobiologisk kontamination av reagenser, annars kan en ökad icke-specifik infärgning bli resultatet.
- Retrieval, inkubationstider eller temperaturer som avviker mot dem angivna kan ge felaktiga resultat. Varje sådan förändring måste valideras av användaren.

Bruksanvisning

DNA Negative Control har utvecklats för användning på det automatiserade BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX- och Leica BOND-III-system) i kombination med Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution och BOND Polymer Refine Detection. Det rekommenderade färgningsprotokollet för DNA Negative Control är ISH Protocol B. Enzymatisk förbehandling med BOND

Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 rekommenderas, 15 minuter.

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

Kvalitetskontroll

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

Positiv vävnadskontroll

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

Negativ vävnadskontroll

Bör undersökas efter den positiva vävnadskontrollen, för att bekräfta sondmärkningens specificitet gentemot målet.

Alternativt ger ofta den mängd olika celltyper som finns i de flesta vävnadssnitt upphov till negativa kontrollområden, men detta bör kontrolleras av användaren.

Negativ reagenskontroll

Använd DNA Negative Control PB0731 i stället för DNA-testsonden på en begränsad del av varje patientprov för att utvärdera icke-specifik färgning och underlätta tolkningen av specifik infärgning av målet.

Positiv reagenskontroll

Använd DNA Positive Control Probe PB0682 i stället för DNA-testsonden på en begränsad del av varje patientprov för information om bibehållande av nukleinsyror i vävnaden samt sondens tillgång till nukleinsyror. Om DNA Positive Control Probe inte uppvisar positiv färgning bör resultat erhållna från testproverna anses vara ogiltiga.

Patientvävnad

Undersök patientprover färgade med DNA-testsonden sist. Positiv färgningsintensitet bör utvärderas inom ramen för all ospecifik bakgrundsfärgning av DNA Negative Control PB0731.

Förväntade Resultat

Normala vävnader

Vid användning av PB0731 observerades ingen färgning i ett stort antal olika vävnader. (Totalt antal utvärderade normalfall = 112).

Tumörvävnader

Vid användning av PB0731 observerades ingen färgning i äggstockstumörer (0/4), sköldkörteltumörer (0/3), lungtumörer (0/3), esofagealtumörer (0/2), brösttumörer (0/2), magsäckstumörer (0/2), mjukvävnadstumörer (0/2), tumörer på tunga (0/2), metastatiska tumörer av okänt ursprung (0/2), levertumörer (0/2), njurtumörer (0/2), livmoderhalstumörer (0/2), kolontumörer (0/2), rektala tumörer (0/2), hudtumörer (0/2), en struphuvudtumör (0/1), en thymustumör (0/1) samt en hjärntumör (0/1). (Totalt antal utvärderade onormala fall = 37).

PB0731 rekommenderas för att underlätta som ett screeningverktyg, för att utvärdera färgning av en DNA-testprob på ett patientprov.

Produktspecifika Begränsningar

DNA Negative Control har optimerats av Leica Biosystems för användning med Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection och BOND hjälpreagenser på formalinfixerad, paraffinbäddad livmoderhalsvävnad. Användare som inte följer rekommenderade testprotokoll måste ta på sig ansvaret för att korrekt tolka patientresultat under dessa förhållanden. Protokolltiderna kan variera, till följd av variation i vävnadstyp, fixering och bearbetning. Dessutom kan BOND Enzyme-koncentration och -inkubationstiden behöva optimeras beroende på vävnadstyp samt bearbetnings- och fixeringsförhållanden. Negativa reagenskontroller bör användas när man optimerar betingelserna för förbehandling och protokolltider.

Felsökning

Referens 3 kan hjälpa till vid åtgärdande av problem.

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

Mer Information

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

Litteraturförteckning

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Utgivningsdatum

18 oktober 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH

DNA Negative Control

Αρ. Καταλόγου: PB0731

Σκοπός Χρήσης

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

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

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

Περίληψη και Επεξήγηση

Το DNA Negative Control αποτελείται από το διάλυμα υβριδοποίησης που χρησιμοποιείται στα BOND HPV και DNA Positive Control Probe Probes. Το DNA Negative Control χρησιμοποιείται στη θέση του ανιχνευτή, καθιστώντας έτσι δυνατή την εκτίμηση της χρώσης υποβάθρου που δημιουργήθηκε από μη ειδικές αντιδράσεις μέσα στο υπό έρευνα δείγμα.

Αντιδραστήρια Που Παρέχονται

Το DNA Negative Control είναι διάλυμα υβριδοποίησης.

Συνολικός όγκος = 6,25 mL

Αραίωση και Ανάμειξη

Το DNA Negative Control είναι έτοιμο για χρήση. Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμειξη, αραίωση ή τιπλοδότηση αυτού του αντιδραστήριου.

Υλικά Που Χρειάζονται αλλά Δεν Παρέχονται

Ανατρέξτε στην ενότητα "Χρήση των Αντιδραστηρίων BOND" στην τεκμηρίωση χρήσης της BOND για μια πλήρη λίστα των υλικών που απαιτούνται για την κατεργασία δειγμάτων και την επιτόπια χρώση υβριδοποίησης, χρησιμοποιώντας το σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III).

Φύλαξη και Σταθερότητα

Φύλαξη στους 2–8 °C. Το προϊόν είναι σταθερό κάτω από αυτές τις συνθήκες μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του δοχείου.

Δεν υπάρχει καμία εμφανής ένδειξη που υποδηλώνει μόλυνση ή/και αστάθεια. Ταυτόχρονα με τον ιστό της εξέτασης πρέπει να αναλύονται κατάλληλοι θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες ιστού.

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

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

Προφυλάξεις

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

DNA NEGATIVE CONTROL

Περιέχει Φορμαμίδιο (<70%).

GHS08: Κίνδυνος για την υγεία.

Προειδοποιητές λέξεις:

Κίνδυνος.

H360D: Μπορεί να βλάψει το έμβρυο.

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

P202: Μην το χρησιμοποιήσετε πριν διαβάσετε και κατανοήσετε τις οδηγίες προφυλάξης.

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

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

P308+313: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ έκθεσης ή πιθανότητας έκθεσης: Συμβουλευθείτε/Επισκεφθείτε γιατρό.

P314: Συμβουλευθείτε/Επισκεφθείτε γιατρό εάν αισθανθείτε αδιαθεσία.

Μόνο για επαγγελματική χρήση.

- Αν θέλετε ένα αντίγραφο του Δελτίου Δεδομένων Ασφαλείας Υλικού επικοινωνήστε με τον αντιπρόσωπο ή το περιφερειακό γραφείο της Leica Biosystems, ή εναλλακτικά, επισκεφθείτε τον ιστότοπο της Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- Ο χειρισμός των δειγμάτων, πριν και μετά τη μονιμοποίηση και όλων των υλικών που εκτίθενται σε αυτά, θα πρέπει να γίνεται σαν να ήταν ικανά να μεταδώσουν μόλυνση και θα πρέπει να απορρίπτονται λαμβάνοντας κατάλληλες προφυλάξεις². Μην κάνετε ποτέ αναρρόφηση αντιδραστηρίων με πιπέτα με το στόμα και αποφεύγετε την επαφή του δέρματος και των βλεννογόνων με αντιδραστήρια ή δείγματα. Αν αντιδραστήρια ή δείγματα έρθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφθονο νερό. Ζητήστε ιατρική συμβουλή.
- Συμβουλευτείτε τους ομοσπονδιακούς, πολιτειακούς ή τοπικούς κανονισμούς για απόρριψη τυχόν δυνητικώς τοξικών συστατικών.

- Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διαφορετικά μπορεί να υπάρξει αύξηση σε μη ειδική χρώση.
- Ανάκτηση, χρόνοι επώασης ή θερμοκρασίες διαφορετικές από τις καθορισμένες, μπορεί να οδηγήσουν σε εσφαλμένα αποτελέσματα. Οποιαδήποτε τέτοια αλλαγή πρέπει να επικυρώνεται από τον χρήστη.

Οδηγίες Χρήσης

Το DNA Negative Control αναπτύχθηκε για χρήση με το αυτοματοποιημένο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III) σε συνδυασμό με το Anti-Biotin Antibody, το Stringency Wash Solution και το BOND Polymer Refine Detection. Το συνιστώμενο πρωτόκολλο χρώσης για το DNA Negative Control είναι το ISH Protocol B. Συνιστάται ενζυμική προεπεξεργασία με χρήση του BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1, για 15 πρακτικά.

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

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 διαφόρων κυτταρικών τύπων που υπάρχουν στις περισσότερες τομές ιστών παρέχει συχνά θέσεις αρνητικού μάρτυρα, αλλά αυτό θα πρέπει να επαληθεύεται από τον χρήστη.

Αρνητικός μάρτυρας αντιδραστηρίου

Χρησιμοποιήστε το DNA Negative Control PB0731 αντί του ανιχνευτή εξέτασης DNA με μια τομή κάθε δείγματος ασθενούς, για να αξιολογήσετε τη μη ειδική χρώση και να επιπρέψετε την καλύτερη ερμηνεία της ειδικής χρώσης στο στόχο.

Θετικός μάρτυρας αντιδραστηρίου

Χρησιμοποιήστε το DNA Positive Control Probe Probe PB0682 αντί του ανιχνευτή εξέτασης DNA 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 DNA Positive Control Probe Probe δεν παρουσιάζει θετική χρώση, τα αποτελέσματα με τα δείγματα της εξέτασης θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

Ιστός ασθενούς

Εξετάστε τα δείγματα ασθενούς που έχουν υποστεί χρώση με τον ανιχνευτή εξέτασης DNA στο τέλος. Η ένταση της θετικής χρώσης θα πρέπει να εκτιμάται στο πλαίσιο τυχόν μη ειδικής χρώσης υποβάθρου του DNA Negative Control PB0731.

Αναμενόμενα Αποτελέσματα

Φυσιολογικοί ιστοί

Κατά τη χρήση του PB0731 δεν παρατηρήθηκε χρώση σε μεγάλο εύρος ιστών. (Συνολικός αριθμός φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 112).

Νεοπλασματικοί ιστοί

Κατά τη χρήση του PB0731 δεν παρατηρήθηκε χρώση σε όγκους των ωοθηκών (0/4), όγκους του θυρεοειδούς (0/3), όγκους των πνευμόνων (0/3), όγκους του οισοφάγου (0/2), όγκους του μαστού (0/2), όγκους του στομάχου (0/2), όγκους μαλακών μορίων (0/2), όγκους της γλώσσας (0/2), μεταστατικούς όγκους αγνώστου αιτιολογίας (0/2), όγκους του ήπατος (0/2), όγκους των νεφρών (0/2), όγκους του τραχήλου της μήτρας (0/2), όγκους στο κόλον (0/2), όγκους του ορθού (0/2), όγκους του δέρματος (0/2), έναν όγκο του λάρυγγα (0/1), έναν όγκο του θύμου αδένου (0/1) και έναν όγκο του εγκεφάλου (0/1). (Συνολικός αριθμός μη φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 37).

Το PB0731 συνιστάται ως επικουρικό εργαλείο προληπτικού ελέγχου για την αξιολόγηση της χρώσης ανιχνευτή DNA σε δείγμα ασθενή.

Ειδικό Περιορισμό Του Προϊόντος

Το DNA Negative Control έχει βελτιστοποιηθεί στη Leica Biosystems για χρήση με Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection και βοηθητικά αντιδραστήρια BOND σε σταθεροποιημένο με φορμαλίνη, εμπτισμένο με παραφίνη τραχηλικό ιστό. Οι χρήστες που παρεκκλίνουν από τις συνιστώμενες διαδικασίες εξέτασης, πρέπει να αναλάβουν την ευθύνη για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων των ασθενών υπό αυτές τις συνθήκες. Οι χρόνοι του πρωτοκόλλου μπορεί να διαφέρουν, λόγω της διαφοροποίησης στον τύπο, τη σταθεροποίηση και την επεξεργασία του ιστού. Επιπλέον, η συγκέντρωση και ο χρόνος επώασης του BOND Enzyme μπορεί να απαιτεί βελτιστοποίηση, ανάλογα με τον τύπο και τις συνθήκες επεξεργασίας και σταθεροποίησης του ιστού. Κατά τη βελτιστοποίηση των συνθηκών προκατεργασίας και των χρόνων πρωτοκόλλου θα πρέπει να χρησιμοποιούνται αντιδραστήρια αρνητικού ελέγχου.

Αντιμετώπιση Προβλημάτων

Η παραπομπή 3 μπορεί να βοηθήσει σε θεραπευτικές ενέργειες.

Επικοινωνήστε με τον αντιπρόσωπο ή το περιφερειακό γραφείο της Leica Biosystems για να αναφέρετε ασυνήθιστη χρώση.

Πρόσθετες Πληροφορίες

Μπορείτε να βρείτε περισσότερες πληροφορίες σχετικά με την επιτόπια υβριδοποίηση 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.

Βιβλιογραφία

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Ημερομηνία Έκδοσης

17 Οκτωβρίου 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Negative Control

Katalognummer: PB0731

Tilsigtet Anvendelse

Dette reagens er beregnet til *in vitro* diagnostik.

DNA Negative Control er beregnet til brug ved identifikation af baggrundsfarvning som følge af uspecifikke interaktioner i formalinfikseret, paraffinindstøbt væv ved *in situ*-hybridisering (ISH) under anvendelse 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 samt evalueres af en uddannet patolog, som ser fortolkningen i kontekst med patientens anamnese samt andre diagnostiske prøver.

Resumé og Forklaring

DNA Negative Control består af den hybridiseringsopløsning, der anvendes i BOND HPV og DNA Positive Control Probe. I stedet for proben anvendes DNA Negative Control, og derved bliver det muligt at vurdere den baggrundsfarvning, som skyldes uspecifik interaktion i prøvepræparatet i løbet af undersøgelsen.

Leverede Reagenser

DNA Negative Control er en hybridiseringsopløsning.

Volumen i alt = 6.25 mL

Fortynding og Blanding

DNA Negative Control 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-brugervejledningen for en komplet liste over materialer, der er nødvendige til præparatbehandling og *in situ* hybridiseringsfarvning ved hjælp af BOND-systemet (bestående af Leica BOND-MAX systemet og Leica BOND-III-systemet).

Opbevaring og Stabilitet

Opbevares ved 2–8 °C. Under disse forhold er produktet stabilt frem til udløbsdatoen, som er angivet på etiketten på beholderen.

Der er ingen klare tegn, som indikerer kontaminering og/eller instabilitet. Passende positive og negative vævskontroller bør køres samtidigt med prøvevæv.

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

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

Forholdsregler

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

DNA NEGATIVE CONTROL

Indeholder Formamid (<70%).

GHS08: Sundhedsfarer.

Signalord: Fare.

H360D: Kan skade det ufødte barn.

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.

P280: Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

P308+313: VED eksponering eller mistanke om eksponering:

Søg lægehjælp.

P314: Søg lægehjælp ved ubehag.

Må kun anvendes af professionelle brugere.

- En kopi af sikkerhedsdatabladet, Material Safety Data Sheet (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 materialer eksponeret for præparater, skal håndteres som værende i stand til at overføre infektion og skal bortskaffes efter passende forholdsregler². Afpipetter ikke reagenser med munden, og undgå at reagenser og præparater kommer i kontakt med hud og slimhinder. Hvis reagenser eller præparater kommer i kontakt med følsomme områder, skal disse vaskes med rigelige mængder vand. Søg læge.
- Bortskaffelse af potentielt toksiske komponenter skal ske i overensstemmelse med gældende statslig eller lokal lovgivning.
- Mikrobiel kontaminering af reagenser skal minimeres for at undgå en øget uspecifik farvning.
- Søgegentagelse og inkubationstider eller temperaturer, som afviger fra de specificerede, kan give fejlagtige resultater. Enhver af sådanne ændringer skal valideres af brugeren.

Brugsanvisning

DNA Negative Control er udviklet til brug på det automatiske BOND-system (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) sammen med Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution og BOND Polymer Refine Detection. Den anbefalede farvningsprotokol for DNA Negative Control er ISH Protocol B. 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 DNA testproben.

Kvalitetskontrol

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

Positiv vævskontrol

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

Negativ vævskontrol

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

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

Negativ reagenskontrol

Brug DNA Negative Control PB0731 i stedet for DNA testproben på et snit af hver patientprøve for at vurdere uspecifik farvning og muliggøre bedre fortolkning af specifik farvning på målstedet.

Positiv reagenskontrol

Brug DNA Positive Control Probe PB0682 i stedet for DNA testproben på et snit af hver patientprøve for at undersøge holdbarheden af kernesyrerne og samtidig probens tilgængelighed til kernesyrerne. Hvis den DNA Positive Control Probe ikke bliver positivt farvet, må testresultatet fortolkes som ikke brugbart.

Patientvæv

Undersøg patientprøver farvet med DNA testproben sidst. Intensiteten af positiv farvning skal bedømmes i sammenhæng med uspecifik baggrundsfarvning af DNA Negative Control PB0731.

Forventede Resultater

Normala væv

Ved brug af PB0731 blev ingen farvning observeret i en lang række væv. (Samlet antal evaluerede, normale tilfælde = 112).

Tumorvæv

Ved brug af PB0731 blev ingen farvning observeret i ovarietumorer (0/4), thyreoideatumorer (0/3), lungetumorer (0/3), øsofagustumorer (0/2), brysttumorer (0/2), mavetumorer (0/2), bløddelstumorer (0/2), tungetumorer (0/2), metastatiske tumorer af ukendt oprindelse (0/2), levertumorer (0/2), nyretumorer (0/2), cervixtumorer (0/2), colontumorer (0/2), tumorer i rectum (0/2), tumorer i hud (0/2), en tumor i larynx (0/1), en thymustumor (0/1) og en hjernetumor (0/1). (Samlet antal evaluerede, abnorme tilfælde = 37).

PB0731 anbefales som et screeningsværktøj til at vurdere farvning af en DNA-testprobe på en patientprøve.

Produktspecifikke Begrænsninger

DNA Negative Control er optimeret hos Leica Biosystems til brug med Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection og BOND hjælpereagenser på formalinfixeret, paraffinindstøbt, cervix-væv. Brugere, som afviger fra anbefalede testprocedurer, må selv tage ansvaret for fortolkningen af patientresultater under disse betingelser. Protokolliderne kan variere på grund af variation i vævstypen, fikseringen og behandlingsprocessen. Derudover kan koncentrationen af og inkubationstiden for BOND Enzyme kræve optimering alt efter vævstype, behandlingsproces og forholdene ved fiksering. Ved optimering af forbehandlingsforhold og protokollider bør der anvendes negative reagenskontroller.

Fejlfinding

Se reference 3 for hjælpeforanstaltninger.

Kontakt venligst 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-brugervejledningen under overskrifterne Proceduremæssige principper, Nødvendige materialer, Præparatklargøring, Kvalitetskontrol, Analyseverifikation, Fortolkning af farvning, Nøgle til symboler på etiketter og Generelle begrænsninger.

Bibliografi

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Udgivelsesdato

17 oktober 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Negative Control

Catalogusnummer.: PB0731

Beoogd gebruik

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

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

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

Samenvatting en uitleg

DNA Negative Control bestaat uit de Hybridization Solution gebruikt in de BOND HPV en DNA Positive Control Probe Probes. DNA Negative Control wordt gebruikt in plaats van de probe en maakt beoordeling mogelijk van de achtergrondkleuring als gevolg van niet-specifieke interactie binnen het onderzochte monster.

Geleverde reagentia

DNA Negative Control is een Hybridization Solution.

Totaal volume = 6,25 ml

Verdunnen en mengen

DNA Negative Control 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 de container is vermeld.

Er zijn geen zichtbare tekenen die kunnen duiden op besmetting en/of instabiliteit.

Tegelijk met het testweefsel moet weefsel voor positieve en negatieve controle worden gebruikt. Zet het product direct na gebruik weer terug bij een temperatuur van 2-8 °C.

Afwijkende opslagomstandigheden moeten worden geverifieerd door de gebruiker¹.

Voorzorgsmaatregelen

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

DNA NEGATIVE CONTROL

Bevat Formamide (<70%).
GHS08: Gezondheidsgevaar.
Signaalwoorden: Gevaar.

H360D: Kan het ongeboren kind schaden.

P201: 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.

P280: Beschermende handschoenen/beschermende kleding/ogbeschermering/gelaatsbeschermering dragen.

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

P314: Bij onwel voelen een arts raadplegen.
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 tussen huid en slijmvliezen en 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

DNA Negative Control is ontwikkeld voor gebruik op het automatische BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem), in combinatie met Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution en BOND Polymer Refine Detection. Het aanbevolen kleuringsprotocol voor de DNA Negative Control is ISH Protocol B.

Aanbevolen wordt enzymatisch voor te behandelen 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 weefsel- en reagenscontroles moet overeenstemmen met dat van de DNA-testprobe.

Kwaliteitscontrole

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

Positieve weefselcontrole

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

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

Negatieve weefselcontrole

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

Negatieve reagenscontrole

Gebruik DNA Negative Control PB0731 in plaats van de DNA teststift met een coupe van ieder patiëntmonster om niet-specifieke kleuring te evalueren en specifieke kleuring bij het target beter te kunnen interpreteren.

Positieve controlereagens

Gebruik de DNA Positive Control Probe Probe PB0682 in plaats van de DNA-testprobe met een preparaat van elk patiëntmonster om informatie te verkrijgen over het behoud van nucleïnezuren in het weefsel en over de toegankelijkheid van nucleïnezuren voor de probe. Als de DNA Positive Control Probe geen juiste positieve kleuring vertoont, moeten de resultaten van de testspecimens als ongediagd worden beschouwd.

Patiëntenweefsel

Onderzoek de patiëntmonsters gekleurd met de DNA-testprobe als laatste. De intensiteit van de positieve kleuring moet worden geëvalueerd binnen de context van eventuele niet-specifieke achtergrondkleuring met DNA Negative Control PB0731.

Forventede resultaten

Normaal vev

Met gebruik van PB0731 werd geen verkleuring waargenomen in een groot aantal uiteenlopende weefsels. (Totaal aantal beoordeelde normale gevallen = 112).

Tumorvev

Met gebruik van PB0731 werd geen kleuring waargenomen in ovariumtumoren (0/4), schildkliertumoren (0/3), longtumoren (0/3), slokdarmtumoren (0/2), borsttumoren (0/2), maagtumoren (0/2), wekdelentumoren (0/2), tongtumoren (0/2), gemetastseerde tumoren van onbekende oorsprong (0/2), levertumoren (0/2), niertumoren (0/2), baarmoederhalstumoren (0/2), colontumoren (0/2), rectumtumoren (0/2), huidtumoren (0/2), een tumor van de larynx (0/1), een tumor van de thymus (0/1) en een hersentumor (0/1). (Totaal aantal beoordeelde afwijkende gevallen = 37).

PB0731 wordt aanbevolen als opsporingsmethode om aankleuring van een DNA-testprobe op een patiëntmonster te evalueren.

Productspecifieke beperkingen

De DNA Negative Control is door Leica Biosystems geoptimaliseerd voor gebruik met Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection en BOND hulpmiddelreagentia bij met formaline gefixeerd, in paraffine ingebed cervixweefsel. Gebruikers die afwijken van de aanbevolen testprocedures moeten verantwoordelijkheid nemen voor interpretatie van patiëntresultaten onder deze omstandigheden. De protocoltijden kunnen variëren wegens variatie van het weefseltype, de fixatie en de verwerking. Bovendien kan optimalisatie van de concentratie en incubatietijd van het BOND enzym nodig zijn, afhankelijk van het weefseltype, de verwerking en de fixatiecondities. Negatieve reagenscontroles moeten worden gebruikt bij de optimalisatie van voorbehandelingscondities en protocoltijden.

Probleemoplossing

Referentie 3 helpt mogelijk bij fouterstelling. 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 reagens, onder de kopjes Principe van de procedure, Benodigde materialen, Monsterpreparatie, Kwaliteitscontrole, Testverificatie, Interpretatie van kleuring, Uitleg bij symbolen op etiketten en Algemene beperkingen, kunt u vinden in "Het gebruik van BOND reagentia" in de gebruikersdocumentatie behorende bij BOND.

Bibliografie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Publicatiedatum

17 oktober 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH

DNA Negative Control

Katalognummer.: PB0731

Tiltenkt bruk

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

DNA Negative Control er beregnet for bruk i identifikasjonen av bakgrunnsfarging som følge av uspesifikke interaksjoner i formalinfiksert vev innstøpt i parafin ved *in situ* hybridisering (ISH) med det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Den kliniske tolkningen av farge eller manglende farge bør suppleres med

morfologiske undersøkelser og bruk av egnede kontroller, og bør evalueres av en kvalifisert patolog i lys av pasientens kliniske historie og eventuelle andre diagnostiske tester.

Oppsummering og forklaring

DNA Negative Control består av hybridization solution brukt i BOND HPV og DNA Positive Control Probe Probes. DNA Negative Control brukes i stedet for sonden, og vil derved muliggjøre vurdering av bakgrunnsfargingen som resulterer fra ikke-spesifikke interaksjoner i prøven som studeres.

Medfølgende reagenser

DNA Negative Control er en hybridiseringsløsning.

Samlet volum = 6,25 ml

Oppløsning og blanding

DNA Negative Control er klar til bruk. Rekonstituering, blanding, fortykning eller titring av denne reagensen er ikke nødvendig.

Materialer som trengs, men som ikke følger med

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

Oppbevaring og stabilitet

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

Det er ingen åpenbare tegn som indikerer kontaminering og/eller ustabilitet.

Egnede positive og negative vevskontroller skal kjøres samtidig som testvev. Returneres til 2–8 °C umiddelbart etter bruk.

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

Forholdsregler

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

DNA NEGATIVE CONTROL

Inneholder Formamid (<70%).

GHS08: Helsefare.

Signalord: Fare.

H360D: Kan gi fosterskader.

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.

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

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

P314: Søk legehjelp ved ubehag.

Kun til yrkesmessig bruk.

- For å få en kopi av HMS-databladet, kontakt din lokale forhandler eller det regionale kontoret til Leica Biosystems, alternativt kan du besøke 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 i henhold til riktige forholdsregler². Hold aldri pipetter med reagens i munnen, og unngå at hud og slimhinner kommer i kontakt med reagenser og prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal områdene vaskes med rikelig vann. Kontakt lege.
- Følg nasjonale og lokale forskrifter for avhending av komponenter som kan være giftige.
- Reduser mikrobiell forurensning av reagensene, ellers kan en økning av ikke-spesifikk farging forekomme. Gjenvinning, inkubasjonstider eller temperaturer annet enn det som er angitt, kan gi uøyaktige resultater. Slike endringer må valideres av brukeren.

Bruksanvisning

DNA Negative Control ble utviklet for bruk på det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) i kombinasjon med Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution og BOND Polymer Refine Detection. Den anbefalte fargingsprotokollen for DNA Negative Control er ISH Protocol B.

Til enzymatisk forbehandling, anbefales det å bruke BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1, i 15 minutter.

Egnede vevs- og reagenskontroller bør alltid benyttes. Protokollen for vev- og reagenskontroller skal tilsvare DNA-testsonden.

Kvalitetskontroll

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

Positiv vevskontroll

Brukes for å påvise korrekt vevspreparering og riktige fargingsteknikker.

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

Negativ vevskontroll

Bør undersøkes etter den positive vevskontrollen for å sikre at sonden merker målet spesifikt.

Alternativt kan mengden av ulike celletyper tilstede i de fleste vevsseksjoner ofte gi negative kontrollområder, men dette bør verifiseres av brukeren.

Negativ reagenskontroll

Bruk DNA Negative Control PB0731 i stedet for DNA-testsonden med en del av hver pasientprøve for å vurdere ikke-spesifikk farging og tillate bedre tolkning av spesifikk farging på målet.

Positiv reagenskontroll

Bruk DNA Positive Control Probe PB0682 i stedet for DNA-testsonde 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 DNA Positive Control Probe unnlater å demonstrere positiv farging, bør resultater med prøvene anses som ugyldige.

Pasientvev

Undersøke pasient prøver farget med DNA-testsonde til slutt. Positiv fargingsintensitet bør vurderes i sammenheng med en hvilken som helst ikke-spesifikk bakgrunnsfarging av DNA Negative Control PB0731.

Forventede resultater

Normalt vev

Ved bruk av PB0731 ble ingen farging observert i et vidt spekter av vev. (Totalt antall evaluerte normale tilfeller = 112).

Tumorvev

Ved bruk av PB0731 ble ingen farging observert i eggstokksvulster (0/4), skjoldbruskjertelsvulster (0/3), lungesvulster (0/3), spiserørsvulster (0/2), brystsvulster (0/2), magesvulster (0/2), bløtvevsvulster (0/2), tungesvulster (0/2), metastatiske svulster med ukjent opprinnelse (0/2), leversvulster (0/2), nyresvulster (0/2), livmorhalsvulster (0/2), tykktarmskreft (0/2), endetarmssvulster (0/2), hudkreft (0/2), en svulst på strupehodet (0/1), en svulst i thymus (0/1) og en tumor i hjernen (0/1). (Totalt antall evaluerte unormale tilfeller = 37).

PB0731 er anbefalt som et hjelperekskap for å evaluere farging av en DNA-testsonde hos en prøvopasient.

Produktspesifikke begrensninger

DNA Negative Control har blitt optimalisert ved Leica Biosystems for bruk med Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection og BOND tilhørende reagenser på formalinfiksert, cervicalt vev innstøpt i parafin. Brukere som avviker fra anbefalte testprosedyrer må ta ansvar for tolkning av pasientresultater under disse omstendighetene. Protokollidene kan variere på grunn av variasjon i vevstype, fiksering og behandling. I tillegg kan BOND Enzyme-konsentrasjon og inkubasjonstid kreve optimalisering avhengig av vevstype, behandling og fikseringsforhold. Negative reagenskontroller bør brukes når du optimaliserer førbehandlingsforhold og protokolltider.

Feilsøking

Referanse nr. 3 kan hjelpe til med opprettingstiltak.

Kontakt din lokale forhandler eller regionale kontor for Leica Biosystems for rapportering av uvanlig misfarging.

Videre informasjon

Ytterligere informasjon om *in situ* hybridisering med BOND reagenser, under overskriften Prinsipp for prosedyren, Materialer som er nødvendige, forberedning, kvalitetskontroll, analysebekreftelse, tolkning av farging, symbol på etiketter og vanlige begrensninger kan finnes i "Bruk av BOND-reagenser" i din BOND-brukerdokumentasjon.

Bibliografi

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Utgivelsesdato

17 oktober 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH

DNA Negative Control

Katalog No: PB0731

Kullanım Amacı

Bu reaktif, *in vitro* tanı kullanımı içindir.

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

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

Özet ve Açıklama

DNA Negative Control, BOND HPV ve DNA Positive Control Probe Probe'larda kullanılan Hybridization Solution'dan meydana gelir. DNA Negative Control, probun yerine kullanılır, böylece araştırma kapsamındaki numune içerisindeki spesifik olmayan etkileşimlerin sonucunda meydana gelen arka plan lekelenmesinin değerlendirilmesini sağlar.

Sağlanan Reaktifler

DNA Negative Control bir hibridizasyon solüsyonudur.

Toplam hacim = 6,25 mL

Seyreltme ve Karıştırma

DNA Negative Control 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 kılavuzundaki "BOND Reaktiflerinin Kullanımı" bölümüne bakın.

Saklama ve Stabilitte.

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 mutlaka kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır¹.

Önlemler

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

DNA NEGATIVE CONTROL

Formamid İçeriyor (<70%).

GHS08: Sağlık tehlikesi.

İsaret kelimesi: Tehlike.

H360D: Anne karnında çocuğa zarar verebilir.

P201: Kullanmadan önce özel talimatları alıniz.

P202: Kullanmadan önce tüm güvenlik talimatlarını okuyunuz ve anlayınız.

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

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

P308+P313: Maruziyet veya etkilenme HALİNDE: Tıbbi tavsiye / bakım alın.

P314: Kendinizi iyi hissetmemeniz halinde.

Sadece uzmanlar tarafından kullanılmalıdır.

- Malzeme Güvenlik Bilgi Formunun bir kopyasını almak için yerel distribütörünüz veya Leica Biosystems bölge ofisi ile iletişime geçin veya Leica Biosystems'in internet sitesini ziyaret edin: www.LeicaBiosystems.com.
- Fiksasyondan önce ve sonra numuneler ve bunlara maruz kalan tüm malzemeler enfeksiyon bulaştırabilen maddeler olarak ele alınmalı ve uygun önlemler alınarak imha edilmelidir². Reaktifleri hiçbir zaman 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

DNA Negative Control, Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection ile kombinasyon halinde otomatik BOND sistemi (Leica BOND-MAX sistemini ve Leica BOND-III sistemini de içermektedir) üzerinde kullanılmak için geliştirilmiştir. DNA Negative Control için önerilen "boyama protokolü, ISH Protocol B" dir.

15 dakika süreyle BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 kullanılmak suretiyle enzimatik ön işlem uygulanması tavsiye olunur. Her zaman uygun doku ve reaktif kontrolleri kullanılmalıdır. Doku ve reaktif kontrolleri protokolü DNA 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 DNA test probu yerine DNA Negative Control PB0731'i kullanın.

Pozitif Reaktif Kontrolü

Dokudaki nükleik asitlerin korunması ve nükleik asitlerin proba ulaşabilirliği hakkında bilgi sağlamak için her hasta numunesinin bir kesiti ile DNA test probu yerine DNA Positive Control Probe PB0682'yi kullanın. DNA Positive Control Probe'un pozitif boyama gösteremediği durumlarda, test numuneleri ile elde edilen sonuçlar geçersiz olarak kabul edilmelidir.

Hasta Dokusu

En son DNA test probu ile boyanmış hasta numunelerini inceleyin. Pozitif boyama yoğunluğu DNA Negative Control PB0731'un spesifik olmayan arka plan boyaması bağlamında değerlendirilmelidir.

Öngörülen Sonuçlar

Normal Dokular

PB0731 kullanıldığında çok sayıda dokuda boyama gözlemlenmemiştir. (Değerlendirilen toplam normal vaka sayısı = 112).

Tümörlü Dokular

PB0731 kullanıldığında ovaryen tümörleri (0/4), tiroid tümörleri (0/3), akciğer tümörleri (0/3), özofagus tümörleri (0/2), göğüs tümörleri (0/2), mide tümörleri (0/2), yumuşak doku tümörleri (0/2), dil tümörleri (0/2), bilinmeyen nedenlerle meydana gelen metastatik tümörler (0/2), karaciğer tümörleri (0/2), böbrek tümörleri (0/2), servikal tümörler (0/2), kolon tümörleri (0/2), rektal tümörler (0/2), cilt tümörleri (0/2), larinks tümörü (0/1), timus tümörü (0/1) ve beyin tümöründe (0/1) boyama gözlemlenmemiştir. (Değerlendirilen toplam normal olmayan vaka sayısı = 37).

PB0731 bir hasta numunesinde DNA test probe probu boyamasını değerlendirmek için bir tarama aracı yardımcısı olarak tavsiye edilir.

Ürüne Özgü Sınırlamalar

DNA Negative Control, Leica Biosystems tarafından formalinde fikse edilmiş, parafine gömülü servikal doku üzerinde Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection ve BOND yardımcı reaktifleri ile kullanım için optimize edilmiştir. Tavsiye edilen test prosedürlerine riayet etmeyen kullanıcılar bu koşullar altında hasta sonuçlarının yorumlanması ile ilgili sorumluluğu üstlenmelidir. Protokol süreleri doku tipi, fiksasyonundaki ve işlenmesi nedeniyle farklılık gösterebilir. Ayrıca, BOND Enzyme konsantrasyonu ve inkübasyon süresi doku tipine, işleme ve fiksasyon koşullarına bağlı olarak optimizasyon gerektirebilir. Ön işlem koşulları ve protokol süreleri optimize edilirken negatif reaktif kontroller kullanılmalıdır.

Sorun Giderme

Referans 3 sorunların giderilmesinde faydalı olabilir.

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

Daha Fazla Bilgi

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

Bibliyografya

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Düzenlenme Tarihi

17 Ekim 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Negative Control

Каталожен №: PB0731

Предназначение

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

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

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

Описателна и разяснителна

DNA Negative Control се състои от разтвора за хибридизация, използван в пробите BOND HPV и DNA Positive Control Probe. DNA Negative Control се използва вместо пробата, като по този начин позволява оценката на фоновото оцветяване, произтичащо от неспецифични взаимодействия в рамките на изследваната проба от спесимена.

Предоставени реагенти

DNA Negative Control е разтвор за хибридизация.

Общ обем = 6,25 mL

Разреждане и смесване

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

Необходими, но непредоставени материали

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

Съхранение и стабилност

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

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

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

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

Предпазни мерки

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

DNA NEGATIVE CONTROL

Съдържа формамид (<70%).

GHS08: Опасност за здравето.

Сигнални думи: Опасност.

H360D: Може да увреди плода.

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.

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

P308+313: При явна или предполагаема експозиция: Потърсете медицински съвет/помощ.

P314: При неразположение потърсете медицински съвет/помощ.

Само за професионална употреба.

- За да получите копие на Информационния лист за безопасност на материалите, свържете се с Вашия местен дистрибутор или регионален офис на Leica Biosystems, или посетете уебсайта на Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- Спесименте преди и след фиксация, както и всички материали, изложени на тяхното влияние, трябва да бъдат третирани като способни да предадат инфекция и да бъдат изхвърлени, прилагайки съответните предпазни мерки². Никога не пипетирате реагенти с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реагенти или спесимени. При контакт на реагенти или спесимени с чувствителни зони измийте зоните с обилно количество вода. Потърсете медицинска помощ.
- Консултирайте се с федералните, държавните или местните регламенти относно изхвърлянето на потенциално токсични компоненти.
- Свеждайте до минимум микробната контаминация на реагентите, иначе може да се появи увеличаване на неспецифичното оцветяване.

- Извлечането, инкубационните времена или температури, различни от посочените, могат да доведат до погрешни резултати. Всякакви подобни промени трябва да бъдат валидирани от потребителя.

Инструкции за употреба

Продуктът DNA Negative Control е разработен за употреба с автоматизираната система BOND (включва система Leica BOND-MAX и система Leica BOND-III) в комбинация с Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution и BOND Polymer Refine Detection. Препоръчителният протокол за оцветяване за DNA Negative Control е ISH Protocol B. Препоръчва се ензимно предварително третиране за 15 минути с помощта на BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1.

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

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 пригответни 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 реагента.

Негативна тъканна контрола

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

Негативна контрола на реагента

Използвайте DNA Negative Control PB0731 вместо ДНК тестовата проба със срез от всеки спесимен на пациента, за да направите оценка на неспецифичното оцветяване и да дадете по-добра интерпретация на специфичното оцветяване на целевия елемент.

Позитивна контрола на реагента

Използвайте пробата DNA Positive Control Probe PB0682 вместо ДНК тестовата проба, със срез от всеки спесимен на пациента, за да предоставите информация за запазването на нуклеиновите киселини в тъканта, както и за достъпността на нуклеиновите киселини за сондата. Ако пробата DNA Positive Control Probe не показва позитивно оцветяване, резултатите от пробите, включени в теста, трябва да се считат за невалидни.

Тъкан от пациента

Изследвайте спесимени на пациенти, оцветени последно с ДНК тестова проба. Наситеността на позитивното оцветяване трябва да бъде оценена в контекста на всяко неспецифично фоново оцветяване на DNA Negative Control PB0731.

Очаквани резултати

Нормални тъкани

При използване на PB0731 не се наблюдава оцветяване при широк набор от тъкани. (Общ брой на оценените нормални случаи = 112).

Абнормни тъкани

При използване на PB0731 не се наблюдава оцветяване при тумори на яйчниците (0/4), тумори на щитовидната жлеза (0/3), белодробни тумори (0/3), тумори на хранопровода (0/2), тумори на гърдата (0/2), тумори на стомаха (0/2), тумори на меките тъкани (0/2), тумори на езика (0/2), метастатични тумори от неизвестен произход (0/2), тумори на черния дроб (0/2), тумори на бъбреците (0/2), тумори на цервикса (0/2), тумори на ободното черво (0/2), тумори на дебелото черво (0/2), кожни тумори (0/2), тумор на ларинкса (0/1), тумор на тимууса (0/1) и мозъчен тумор (0/1). (Общ брой на оценените абнормни случаи = 37).

PB0731 се препоръчва като помощен инструмент за скрининг за оценка на оцветяването на тестова проба ДНК на спесимен от пациент.

Специфични ограничения на продукта

Продуктът DNA Negative Control е оптимизиран в Leica Biosystems за употреба с Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection и спомогателни реагенти BOND върху фиксирана с формалин, вградена в парафин цервикална тъкан. Потребителите, които се отклоняват от препоръчаните процедури за тестване, трябва да поемат отговорност за интерпретацията на резултатите на пациентите при тези обстоятелства. Времетраенето по протокол може да варира поради вариации в типа на тъканта, фиксацията и обработката. В допълнение концентрацията и времето за инкубация при BOND Enzyme може да изискват оптимизация в зависимост от типа тъкан, условията за обработка и фиксация. Трябва да се използват негативни контроли на реагентите при оптимизиране на условията на предварително третиране и времетраенето на протоколите.

Отстраняване на неизправности

Референция 3 може да подпомогне при коригиращи действия. Свържете се с Вашия местен дистрибутор или регионалният офис на Leica Biosystems, за да съобщите за необичайно оцветяване.

Допълнителна информация

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

Библиография

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Дата на издаване

17 Октомври 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Negative Control

Katalógusszám: PB0731

Alkalmazási terület

Ez a reagens *in vitro* diagnosztikai használatra szolgál.

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

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

Összefoglalás és magyarázat

A DNA Negative Control egy hibridizáló oldatból áll, amely a BOND HPV Probe és DNA Positive Control Probe próbával együttesen használatos. A DNA Negative Control a próba helyett használatos, és lehetővé teszi a nem specifikus interakcióknak köszönhető háttérfestődés felmérését a vizsgált mintában.

Biztosított reagensek

A DNA Negative Control egy hibridizáló oldat.

Teljes mennyiség = 6,25 ml

Hígítás és elegyítés

A DNA Negative Control próba használatra kész. Nem szükséges a reagens feloldása, elegyítése, hígítása vagy titrálása.

Szükséges, de nem biztosított anyagok

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

Tárolás és stabilitás

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

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

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

A fentiekben előírtaktól eltérő tárolási feltételeket a felhasználónak ellenőriznie kell¹.

Óvintézkedések

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

DNA NEGATIVE CONTROL

Formamidot tartalmaz (<70%).

GHS08: Egészségi veszély.

Jelzőszók: Veszély.

H360D: Károsíthatja a születendő gyermeket.

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.

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

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

P314: Rosszullét esetén orvosi ellátást kell kérni.

Kizárólag szakemberek általi felhasználásra.

- Az anyagbiztonsági adatlap igényléséhez forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához, vagy keresse fel a Leica Biosystems weboldalát a www.LeicaBiosystems.com címen.
- A mintákat fixálás előtt és után, valamint a velük érintkező összes anyagot fertőzőesek terjesztésére képes anyagként kell kezelni, és megfelelő körültekintéssel kell ártalmatlanítani². Soha ne pipettázza szájával 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.
- Minimálásra 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 DNA Negative Control próba automata BOND rendszerrel (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel) és az Anti-Biotin Antibody antitesttel, a Stringency Wash Solution mosófolyadékkal és a BOND Polymer Refine Detection kittel való együttes használatra lett kifejlesztve. A DNA Negative Control próbához javasolt festési protokoll az ISH Protocol B. Az enzimes előkezeléshez a BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 oldat 15 percg tartó alkalmazása javasolt.

Mindig kell megfelelő szövet- és reagenskontrollokat alkalmazni. A szövet- és reagenskontrollokhoz alkalmazott protokollnak meg kell egyeznie a DNS vizsgálati próba protokolljával.

Minőség-ellenőrzés

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

Pozitív szövetkontroll

A megfelelő szövet-előkészítés és festési technikák ellenőrzésére használatos. Minden tesztelési körülményegyes esetben 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 DNS vizsgálati próba helyett alkalmazza a DNA Negative Control PB0731 készítményt minden betegminta esetén egy metszetenél.

Pozitív reagenskontroll

A nukleinsavak szöveti megtartottságával, valamint a nukleinsavak próba általi hozzáférhetőségével kapcsolatos információk szerzéséhez a DNS vizsgálati próba helyett alkalmazza a DNA Positive Control Probe PB0682 próbát minden betegminta esetén egy metszetenél. Ha a DNA Positive Control Probe próba nem mutat pozitív festődést, a vizsgált minták eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

Betegszövet

A DNS vizsgálati próbával festett betegmintákat vizsgálja meg utolsóként. A pozitív festődés intenzitását a DNA Negative Control PB0731 esetleges nem specifikus háttérfestődésének viszonylatában értékelje.

Várható eredmények

Normál szövetek

A PB0731 alkalmazásával számos különböző szöveten nem volt festődés megfigyelhető. (Vizsgált normál esetek összesített száma = 112).

Kóros szövetek

A PB0731 használatakor nem volt festődés megfigyelhető petefészek-daganatok (0/4), pajzsmirigy-daganatok (0/3), tüdődaganatok (0/3), nyelőcső-daganatok (0/2), emlődaganatok (0/2), gyomordaganatok (0/2), lágyszövet-daganatok (0/2), nyelvdaganatok (0/2), ismeretlen eredetű áttesis daganatok (0/2), májdaganatok (0/2), vesedaganatok (0/2), méhnyak-daganatok (0/2), vastagbél-daganatok (0/2), végbél-daganatok (0/2), bőrdaganatok (0/2), gégedaganat (0/1), csecsemőmirigy-daganat (0/1) és agydaganat (0/1) esetén. (Vizsgált kóros esetek összesített száma = 37).

A PB0731 egy betegminta DNS vizsgálati próba festődésének kiértékelését segítő szűrőeszközként használatos.

Termékspecifikus korlátozások

A DNA Negative Control próbát a Leica Biosystems az Anti-Biotin Antibody antitesttel, a Stringency Wash Solution mosófolyadékkal, a BOND Polymer Refine Detection kittel és a BOND segédreagensekkel való használatra optimalizálta formalinban fixált, paraffinba ágyazott méhnyak-szövethez. A tesztelési eljárásoktól való eltérés esetén a felhasználó felelőssége a betegeredmények értelmezése az adott körülmények között. A protokollok végrehajtásához szükséges idő a szövettípus, a fixálás és a feldolgozás eltérései miatt változhat. Ezenkívül a szövettípustól, valamint a fixálási és feldolgozási körülményektől függően szükség lehet a BOND Enzyme koncentrációjának és az inkubációs időnek az optimalizálására. Az előkezelési körülmények és a protokollidők optimalizálásakor negatív reagenskontrollokat kell használni.

Hibaelhárítás

A 3. számú hivatkozás segíthet a javító intézkedéseket illetően. Szokatlan festődés bejelentéséhez forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához.

További információk

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

Szakirodalom

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

2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Kiadás dátuma

17 október 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Negative Control

Nr. catalog: PB0731

Utilizare prevăzută

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

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

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

Rezumat și explicație

DNA Negative Control constă în soluția de hibridizare folosită în probele BOND HPV și DNA Positive Control Probe. DNA Negative Control este utilizat în locul probei, permițând astfel evaluarea colorației de fundal rezultate din interacțiuni nespecifice cu specimenul cercetat.

Reactivi furnizați

DNA Negative Control este o soluție de hibridizare.

Volum total = 6,25 ml.

Diluare și amestecare

DNA Negative Control este gata de utilizare. Reconstituirea, amestecarea, diluarea sau tirarea 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 specimenelor și colorarea prin hibridizare *in situ* utilizând sistemul BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III).

Depozitare și stabilitate

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

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

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

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

Precauții

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

DNA NEGATIVE CONTROL

Conține formamidă (<70%).

GHS08: Pericol pentru sănătate.

Cuvinte de avertizare: Pericol.

H360D: Poate dăuna fătului.

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.

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

P308+313: În caz de expunere sau de posibilă expunere: Consultați medicul.

P314: Consultați medicul, dacă nu vă simțiți bine.

Numai pentru utilizatori profesioniști.

- Pentru a obține o copie a fișei tehnice de securitate pentru material, luați legătura cu distribuitorul dvs. local sau cu biroul regional al Leica Biosystems sau, ca alternativă, vizitați site-ul web al Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- Specimenele, înainte și după fixare, precum și toate materialele expuse la acestea, trebuie manipulate ca și când ar avea potențialul de a transmite infecții și trebuie eliminate luând măsurile de precauție adecvate². Nu pipetați niciodată reactivii cu gura și evitați contactul reactivilor și probelor cu pielea și membranele mucoase. Dacă reactivii sau probele vin în contact cu suprafețele sensibile, spălați cu apă din abundență. Solicitați asistență medicală.
- Consultați reglementările naționale, județene sau locale pentru informații privind eliminarea oricăror componente cu potențial toxic.
- Reduceți la minim contaminarea microbiană a reactivilor, în caz contrar poate apărea o creștere a colorării nespecifice.
- Timpii sau temperaturile de recuperare, inclusiv care diferă de valorile specificate pot genera rezultate eronate. Orice astfel de modificare trebuie validată de către utilizator.

Instrucțiuni de utilizare

DNA Negative Control a fost dezvoltată pentru utilizarea pe sistemul automat BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III) în combinație cu Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution și BOND Polymer Refine Detection. Protocolul de colorație recomandat pentru DNA Negative Control este ISH Protocol B. 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 ADN.

Controlul calității

Diferențele în ceea ce privește procesarea țesutului și procedurile tehnice în laboratorul utilizatorului pot cauza o variabilitate semnificativă a rezultatelor, necesitând efectuarea 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 colorare pozitivă slabă este mai adecvat decât un țesut cu colorare pozitivă puternică în vederea unui control optim al calității și pentru a detecta nivelurile minore de degradare a reactivului.

Țesutul de control negativ

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

Reactivul de control negativ

Folosiți DNA Negative Control PB0731 în locul probei de testare ADN 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 DNA Positive Control Probe PB0682 în locul probei de testare ADN cu o secțiune din specimenul fiecărui pacient pentru a furniza informații despre conservarea acizilor nucleici în țesut precum și accesibilitatea acizilor nucleici pentru probă. Dacă DNA Positive Control Probe nu demonstrează colorația pozitivă, rezultatele obținute cu speciunile testate trebuie considerate nevalide.

Țesutul pacientului

Examinați speciunile pacientului colorate cu proba de testare ADN ultimele. Intensitatea colorării pozitive trebuie evaluată în contextul oricărei colorații de fundal nespecifice a DNA Negative Control Probe PB0731.

Rezultate așteptate

Țesuturi normale

La utilizarea PB0731 nu s-a observat vreo colorare la o varietate de țesuturi. (Numărul total al cazurilor normale evaluate = 112).

Țesuturi anormale

Utilizând PB0731, nu s-a observat colorare la tumorile ovariene (0/4), tumorile tiroidiene (0/3), tumorile pulmonare (0/3), tumorile esofagiene (0/2), tumorile mamare (0/2), tumorile gastrice (0/2), tumorile ale țesuturilor moi (0/2), tumorile ale limbii (0/2), tumorile metastatice de origine necunoscută (0/2), tumorile hepatice (0/2), tumorile renale (0/2), tumorile de col uterin (0/2), tumorile de colon (0/2), tumorile rectale (0/2), tumorile ale pielii (0/2), o tumoră a laringelui (0/1), o tumoră a timusului (0/1) și o tumoră cerebrală (0/1). (Numărul total al cazurilor anormale evaluate = 37).

PB0731 este recomandată ca instrument de screening în evaluarea colorării unei probe de testare ADN pe un specimen al pacientului.

Restricții specifice produsului

DNA Negative Control a fost optimizată la Leica Biosystems pentru utilizarea cu Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection și reactivii auxiliari BOND pe țesut cervical fixat cu formalină și încorporat în parafină. 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 din cauza variațiilor tipului de țesut, fixării și procesării. În plus, concentrația BOND Enzyme și timpul de incubare pot necesita o optimizare în funcție de tipul de țesut, condițiile de prelucrare și fixare. Atunci când se optimizează condițiile de pretratare și timpii protocolului, trebuie să fie utilizați reactivi de control negativ.

Rezolvarea problemelor

Referința 3 poate ajuta la acțiunile de remediere. Contactați distribuitorul dumneavoastră local sau biroul regional al Leica Biosystems pentru raportarea colorării neobișnuite.

Informații suplimentare

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

Bibliografie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Data publicării

17 octombrie 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Negative Control

Номер по каталогу: PB0731

Назначение

Этот реактив предназначен для диагностики *in vitro*.

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

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

Краткое изложение и пояснение

DNA Negative Control состоит из раствора для гибридизации, который используется в зондах BOND HPV и DNA Positive Control Probe. DNA Negative Control используется вместо зонда, таким образом, позволяя оценить фоновое окрашивание в результате неспецифического взаимодействия в исследуемом образце.

Реактивы, входящие в комплект поставки

DNA Negative Control является раствором для гибридизации.

Общий объем = 6,25 мл

Разведение и смешивание

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

Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

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

Хранение и стабильность

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

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

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

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

Меры предосторожности

- Этот продукт предназначен для диагностики *in vitro*.

DNA NEGATIVE CONTROL

Содержит формамид (Formamide) (<70%).

GHS08: Опасность для здоровья человека.

Сигнальное слово: Опасно.

H360D: Может нанести вред нерожденному ребенку.

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.

P280: Используйте защитные перчатки, защитную одежду, защиту глаз и лица.

P308+313: В случае воздействия или обеспокоенности: обратитесь за медицинской помощью.

P314: Обратитесь за медицинской помощью/консультацией, если вы отмечаете ухудшение самочувствия.

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 предосторожности².
Никогда не набирайте реактивы в пипетку ртом. Избегайте контакта реактивов и образцов с кожей и слизистыми оболочками. В случае контакта реактивов или образцов с чувствительными зонами промойте их большим количеством воды. Обратитесь за медицинской помощью.

- По вопросам утилизации любых возможно токсических компонентов выполняйте требования федеральных, региональных или местных нормативных документов.
- Минимизируйте микробную контаминацию реактивов, чтобы не усиливать неспецифическое окрашивание.
- 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

DNA Negative Control был разработан для использования в автоматизированной системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica) в сочетании с антителами к биотину Anti-Biotin Antibody, раствором отмывки жесткости Stringency Wash Solution и системой обнаружения BOND Polymer Refine Detection. Рекомендуемый протокол иммуногистохимического окрашивания для DNA Negative Control является ISH Protocol B. Предварительную ферментативную обработку 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 ДНК-зонда, предназначенного для испытаний.

Контроль качества

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

Положительный контроль ткани

Применяется для проверки правильности подготовки тканей и методов окрашивания. В каждый набор условий теста при каждом цикле окрашивания следует включать один срез ткани для положительного контроля. Для оптимального контроля качества и обнаружения незначительных уровней деградации реактива более подходит ткань со слабым положительным окрашиванием, чем ткань с сильным положительным окрашиванием.

Отрицательный контроль ткани

Это испытание следует выполнять после исследования ткани, 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 ДНК-зонда, предназначенного для испытаний, используйте DNA Negative Control PB0731 (ДНК PB0731, которая служит в качестве отрицательного контроля).

Реактив, представляющий собой положительный контроль

Для получения информации о сохранности нуклеиновых кислот в тканях, так же как и возможности их достичь с помощью зонда, при исследовании срезов каждого образца, взятого у пациента, вместо ДНК-зонда, предназначенного для испытаний, используйте зонд DNA Positive Control Probe PB0682. Если зонд DNA Positive Control Probe 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 ДНК-зонда, предназначенного для испытаний, в последнюю очередь. Интенсивность положительного окрашивания следует оценивать с учетом любого неспецифического фонового окрашивания DNA Negative Control PB0731 (ДНК, представляющей собой отрицательный контроль PB0731).

Ожидаемые результаты

Нормальные ткани

При использовании PB0731 окрашивания не наблюдалось в широком диапазоне изучаемых тканей. (Общее число исследованных нормальных тканей = 112).

Патологически измененные ткани

При использовании PB0731 не наблюдалось окрашивания опухолей яичников (0/4), опухолей щитовидной железы (0/3), опухолей легких (0/3), опухолей пищевода (0/2), опухолей молочной железы (0/2), опухолей желудка (0/2), опухолей мягких тканей (0/2), опухолей языка (0/2), метастатических опухолей неизвестного происхождения (0/2), опухолей печени (0/2), опухолей почек (0/2), опухолей шейки матки (0/2), опухолей толстого кишечника (0/2), опухолей прямой кишки (0/2), опухолей кожи (0/2), опухолей гортани (0/1), опухоли вилочковой железы (0/1) и опухоли мозга (0/1). (Общее число исследованных патологически измененных образцов = 37).

PB0731 рекомендован в качестве скринингового инструмента для оценки окрашивания зонда для испытываемого образца ДНК в образце пациента.

Ограничения, специфичные для этого продукта

DNA Negative Control оптимизирован компанией Leica Biosystems для применения с Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection и дополнительными реактивами BOND для фиксированных формалином и залитых в парафин тканей. 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 из-за разнообразия типов тканей, способов их обработки и фиксации. Более того, в зависимости от типа тканей, условий обработки и фиксации может потребоваться оптимизация продолжительности инкубации и концентрации реактива BOND Enzyme. В ходе оптимизации условий предварительной обработки и продолжительности выполнения протокола следует использовать реактивы, представляющие собой отрицательный контроль.

Поиск и устранение неполадок

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

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Дата выпуска

17 Октябрь 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Negative Control

Nr katalogowy: PB0731

Przeznaczenie

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

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

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

Podsumowanie i objaśnienie

DNA Negative Control składa się z roztworu do hybrydyzacji stosowanego w próbkach BOND HPV oraz sond DNA Positive Control Probe. Zamiast sondy zastosowano DNA Negative Control, umożliwiając w ten sposób ocenę wybarwienia tła w wyniku niespecyficznego oddziaływań w badanej próbce.

Odczynniki znajdujące się w zestawie

Preparat DNA Negative Control jest roztworem do hybrydyzacji.

Łączna objętość = 6,25 ml

Rozcieńczanie i mieszanie.

Preparat DNA Negative Control 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 pojemnika.

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

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

Przechowywanie w warunkach innych od wskazanych powyżej wymaga weryfikacji użytkownika.

Środki ostrożności

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

DNA NEGATIVE CONTROL

Zawiera formamid (<70%).

GHS08: Zagrożenie dla zdrowia.

Słowa sygnalizujące:

Niebezpieczeństwo.

H360D: Może działać szkodliwie na dziecko w łonie matki

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.

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

P308+313: W przypadku narażenia lub styczości: Zasięgnąć porady lekarza.

P314: W przypadku złego samopoczucia należy zasięgnąć porady lekarza.

Wyłącznie do użytku zawodowego.

- Aby uzyskać egzemplarz karty charakterystyki, należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub regionalnym biurem Leica Biosystems lub odwiedzić stronę internetową Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- Z próbkami przed utwaleniem i po utwaleniu, jak również ze wszystkimi materiałami, które mają z nimi styczność, należy obchodzić się tak, jak z materiałami potencjalnie zakaźnymi i należy je utylizować, zachowując odpowiednie środki ostrożności.^{1, 2} 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 przemycić miejsce kontaktu dużą ilością wody. Należy zasięgnąć porady lekarza.
- Wszelkie potencjalnie toksyczne składniki należy utylizować zgodnie z krajowymi lub lokalnymi przepisami.
- Należy 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 DNA Negative Control został opracowany z myślą o zastosowaniu w automatycznym systemie BOND (obejmującym systemy Leica BOND-MAX i Leica BOND-III) w połączeniu z Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution i BOND Polymer Refine Detection. Zalecany protokół barwienia dla DNA Negative Control to ISH Protocol B. Zalecana jest wstępna obróbka enzymatyczna 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 DNA.

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 DNA Negative Control PB0731 zamiast sondy DNA 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 sondy DNA Positive Control Probe PB0682 zamiast sondy DNA na każdym skrawku z próbki pobranej od pacjenta. Jeśli DNA Positive Control Probe nie wykaże odpowiedniego pozytywnego barwienia, wyniki testu przeprowadzonego na próbkach pobranych od pacjenta należy uznać za nieważne.

Tkanka pacjenta

Próbki pacjenta barwione sondą DNA należy badać jako ostatnie. Intensywność barwienia pozytywnego należy oceniać w kontekście ewentualnego niespecyficznego barwienia tła w DNA Negative Control PB0731.

Oczekiwane wyniki

Tkanki prawidłowe

Przy zastosowaniu PB0731 w wielu tkankach nie stwierdzono barwienia. (Łączna liczba ocenionych prawidłowych przypadków = 112).

Tkanki patologiczne

Używając PB0731 nie stwierdzono wybarwienia w przypadku guzów jajnika (0/4), guzów tarczycy (0/3), guzów płuc (0/3), guzów przełyku (0/2), guzów sutka (0/2), guzów żołądka (0/2), guzów tkanek miękkich (0/2), guzów języka (0/2), guzów przerzutowych o nieznanym pochodzeniu (0/2), guzów wątroby (0/2), guzów nerek (0/2), guzów szyjki macicy (0/2), guzów okrężnicy (0/2), guzów odbytnicy (0/2), raków skóry (0/2), guza krtani (0/1), guza grasicy (0/1) i guza mózgu (0/1). (Łączna liczba ocenionych nieprawidłowych przypadków = 37).

Zaleca się stosowanie preparatu PB0731 jako narzędzia przesiewowego do oceny barwienia sondy DNA na próbce pobranej od pacjenta.

Szczególne ograniczenia dla produktu

DNA Negative Control został zoptymalizowany przez Leica Biosystems pod kątem stosowania z Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection i preparatami pomocniczymi BOND na utrwalonej w formalinie tkance szyjki macicy zatopionej w parafinie. W tych okolicznościach użytkownicy, którzy postępują niezgodnie z zalecanymi procedurami testowymi muszą wziąć odpowiedzialność za interpretację wyników chorego. Czasy protokołów mogą się różnić ze względu na różnice w typie tkanki, utrwalaniu i przetwarzaniu. Ponadto stężenie BOND Enzyme i czas inkubacji mogą wymagać optymalizacji w zależności od rodzaju tkanki, warunków przetwarzania i utrwalania. Podczas optymalizacji obróbki wstępnej i czasów protokołów należy stosować negatywną kontrolę odczynników.

Rozwiązywanie problemów

Odnosnik 3 może być pomocny w podejmowaniu działań zaradczych. W celu zgłoszenia nietypowego barwienia należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub z regionalnym biurem firmy Leica Biosystems.

Dodatkowe informacje

Dodatkowe informacje dotyczące hydrydyzacji *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.

Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Data publikacji

17 października 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH

DNA Negative Control

Kataloška št.: PB0731

Predvidena uporaba

Ta reagent je namenjen diagnostični uporabi *in vitro*.

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

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

Povzetek in razlaga

DNA Negative Control sestavlja raztopina hibridizacije, ki se uporablja pri sondah BOND HPV in DNA Positive Control Probe. Izdelek DNA Negative Control se uporablja namesto sonde, pri čimer omogoča oceno obarvanja ozadja zaradi nespecifičnih interakcij v preučevanem vzorcu.

Priloženi reagenti

DNA Negative Control je raztopina hibridizacije.

Skupna prostornina = 6,25 ml.

Redčenje in mešanje

Izdelek DNA Negative Control je pripravljen za uporabo. Rekonstitucija, mešanje, redčenje ali titracija tega reagenta niso potrebni.

Potrebni materiali, ki niso priloženi

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

Shranjevanje in stabilnost

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

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

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

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

Previdnosti ukrepi

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

DNA NEGATIVE CONTROL

Vsebuje formamid (< 70%).
GHS08: Nevarno za zdravje.
Signalne besede: Nevarno.

H360D: Lahko škoduje nerojenemu otroku.

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.

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

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

P314: Ob slabem počutju poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.

Omejeno na strokovne uporabnike.

- Kopijo varnostnega lista lahko dobite pri lokalnem distributerju ali regionalni pisarni družbe Leica Biosystems ali na spletnem mestu www.LeicaBiosystems.com.
- Z vzorci, pred fiksiranjem in po njem, in vsemi materiali, s katerimi so prišli v stik, morate rokovati, kot da bi lahko prenašali okužbe, in pri njihovem odstranjevanju upoštevati ustrezne previdnostne ukrepe.² Nikoli ne pipetirajte reagentov skozi usta; pazite, da reagenti in vzorci ne pridejo v stik s kožo ali sluznicami. Če reagenti ali vzorci pridejo v stik z občutljivimi deli, jih izperite z obilo vode. Poiščite zdravniško pomoč.
- Sledite zveznim, državnim ali lokalnim predpisom za odstranjevanje katerih koli morebitno strupenih sestavin.
- Pazite, da ne pride do mikrobnih okužbe reagentov, drugače se lahko pojavi nespecifično obarvanje.
- 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

Izdelek DNA Negative Control je bil razvit za uporabo na avtomatiziranem sistemu BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III) skupaj s sistemi Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution in BOND Polymer Refine Detection. Priporočeni protokol

za barvanje za izdelek DNA Negative Control je ISH Proccol B. Priporočen način enicimatske predobdelave 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 DNA.

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 DNA Negative Control PB0731 namesto testne sonde DNA z eno rezino vsakega vzorca bolnika.

Pozitivni kontrolni reagent

Da preverite ohranjenost nukleinskih kislin v tkivu ter dostopnost nukleinskih kislin sondi, uporabite sondo DNA Positive Control Probe PB0682 namesto testne sonde DNA z eno rezino vsakega vzorca bolnika. Če sonda DNA Positive Control Probe ne kaže pozitivnega obarvanja, morate rezultate vzorcev šteti za neveljavne.

Bolnikovo tkivo

Nazadnje preglejte bolnikove vzorce, obarvane s testno sondo DNA. Intenzivnost pozitivnega obarvanja morate oceniti v kontekstu morebitnega nespecifičnega obarvanja ozadja v kontrolnem vzorcu z izdelkom DNA Negative Control PB0731.

Pričakovani rezultati

Normalna tkiva

Z izdelkom PB0731 niso opazili obarvanja številnih drugih tkiv. (Skupno število ocenjenih normalnih primerov = 112).

Nenormalna tkiva

Pri uporabi PB0731 niso opazili obarvanja pri tumorjih jajčnikov (0/4), tumorjih ščitnice (0/3), pljučnih tumorjih (0/3), ezofagealnih tumorjih (0/2), tumorjih na dojkah (0/2), želodčnih tumorjih (0/2), tumorjih mehkih tkiv (0/2), tumorjih na jeziku (0/2), metastatskih tumorjih neznanega izvora (0/2), tumorjih na jetrih (0/2), ledvičnih tumorjih (0/2), tumorjih materničnega vratu (0/2), tumorjih kolona (0/2), rektalnih tumorjih (0/2), kožnih tumorjih (0/2), tumorju grla (0/1), tumorju priželjca (0/1) in možganskem tumorju (0/1). (Skupno število ocenjenih anomalnih primerov = 37).

PB0731 se priporoča kot orodje presejanja za oceno barvanja pri testu s sondo DNA na bolnikovem vzorcu.

Specifične omejitve izdelka

Sondo DNA Negative Control je podjetje Leica Biosystems optimiziralo za uporabo skupaj s sistemi Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection in pomožnim reagentom BOND v tkivu, fiksiranem s formalinom in vstavljenem v parafin. Uporabniki, ki odstopijo od priporočenih preizkusnih postopkov, morajo prevzeti odgovornost za razlago bolnikovih rezultatov pod temi pogoji. Trajanje protokola se lahko spremeni glede na vrsto tkiva, fiksacijo in obdelavo. Poleg tega bo morda treba optimizirati koncentracijo encima BOND Enzyme in čas inkubacije glede na vrsto tkiva, obdelavo in pogoje pri fiksaciji. Pri optimizaciji pogojev predhodne obdelave in trajanja protokola morate uporabiti negativne kontrolne reagente.

Odpravljanje težav

Referenca 3 lahko pomaga pri ukrepanju za odpravljanju napake. Če želite poročati o nenavadnem obarvanju, se obrnite na svojega lokalnega distributerja ali regionalno pisarno družbe Leica Biosystems.

Dodatne informacije

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

Literatura

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Datum izdaje

17 oktober 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Negative Control

Kat. č.: PB0731

Zamýšlené použití

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

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

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

Souhrn a vysvětlení

Kontrola DNA Negative Control sestává z hybridizačního roztoku používaného v sondách BOND HPV a DNA Positive Control Probe. Kontrola DNA Negative Control se používá namísto sondy a umožní tedy vyhodnotit barvení pozadí vznikající při nespecifických interakcích ve zkoumaném vzorku.

Dodávané reageniece

Kontrola DNA Negative Control je hybridizační roztok.

Celkový objem = 6,25 ml

Ředění a míchání

Kontrola DNA Negative Control je připravena k použití. Rekonstituce, míchání, ředění ani titrace této reageniece 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 reagenicí BOND“ v uživatelské dokumentaci BOND.

Skladování a stabilita

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

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

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

Podmínky skladování jiné než výše uvedené musí uživatel¹ validovat.

Bezpečnostní opatření

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

KONTROLA DNA NEGATIVE CONTROL

Obsahuje formamid (< 70%).

GHS08: Ohrožení zdraví.

Signální slova: Nebezpečí.

H360D: Může poškodit plod v těle matky.

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.

P280: Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.

P308+313: Při expozici nebo podezření na ni:

Vyhleďte lékařskou pomoc/ošetření.

P314: Necítíte-li se dobře, vyhleďte lékařskou pomoc/ošetření.

Omezeno na profesionální uživatele.

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

Kontrola DNA Negative Control byla vyvinuta k použití v automatickém systému BOND (včetně systému Leica BOND-MAX a systému Leica BOND-III) v kombinaci se soupravou Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution a BOND Polymer Refine Detection.

Doporučený protokol o barvení pro kontrolu DNA Negative Control je ISH Protocol B. Enzymatická předběžná úprava je doporučena za použití 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 DNA testovací sondy.

Kontrola jakosti

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

Pozitivní tkáňová kontrola

Používá se k průkazu správně připravených tkání a správných barvicích technik. V každém barvicím cyklu musí být použita jedna pozitivní tkáňová kontrola pro každý soubor testovacích podmínek. Pro optimální kontrolu jakosti a k detekci menšího stupně degradace reagensie 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 DNA Negative Control PB0731 namísto testovací sondy DNA.

Pozitivní reagenční kontrola

K získání informací o konzervaci nukleových kyselin ve tkáni a přístupnosti nukleových kyselin pro sondu použijte na řezu z každého vzorku pacienta kontrolu DNA Positive Control Probe PB0682 namísto testovací sondy DNA. Pokud sonda DNA Positive Control Probe nevykazuje pozitivní barvení, musí být výsledky testovaných vzorků považovány za neplatné.

Tkáň pacienta

Nakonec vyšetříte vzorky pacienta barvené pomocí DNA testovací sondy. Intenzita pozitivního barvení musí být zhodnocena v kontextu se vším nespecifickým barvením pozadí u sondy DNA Negative Control Probe PB0731.

Očekávané výsledky

Normální tkáně

Při použití PB0731 nebylo barvení pozorováno u mnoha různých tkání. (Celkový počet normálních vyšetřovaných tkání = 112).

Abnormální tkáně

Při použití sondy PB0731 nebylo pozorováno žádné barvení u vzorků nádoru ovarii (0/4), nádoru štítné žlázy (0/3), nádoru plic (0/3), nádoru jícnu (0/2), nádoru prsu (0/2), nádoru žaludku (0/2), nádoru měkkých tkání (0/2), nádoru jazyka (0/2), metastatických nádorů neznámého původu (0/2), nádoru jater (0/2), nádoru ledvin (0/2), nádoru děložního hrdla (0/2), nádoru tlustého střeva (0/2), rektálního nádoru (0/2), kožního nádoru (0/2), nádoru hrtanu (0/1), nádoru thymu (0/1) a nádoru mozku (0/1). (Celkový počet vyšetřených abnormálních tkání = 37).

Sonda PB0731 se používá jako screeningový nástroj k vyhodnocení barvení DNA testovací sondy ve vzorku pacienta.

Omezení specifická pro tento produkt

Kontrola DNA Negative Control byla optimalizována společností Leica Biosystems pro použití se soupravou Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection a pomocnými reagensii BOND na cervikální tkáni fixované formalinem a zalité v parafínu. Uživatelé, kteří se při vyšetření odchýlí od doporučeného postupu, musí za těchto okolností přijmout odpovědnost za interpretaci výsledků u pacienta. Doby uvedené v protokolu se mohou lišit kvůli odlišnému typu tkáně, fixace a zpracování. Dále může koncentrace enzymu BOND Enzyme a doby inkubace vyžadovat optimalizaci v závislosti na typu tkáně, zpracování a podmínkách fixace. Při optimalizaci podmínek předběžné úpravy a dob v protokolu musí být použity reagensie pro negativní kontrolu.

Řešení problémů

Odkaz 3 může napomoci při provádění nápravných opatření. S hlášením neobvyklého barvení kontaktujte místního distributora nebo oblastní kancelář společnosti Leica Biosystems.

Další informace

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

Literatura

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Datum vydání

17 říjen 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Negative Control

Katalógové č.: PB0731

Zamýšľané použitie

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

DNA Negative Control je určený na identifikáciu farbenia na pozadí vyplývajúceho z nešpecifických interakcií v tkanive zaliatom v parafíne a fixovanom formálnom 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

DNA Negative Control sa skladá z hybridizačného roztoku, ktorý sa používa pri sondách BOND HPV a DNA Positive Control Probe DNA Negative Control sa používa namiesto sondy, čím umožňuje zhodnotenie farbenia na pozadí vyplývajúceho z nešpecifických interakcií v rámci vyšetrovanej vzorky.

Dodané činidlá

DNA Negative Control je hybridizačný roztok.

Celkový objem = 6,25 ml

Riedenie a miešanie

DNA Negative Control je pripravený na okamžité použitie. Rekonštitúcia, miešanie, riedenie ani titrácia tohto činidla nie sú potrebné.

Potrebný nedodaný materiál

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

Ukladanie a stabilita

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

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

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

Iné než vyššie uvedené podmienky skladovania si vyžadujú validáciu používateľom¹.

Bezpečnostné opatrenia

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

DNA NEGATIVE CONTROL

Obsahuje formamid (<70%).

GHS08: Nebezpečný pre zdravie.

Signálne slová:

Nebezpečenstvo.

H360D: Môže poškodiť nenarodené dieťa.

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.

P280: Noste ochranné rukavice/ochranný odev/

ochranné okuliare/ochranu tváre.

P308+313: Po expozícii alebo podozrení z nej:

Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

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

Určené iba pre odborníkov.

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

Návod na použitie

DNA Negative Control bol vytvorený na použitie v automatizovanom systéme BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) v kombinácii s protilátkou Anti-Biotin Antibody, roztokom Stringency Wash Solution a so systémom BOND Polymer Refine Detection. Odporúčaný protokol farbenia pre DNA Negative Control je ISH Protocol B. Na enzymatickú predprípravu 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 protokolom pre testovaciu sondu DNA.

Kontrola kvality

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

Pozitívna kontrola tkanivom

Identifikuje správne pripravené tkanivá a správne techniky zafarbenia. Každá súprava testových podmienok v každom cykle zafarbenia musí obsahovať jednu pozitívnu kontrolu tkanivom. Tkanivo so slabým pozitívnym farbením je na optimálnu kontrolu kvality a na detekciu slabšej degradácie činidla vhodnejšie než tkanivo so silným pozitívnym farbením.

Negatívna kontrola tkanivom

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

Negatívna kontrola činidlom

Na vyhodnotenie nešpecifického zafarbenia použite kontrolu DNA Negative Control PB0731 namiesto testovacej sondy DNA s rezom jednotlivých vzoriek pacienta, čo umožní lepšiu interpretáciu špecifického farbenia cieľa.

Pozitívna kontrola činidlom

Použitie sondy DNA Positive Control Probe PB0682 namiesto testovacej sondy DNA s rezom vzorky jednotlivých pacientov poskytne informácie o zachovaní nukleových kyselín v tkanive, ako aj o dostupnosti nukleových kyselín pre sondu. Ak sonda DNA Positive Control Probe nebude vykazovať pozitívne zafarbenie, výsledky testovaných vzoriek je nutné považovať za neplatné.

Tkanivo pacienta

Pacientske vzorky zafarbené testovacou sondou DNA preskúmajte ako posledné. Intenzitu pozitívneho farbenia je nutné vyhodnotiť v kontexte prípadného nešpecifického zafarbenia sondy DNA Negative Control Probe PB0731 na pozadi.

Očakávané výsledky

Normálne tkanivá

Pri použití PB0731 nebolo pozorované žiadne zafarbenie na širokej škále rôznych tkanív. (Celkový počet normálnych vyšetrených prípadov = 112).

Abnormálne tkanivá

Použitím PB0731 nebolo zdetegované žiadne farbenie pri nádoroch vaječníkoch (0/4), nádoroch štítnej žľazy (0/3), nádoroch pľúc (0/3), nádoroch pažeráka (0/2), nádoroch prsníka (0/2), nádoroch žalúdka (0/2), nádoroch mäkkého tkaniva (0/2), nádoroch jazyka (0/2), metastatických nádoroch neznámeho pôvodu (0/2), nádoroch pečene (0/2), nádoroch obličiek (0/2), nádoroch krčka maternice (0/2), nádoroch hrubého čreva (0/2), nádoroch konečníka (0/2), nádoroch pokožky (0/2), nádoru hrtana (0/1), nádoru detskej žľazy (0/1) a nádoru mozgu (0/1). (Celkový počet abnormálnych vyšetrených prípadov = 37).

PB0731 sa odporúča ako skríningový nástroj na zhodnotenie zafarbenia testovacej sondy DNA na vzorke pacienta.

Špecifické obmedzenia pre tento výrobok

DNA Negative Control bola v spoločnosti Leica Biosystems optimalizovaná na použitie s protilátkou Anti-Biotin Antibody, roztokom Stringency Wash Solution, so systémom BOND Polymer Refine Detection a pomocnými činidlami BOND v cervikálnom tkanive zaliatom v parafíne a fixovanom formalínom. Používatelia, ktorí sa odchyľia od odporúčaných testovacích postupov, musia akceptovať zodpovednosť za interpretáciu výsledkov pacienta za týchto okolností. Časy jednotlivých protokolov sa môžu líšiť z dôvodu odlišností v type tkaniva, fixácie a spracovania. Okrem toho koncentrácia a doba inkubácie produktu BOND Enzyme si môže vyžadovať optimalizáciu v závislosti od typu tkaniva, podmienok spracovania a fixácie. Pri optimalizácii podmienok predprípravy a časov jednotlivých protokolov je potrebné použiť činidlá negatívnej kontroly.

Riešenie problémov

Pri náprave môže byť nápomocná referencia 3. Neobvyklé zafarbenie ohláste miestnemu distribútorovi alebo regionálnej pobočke spoločnosti Leica Biosystems.

Ďalšie informácie

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

Literatúra

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

3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Dátum vydania

17 október 2018

ضابط النسيج الإيجابي

يُستخدم للإشارة إلى الأنسجة التي تم إعدادها بصورة صحيحة وأساليب التلطّيح السليمة. يجب تضمين نسيج إيجابي واحد لكل مجموعة من ظروف الاختبار في كل عملية تلطّيح. يكون النسيج ذو التلطّيح الإيجابي الضعيف ملائمًا بصورة أكبر من النسيج ذي التلطّيح الإيجابي القوي، وذلك بغرض ضبط الجودة المتلى والكشف عن مستويات طفيفة من تدهور الكاشف.

ضابط النسيج السلبى

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

ضابط الكاشف السلبى

استخدم DNA Negative Control PB0731 بدلاً من مسبار اختبار DNA مع قطاع من كل عينة من المرضى لتقييم التلطّيح غير المحدد والسماح بتفسير أفضل للتلطّيح المحدد عند الهدف.

ضابط الكاشف الإيجابي

استخدم مسبار DNA Positive Control PB0682 بدلاً من مسبار اختبار DNA مع قطاع من كل عينة من المرضى لتوفير معلومات حول حفظ الأحماض النووية في النسيج وكذلك إمكانية وصول الأحماض النووية إلى المسبار. إذا فشل مسبار DNA Positive Control Probe في إظهار التلطّيح الإيجابي، فينبغي اعتبار نتائج عينات الاختبار غير صحيحة.

نسيج المريض

فحص عينات المرضى المطلّحة بمسبار اختبار DNA في النهاية. ينبغي تقييم كثافة التلطّيح الإيجابي في سياق أي تلطّيح غير محدد بالخلفية بخصوص DNA Negative Control PB0731.

النتائج المتوقعة

الأنسجة الطبيعية

لم تتم ملاحظة أي تلطّيح باستخدام PB0731 في مجموعة كبيرة من الأنسجة. (إجمالي عدد الحالات العادية التي تم تقييمها = 112).

الأنسجة غير الطبيعية

لم تتم ملاحظة وجود أي تلطّيح باستخدام PB0731 في أورام المبيض (0/4)، وأورام الغدة الدرقية (0/3)، وأورام الرئة (0/3)، وأورام المريء (0/2)، وأورام الثدي (0/2)، وأورام المعدة (0/2)، وأورام الأنسجة الرخوة (0/2)، وأورام اللسان (0/2)، والأورام النقيلية من أصل غير معروف (0/2)، وأورام الكبد (0/2)، وأورام الكلى (0/2)، وأورام عنق الرحم (0/2)، وأورام القولون (0/2)، وأورام المستقيم (0/2) وورم الجلد (0/2)، وورم الحنجرة (0/1)، وورم الغدة الصغرى (0/1)، ورم المخ (0/1). (إجمالي عدد الحالات غير العادية التي تم تقييمها = 37).
يوصى باستخدام PB0731 كإداة فحص لتقييم تلطّيح مسبار اختبار DNA على عينة مريض.

القيود الخاصة بالمنتج

تم تحسين DNA Negative Control باستخدام Leica Biosystems مع Anti-Biotin Antibody، و Stringency Wash Solution، و BOND Polymer Refine Detection، وكواشف BOND المساعدة في أنسجة عنق الرحم المثبتة بالفورمالين، والمضمنة في البارافين. على المستخدمين الذين يحددون عن إجراءات الاختبار الموصى بها فيقول تحمل المسؤولية عن تفسير نتائج المرضى في ظل هذه الظروف. قد تختلف أوقات البروتوكول بسبب اختلاف نوع النسيج والتثبيت والمعالجة. بالإضافة إلى ذلك، قد يحتاج تركيز BOND Enzyme ووقت الحضانة إلى التحسين على حسب نوع النسيج، وظروف المعالجة، والتثبيت. ينبغي استعمال ضوابط الكواشف السلبية عند تحسين ظروف المعالجة المسبقة وأوقات البروتوكول.

اكتشاف المشكلات وحلها

قد يساعد المرجع رقم 3 في الحصول على إجراء علاجي. اتصل بالموزع المحلي لديك أو بمكتب Leica Biosystems الإقليمي للإبلاغ عن أي تلطّيح غير اعتيادي.

المزيد من المعلومات

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

قائمة المراجع

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

تاريخ الإصدار

17 أكتوبر 2018

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