

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Catalog No: PB0682

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.

Brugsanvisning

Vennligst les denne før du bruker produktet.

Kullanım Talimatları

Lütfen bu ürünü kullanmadan önce okuyunuz.

Инструкции за употреба

Моля, прочетете преди употреба на този продукт.

Használati utasítás

A termék használatba vétele előtt olvassa el.

Instrucțiuni de utilizare

Citiți aceste instrucțiuni înainte de a utiliza produsul.

Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

Instrukcja obsługi

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

Návod k použití

Čtěte před použitím tohoto výrobku.

Návod na použitie

Prosím, prečítajte si ho pred použitím produktov.

إرشادات الإستعمال

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.

Verificati integritatea ambalajului înainte de a utiliza produsul.

Перед применением убедитесь в целостности упаковки.

Przed użyciem należy sprawdzić, czy opakowanie jest szczelne.

Pred uporabo preverite celovitost embalaže.

Před použitím zkontrolujte neporušenost obalu.

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

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Catalog No: PB0682

Intended Use

This reagent is for *in vitro* diagnostic use.

The DNA Positive Control Probe is intended for use as a positive control in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue by DNA *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

The DNA Positive Control Probe is a DNA probe designed to specifically hybridize to the genomic ALU repeat sequences, which represent approximately 10% of the human genome¹. ALU repeats are a part of the short interspersed elements superfamily. Although their function is unclear, they are known to be responsible for genomic insertional mutagenesis via retrotransposition and are associated with human disease^{2,3}. The DNA Positive Control Probe is generated with a biotin label using the same procedures as applied to the BOND HPV Probes.

DNA ISH using DNA Positive Control Probe is used as a control; by the detection of human ALU repeat sequences in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. The method is reproducible and should result in brown nuclear staining of most human nucleated cells.

Reagents Provided

DNA Positive Control Probe is a DNA probe supplied in hybridization solution.

Total volume = 6.25 mL

Dilution and Mixing

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

Materials Needed but Not Provided

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

Storage and Stability

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

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

Return to 2–8 °C immediately after use.

Storage conditions other than those specified above must be verified by the user⁴.

Precautions

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

DNA POSITIVE CONTROL PROBE

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 precautions. 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.
- Enzyme digestion 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 Positive Control Probe was developed for use on the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system) in combination with Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution and BOND Polymer Refine Detection. The recommended staining protocol for the DNA Positive Control Probe is ISH Protocol B. Enzyme 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.

To gain optimal performance from the DNA Positive Control Probe tissue specimens should be placed at least 5 mm from the frosted end of the slide and 9 mm from the non-frosted end of the slide.

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 Probe PB0731.

Results Expected

Normal Tissues

Where measurable, PB0682 detected DNA in a wide range of tissues. (Total number of normal cases evaluated = 118).

Abnormal Tissues

PB0682 detected DNA in 4/4 lung tumors, 4/4 ovarian tumors, 3/3 thyroid tumors, 2/2 esophageal tumors, 2/2 breast tumors, 2/2 stomach tumors, 2/2 soft tissue tumors, 2/2 tongue tumors, 2/2 metastatic tumors of unknown origin, 2/2 liver tumors, 2/2 kidney tumors, 2/2 cervical tumors, 2/2 testicular tumors, 2/2 colon tumors, 2/2 rectal tumors, 2/2 skin tumors, 1/1 larynx tumor 1/1 thymus tumor and 1/1 brain tumor. (Total number of abnormal cases evaluated = 40).

PB0682 is recommended as a screening tool to detect the preservation of DNA in cells.

Product Specific Limitations

DNA Positive Control Probe has been optimized by 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 6 may aid in remedial action.

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

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

Further Information

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

Bibliography

1. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. *Nat Rev Genet.* 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? *Nucleic Acids Res.* 26 pp.4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Date of Issue

24 September 2018

PB0682
Page 3

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Référence: PB0682

Utilisation Prévue

Ce réactif est destiné au diagnostic *in vitro*.

La DNA Positive Control Probe est destinée à une utilisation en tant que solution de contrôle positif dans un tissu fixé au formol et inclus dans la paraffine par l'ADN 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 Positive Control Probe est une sonde ADN conçue pour s'hybrider spécifiquement aux séquences génomiques répétées ALU, qui représentent environ 10 % du génome humain¹. Les séquences répétées ALU font partie de la superfamille des éléments dispersés courts. Même si leur fonction n'est pas complètement élucidée, elles sont connues pour être responsables de la mutagenèse génomique par insertion, par rétrotransposition, et sont associées à des maladies chez l'homme^{2,3}. DNA Positive Control Probe est produite avec un marqueur biotinylé, en utilisant les méthodes appliquées aux sondes BOND HPV Probes.

L'hybridation *in situ* de l'ADN réalisée avec DNA Positive Control Probe sert de contrôle, en détectant les séquences répétées ALU humaines sur du tissu fixé au formol et inclus en paraffine. La méthode est reproductible et doit se traduire par une coloration nucléaire marron de la plupart des cellules nucléées humaines.

Réactifs Fournis

DNA Positive Control Probe est une sonde ADN fournie dans une solution d'hybridation.

Volume total = 6,25 mL

Dilution et Mélange

DNA Positive Control Probe est prête 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'utilisateur⁴.

Précautions

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

DNA POSITIVE CONTROL PROBE H360D: Peut nuire au fœtus.

Contient Formamide (<70%).

GHS08: Danger pour la santé.

Mentions d'avertissement: Danger.

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 adéquates⁵. 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 d'incubation pour la digestion enzymatique autres que celles spécifiées peuvent entraîner des résultats erronés. Tout changement doit être validé par l'utilisateur.

Mode d'Emploi

La DNA Positive Control Probe été développée pour être utilisée 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 Positive Control Probe est ISH Protocol B. Un prétraitement enzymatique est recommandé avec BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1, pendant 15 minutes.

Pour obtenir une performance optimale avec DNA Positive Control Probe, les échantillons de tissu doivent être placés à 5 mm au moins de l'extrémité dépolie de la lame et à 9 mm de l'extrémité polie de la lame.

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 Probe 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 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 Probe PB0731.

Résultats Attendus

Tissus sains

Lorsqu'il était mesurable, PB0682 a détecté de l'ADN dans de nombreux tissus. (Nombre total de cas normaux évalués = 118).

Tissus tumoraux

PB0682 a détecté de l'ADN dans 4/4 tumeurs pulmonaires, 4/4 tumeurs ovariennes, 3/3 tumeurs de la thyroïde, 2/2 tumeurs de l'œsophage, 2/2 tumeurs mammaires, 2/2 tumeurs de l'estomac, 2/2 tumeurs des tissus mous, 2/2 tumeurs de la langue, 2/2 tumeurs métastatiques d'origine inconnue, 2/2 tumeurs du foie, 2/2 tumeurs rénales, 2/2 tumeurs cervicales, 2/2 tumeurs testiculaires, 2/2 tumeurs du côlon, 2/2 tumeurs rectales, 2/2 tumeurs de la peau, 1/1 tumeur du larynx, 1/1 tumeur du thymus et 1/1 tumeur du cerveau. (Nombre total de cas anormaux évalués = 40).

PB0682 est recommandé comme outil de dépistage pour détecter la préservation d'ADN dans les cellules.

Limites Spécifiques du Produit

DNA Positive Control Probe a été optimisée 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° 6 peut aider à la mise au point d'une mesure corrective.

Les échantillons à tester doivent être complétés par les contrôles réactifs et tissulaires appropriés.

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. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. Nat Rev Genet. 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? Nucleic Acids Res. 26 pp.,4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Date de Publication

24 septembre 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

N. Catalogo: PB0682

Uso Previsto

Reagente per uso diagnostico *in vitro*.

La DNA Positive Control Probe è studiata per essere usata come controllo positivo su tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina sottoposti a tecniche di ibridazione *in situ* (ISH) con DNA 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

La DNA Positive Control Probe è una sonda a DNA progettata per l'ibridazione specifica delle sequenze genomiche ripetute ALU, che rappresentano il 10% circa del genoma umano¹. Le ripetizioni ALU fanno parte della superfamiglia degli elementi brevi disseminati. La loro funzione non è chiara ma si sa che attraverso la retrotrasposizione sono responsabili della mutagenesi genomica inserzionale e che si associano a condizioni patologiche umane^{2,3}. La DNA Positive Control Probe è dotata di una marcatura con biotina realizzata con le stesse procedure utilizzate per le BOND HPV Probes.

L'ISH del DNA con la DNA Positive Control Probe viene utilizzata come controllo, attraverso la rilevazione delle sequenze ripetute ALU umane in tessuto fissato in formalina, incluso in paraffina. Il metodo è riproducibile e deve dare luogo alla colorazione marrone del nucleo della maggior parte delle cellule umane nucleate.

Reagenti Forniti

La DNA Positive Control Probe è una sonda di DNA fornita in soluzione di ibridazione.

Volume totale = 6,25 mL

Diluizione e Miscelazione

La DNA Positive Control Probe è pronta 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 specificate⁴.

Precauzioni

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

DNA POSITIVE CONTROL PROBE

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 precauzioni⁵. 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 della digestione enzimatica diversi da quelli specificati possono fornire risultati erranei. Ogni eventuale modifica deve essere convalidata dall'utente.

Istruzioni per l'Uso

La DNA Positive Control Probe è stata sviluppata per essere usata 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 Positive Control Probe è ISH Protocol B. Si raccomanda un pretrattamento enzimatico usando BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 per 15 minuti.

Per ottenere prestazioni ottimali da DNA Positive Control Probe, i campioni di tessuto devono essere depositi almeno a 5 mm dall'estremità smerigliata del vetrino e a 9 mm dall'estremità non smerigliata.

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 Probe PB0731.

Risultati Attesi

Tessuti normali

Laddove misurabile, PB0682 ha rilevato DNA in una vasta gamma di tessuti. (Numero totale di casi normali esaminati = 118).

Tessuti neoplastici

PB0682 ha rilevato DNA in 4/4 tumori ai polmoni, 4/4 tumori ovarici, 3/3 tumori tiroidei, 2/2 tumori esofagei, 2/2 tumori mammari, 2/2 tumori allo stomaco, 2/2 tumori dei tessuti molli, 2/2 tumori alla lingua, 2/2 tumori metastatici di origine sconosciuta, 2/2 tumori al fegato, 2/2 tumori ai reni, 2/2 tumori cervicali, 2/2 tumori testicolari, 2/2 tumori al colon, 2/2 tumori rettali, 2/2 tumori alla pelle, 1/1 tumore alla laringe 1/1 tumore al timo e 1/1 tumore al cervello. (Numero totale di casi anormali esaminati = 40).

PB0682 è consigliata come strumento di screening per rilevare la conservazione di DNA nelle cellule.

Limitazioni Specifiche del Prodotto

La DNA Positive Control Probe è stata ottimizzata 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. 6 può essere di aiuto per le azioni di rimedio.

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

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

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. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. *Nat Rev Genet.* 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? *Nucleic Acids Res.* 26 pp. 4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Data di Pubblicazione

24 settembre 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Bestellnr.: PB0682

Verwendungszweck

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

Die DNA Positive Control Probe ist für die Verwendung als Positivkontrolle in formalinfixiertem, paraffineingebettetem Gewebe bei DNA-In-situ-Hybridisierungs-Verfahren (ISH) auf dem automatisierten BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) bestimmt.

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 Positive Control Probe ist eine DNA-Sonde, die für die spezifische Hybridisierung genomischer repetitiver ALU-Sequenzen entwickelt wurde, die ungefähr 10% des humanen Genoms ausmachen¹. Repetitive ALU-Sequenzen gehören zur Superfamilie der kurzen verstreuten Elemente (short interspersed elements, SINES). Auch wenn ihre genaue Funktion nicht bekannt ist, so weiß man, dass sie mittels Retrotranspositionen für genomische Insertionsmutagenesen verantwortlich und mit Humankrankheiten assoziiert sind^{2,3}. DNA Positive Control Probe wurde auf die gleiche Weise wie BOND HPV Probes mit Biotin gekoppelt.

Die DNA Positive Control Probe wird bei der DNA-ISH als Kontrolle eingesetzt, da sie humane repetitive ALU-Sequenzen in formalinfixiertem, in Paraffin eingebettetem Gewebe nachweist. Die Methode ist reproduzierbar und führt zu einer braunen, nukleären Färbung der Mehrzahl humaner kernhaltiger Zellen.

Mitgelieferte Reagenzien

DNA Positive Control Probe ist eine DNA-Sonde, die in einer Hybridisierungslösung geliefert wird.

Gesamtvolumen = 6,25 mL

Verdünnung und Mischung

DNA Positive Control Probe 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 werden⁴.

Vorsichtsmaßnahmen

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

DNA POSITIVE CONTROL PROBE

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 entsorgen Sie sie unter Beachtung der entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen⁵. 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 Enzymverdauungszeiten oder Temperaturen können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Diesbezügliche Änderungen müssen vom Anwender selbst getestet werden.

Gebrauchsanleitung

DNA Positive Control Probe 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 Positive Control Probe. Es wird eine Enzymvorbereitung unter Anwendung von BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 für 15 Minuten.

Für eine optimale Leistung mit DNA Positive Control Probe sollten Gewebeprobe mindestens 5 mm von dem Mattrand des Objektträgers und 9 mm von dem anderen Rand des Objektträgers entfernt platziert werden.

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 Zielsequenzmarkierung 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 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 Färbereintätigkeit ist im Kontext einer unspezifischen Hintergrundfärbung der DNA Negative Control Probe PB0731 zu bewerten.

Erwartete Ergebnisse

Normale Gewebe

Sofern messbar, detektierte PB0682 DNA in einem breiten Spektrum von Gewebeprobe. (Anzahl der insgesamt untersuchten Normalgewebeprobe = 118).

Tumorgewebe

PB0682 wies DNA in Tumoren von Lunge (4/4) und Eierstöcken (4/4), Tumoren der Schilddrüse (3/3), Tumoren von Ösophagus (2/2), Brust (2/2), Magen (2/2), Weichteiltumoren (2/2), Tumoren der Zunge (2/2), metastatischen Tumoren unbekanntes Ursprungs (2/2), Tumoren von Leber (2/2), Niere (2/2), Zervix (2/2), Testikeln (2/2), Colon (2/2), Rektum (2/2), Haut (2/2) und je einem Tumor von Larynx (1/1), Thymus (1/1) und Gehirn (1/1) nach. (Anzahl der insgesamt untersuchten pathologischen Gewebeprobe = 40).

PB0682 wird als Hilfsmittel beim Screening auf den Erhalt der DNA in Zellen empfohlen.

Produktspezifische Einschränkungen

DNA Positive Control Probe 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 Gewebearbeit 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 Vorbereitungsbedingungen und Verfahrenszeiten sollten negative Reagenzkontrollen eingesetzt werden.

Fehlersuche

Maßnahmen zur Abhilfe beim Auftreten von Fehlern finden Sie in Referenz 6.

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

Falls Sie ungewöhnliche Färbegergebnisse beobachten, wenden Sie sich an Ihre örtliche Vertriebsfirma oder 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. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. Nat Rev Genet. 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? Nucleic Acids Res. 26 pp.4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Ausgabedatum

24 September 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Catálogo N.º.: PB0682

Indicaciones de Uso

Este reactivo es para uso diagnóstico *in vitro*.

La sonda DNA Positive Control Probe está pensada para su uso como control positivo en tejidos fijados en formalina e incluidos en parafina mediante hibridación *in situ* (ISH) del ADN, 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 Positive Control Probe es una sonda de ADN diseñada para hibridarse específicamente con las secuencias genómicas repetidas ALU, que representan aproximadamente el 10% del genoma humano¹. Las repeticiones ALU forman parte de la superfamilia de elementos intercalados cortos. Aunque su función no está clara, se sabe que son responsables de mutagénesis por inserción genómica mediante retrotransposición, y están asociados con enfermedades humanas^{2,3}. DNA Positive Control Probe se genera con una etiqueta de biotina mediante los mismos procedimientos que se aplican a las BOND HPV Probes.

DNA Positive Control Probe se utiliza como control en ISH de ADN, mediante la detección de secuencias repetidas ALU en tejidos fijados en formalina e incrustados en parafina. El método es reproducible, y debe producir la tinción nuclear en marrón de la mayoría de las células nucleadas humanas.

Reactivos Suministrados

DNA Positive Control Probe es una sonda de ADN que se suministra en solución de hibridación.

Volumen total = 6,25 mL

Dilución y Mezcla

DNA Positive Control Probe está lista 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 necesarias⁴.

Precauciones

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

DNA POSITIVE CONTROL PROBE H360D: Puede dañar al feto. Contiene Formamida (<70%). GHS08: Peligro para la salud. Palabras de advertencia: Peligro.	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 correspondientes⁵. 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 las o 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 incubación y digestión diferentes de los especificados pueden dar resultados erróneos. Cualquier cambio que se produzca deberá ser validado por el usuario.

Instrucciones de Uso

DNA Positive Control Probe 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 Positive Control Probe es ISH Protocol B. El pretratamiento enzimático se recomienda usando BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1, durante 15 minutos.

Para obtener una eficiencia óptima de DNA Positive Control Probe, las muestras de tejido deben colocarse a 5 mm como mínimo del extremo esmerilado del portaobjetos y a 9 mm del extremo no esmerilado del portaobjetos.

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 realizada. Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.

Control negativo de tejido

Debe examinarse después del control positivo de tejido, a fin de verificar la especificidad del marcado de la sonda en la 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 Probe PB0731.

Resultados Esperados

Tejidos normales

Donde se podía medir, PB0682 detectó ADN en una amplia gama de tejidos. (Número total de casos normales evaluados = 118).

Tejidos tumorales

PB0682 detectó ADN en los 4/4 cánceres de pulmón, los 4/4 cánceres ováricos, los 3/3 cánceres tiroideos, los 2/2 cánceres esofágicos, los 2/2 cánceres de mama, los 2/2 cánceres gástricos, los 2/2 sarcomas del tejido blando, los 2/2 cánceres de lengua, los 2/2 cánceres metastásicos de origen desconocido, los 2/2 cánceres hepáticos, los 2/2 cánceres de riñón, los 2/2 tumores cervicales, los 2/2 tumores testiculares, los 2/2 cánceres de colon, los 2/2 tumores rectales, los 2/2 cánceres de piel, el 1/1 cáncer de laringe, el 1/1 cáncer de timo y el 1/1 tumor cerebral. (Número total de casos anormales evaluados = 40).

Se recomienda PB0682 como herramienta de cribado para detectar la conservación del ADN celular.

Limitaciones Específicas del Producto

DNA Positive Control Probe se ha optimizado en Leica Biosystems para su uso con Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection y reactivos auxiliares BOND sobre tejido cervical fijado con 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. Se debe utilizar reactivos de control negativos a la hora de optimizar las condiciones de pretratamiento y los tiempos de protocolo.

Resolución de Problemas

La referencia 6 puede ayudar en las acciones correctoras.

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

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. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. *Nat Rev Genet.* 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? *Nucleic Acids Res.* 26 pp.4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Fecha de Publicación

24 de septiembre de 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Nº de Catálogo: PB0682

Utilização Prevista

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

A DNA Positive Control Probe destina-se a utilização como controlo positivo em tecidos embebidos em parafina e fixados em formalina pela hibridização *in situ* (ISH) do ADN utilizando o sistema BOND automatizado (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III).

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

Resumo e Explicação

A Sonda de DNA Positive Control Probe consiste numa sonda de ADN concebida especificamente para hibridização com as sequências repetidas ALU genómicas, que representam aproximadamente 10% do genoma humano¹. As repetições de ALU fazem parte da superfamília de elementos dispersos curtos. Embora a sua função não se encontre esclarecida, sabe-se serem responsáveis por mutagénesis insercional genómica mediante retro-transposição, estando associados a doenças humanas^{2,3}. A Sonda de Controlo Positivo de ADN é produzida com um rótulo de biotina utilizando os mesmos procedimentos aplicados para as BOND HPV Probes.

A ISH de ADN utilizando a Sonda de Controlo Positivo de ADN é utilizada como controlo; através da detecção de sequências repetidas de ALU humanas em tecidos fixos com formalina e embebidos em parafina. O método é reprodutível e deve originar uma coloração nuclear castanha da maioria das células nucleadas humanas.

Reagentes Fornecidos

A Sonda de DNA Positive Control Probe consiste numa sonda de ADN fornecida numa solução de hibridização.

Volume total = 6,25 mL

Diluição e Mistura

A Sonda de DNA Positive Control Probe está pronta 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 utilizador⁴.

Precauções

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

DNA POSITIVE CONTROL PROBE

Contém Formamide (<70%).
GHS08: Perigo para a saúde.
Palavras-sinal: Perigo.

H360D: Pode afectar o nascituro.

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 adequadas⁵. Nunca pipete reagentes com a boca e evite o contacto da 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 incubação para digestão enzimática diferentes dos especificados pode produzir resultados erróneos. Qualquer alteração deste tipo deve ser validada pelo utilizador.

Instruções de Utilização

A DNA Positive Control Probe foi desenvolvida 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 Positive Control Probe é o ISH Protocol B. Recomenda-se o pré-tratamento enzimático com BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1, durante 15 minutos.

Para se obter um desempenho óptimo de DNA Positive Control Probe, as amostras de tecido devem ser colocadas a pelo menos 5 mm da extremidade fosca da lâmina e a 9 mm da extremidade não fosca da lâmina.

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 Probe PB0731.

Resultados Esperados

Tecidos normais

Onde existem condições mensuráveis, o PB0682 detetou ADN numa grande variedade de tecidos. (Número total de casos normais avaliados = 118).

Tecidos tumorais

O PB0682 detetou ADN em 4/4 tumores pulmonares, 4/4 tumores ováricos, 3/3 tumores da tiróide, 2/2 tumores esofágicos, 2/2 tumores mamários, 2/2 tumores do estômago, 2/2 tumores dos tecidos moles, 2/2 tumores da língua, 2/2 tumores metastáticos de origem desconhecida, 2/2 tumores hepáticos, 2/2 tumores renais, 2/2 tumores do colo do útero, 2/2 tumores testiculares, 2/2 tumores do cólon, 2/2 tumores do reto, 2/2 tumores de pele, 1/1 tumor da laringe, 1/1 tumor do timo e 1/1 tumor cerebral. (Número total de casos anormais avaliados = 40).

O PB0682 é recomendado como uma ferramenta de rastreio para detetar a preservação de ADN nas células.

Limitações Específicas para o Produto

A Sonda de DNA Positive Control Probe 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 6 pode ajudar na acção de resolução.

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

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

Informações Adicionais

Poderá encontrar informações adicionais sobre 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. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. *Nat Rev Genet.* 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? *Nucleic Acids Res.* 26 pp.4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Data de Emissão

24 de Setembro de 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Artikelnummer: PB0682

Användningsområde

Reagenset är avsett för *in vitro*-diagnostik.

DNA Positive Control Probe är avsedd att användas som positiv kontroll i formalinfixerad, paraffinbäddad vävnad med DNA *in situ*-hybridisering (ISH) med användning av det automatiserade 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 Positive Control Probe är ett DNA-probe som är utformad för att specifikt hybridisera till de genomiska ALU-upprepade sekvenserna, vilka representerar ungefär 10% av det mänskliga genomet. ALU-repetitioner är en del av superfamiljen korta inbäddade element. Även om deras funktion är oklar, är de kända för att vara ansvariga för genomisk insertionell mutagenes via omvänd transkription och är associerade med humansjukdomar^{2,3}. DNA Positive Control Probe genereras med en biotinetikett och som använder samma procedurer som tillämpas på BOND HPV Probes.

DNA ISH med DNA Positive Control Probe används som kontroll; av detekteringen av upprepade sekvenser av humant ALU i formalinfixerad, paraffinbäddad vävnad. Metoden är reproducerbar och skall resultera i brun, nukleär färgning av de flesta humana celler.

Ingående Reagenser

DNA Positive Control Probe är en DNA-probe som levereras i hybridiseringslösning.

Total volym = 6,25 mL

Spädning och Blandning

DNA Positive Control Probe 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 användaren⁴.

Säkerhetsföreskrifter

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

DNA POSITIVE CONTROL PROBE

Innehåller Formamid (<70%).

GHS08: Hälsofara.

Signalord: Fara.

H360D: Kan skada det ofödda barnet.

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 material⁵. 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 föordningar.
- Minimera mikrobiologisk kontamination av reagenser, annars kan en ökad icke-specifikt infärgning bli resultatet.

- Enzymnedbrytning, inkubationstider eller temperaturer som avviker mot dem angivna kan ge felaktiga resultat. Varje sådan förändring måste valideras av användaren.

Bruksanvisning

DNA Positive Control Probe 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 Positive Control Probe är ISH Protocol B. Enzymatisk förbehandling med BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 rekommenderas, 15 minuter.

För att erhålla bästa möjliga resultat med DNA Positive Control Probe ska vävnadsproverna placeras minst 5 mm från den mattslipade änden av objektglaset, och minst 9 mm från klarglasänden.

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

Kvalitetskontroll

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

Positiv vävnadskontroll

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

Negativ vävnadskontroll

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

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

Negativ reagenskontroll

Använd 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 Probe PB0731.

Förväntade Resultat

Normala vävnader

Där så var mätbart, detekterade PB0682 DNA i ett stort antal olika vävnader. (Totalt antal utvärderade normalfall = 118).

Tumörvävnader

PB0682 detekterade DNA i 4/4 lungtumörer, 4/4 äggstockstumörer, 3/3 sköldkörteltumörer, 2/2 esofageala tumörer, 2/2 brösttumörer, 2/2 magsäckstumörer, 2/2 mjukvävnadstumörer, 2/2 tungtumörer, 2/2 metastasiska tumörer av okänt ursprung, 2/2 levertumörer, 2/2 njurtumörer, 2/2 livmoderhalstumörer, 2/2 testikeltumörer, 2/2 kolontumörer, 2/2 rektala tumörer, 2/2 hudtumörer, 1/1 struphuvudstumör, 1/1 thymustumör och 1/1 hjärntumör. (Totalt antal utvärderade normala fall = 40).

PB0682 rekommenderas som ett screeningverktyg för att detektera bibehållningen av DNA i celler.

Produktspecifika Begränsningar

DNA Positive Control Probe 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-koncentrationen och -inkubationstiden behöva optimeras beroende på vävnadstyp, samt bearbetnings- och fixeringsförhållandena. Negativa reagenskontroller bör användas när man optimerar betingelserna för förbehandling och protokolltider.

Felsökning

Referens 6 kan hjälpa till vid åtgärdande av problem.

Testprover skall komplementeras av lämpliga vävnads- och reagenskontroller.

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

Mer Information

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

Litteraturförteckning

1. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. Nat Rev Genet. 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? Nucleic Acids Res. 26 pp.4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Utgivningsdatum

24 september 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Αρ. Καταλόγου: PB0682

Σκοπός Χρήσης

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

Το DNA Positive Control Probe προορίζεται για χρήση ως θετικός μάρτυρας 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 Positive Control Probe είναι ένας ανιχνευτής DNA που έχει σχεδιαστεί ειδικά για να υβριδίζεται με τις γονιδιακές αλληλουχίες ALU, οι οποίες αντιπροσωπεύουν περίπου το 10% του ανθρώπινου γονιδιώματος¹. Οι αλληλουχίες ALU αποτελούν μέρος της υπεροικονομίας βραχέων διασπαρμένων στοιχείων. Αν και η λειτουργία τους είναι αδιευκρίνιστη, είναι γνωστό ότι ευθύνονται για γονιδιακή ενθετική μεταλλαξινέυση μέσω ρετρομετάθεσης, και σχετίζονται με ανθρώπινη ασθένεια²⁻³. Το DNA Positive Control Probe παράγεται με σήμανση βιοτίνης, χρησιμοποιώντας τις ίδιες διαδικασίες με αυτές που εφαρμόζονται στα BOND HPV Probes.

Το DNA ISH, με χρήση του DNA Positive Control Probe χρησιμοποιείται ως υλικό ελέγχου για την ανίχνευση ανθρώπινων αλληλουχιών ALU σε σταθεροποιημένο με φορμαλίνη, εμποτισμένο με παραφίνη ιστό. Η μέθοδος είναι αναπαραγωγίμη και θα πρέπει να έχει ως αποτέλεσμα μια καφέ χρώση του πυρήνα των περισσότερων ανθρώπινων εμπύρηνων κυττάρων.

Αντιδραστήρια Που Παρέχονται

Το DNA Positive Control Probe είναι ένας ανιχνευτής DNA που παρέχεται σε διάλυμα υβριδοποίησης.

Συνολικός όγκος = 6,25 mL

Αραίωση και Ανάμειξη

Το DNA Positive Control Probe είναι έτοιμο για χρήση. Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμειξη, αραίωση ή τίτλοδότηση 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 χρήστη⁴.

Προφυλάξεις

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

DNA POSITIVE CONTROL PROBE

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 χρησιμοποιήσετε πριν διαβάσετε και κατανοήσετε τις οδηγίες προφύλαξης.

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 προφυλάξεις⁵. Μην κάνετε ποτέ αναρρόφηση αντιδραστήριων 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 τις με άφρονο νερό. Ζητήστε ιατρική συμβουλή.
- Συμβουλευτείτε τους ομοσπονδιακούς, πολιτειακούς ή τοπικούς κανονισμούς για απόρριψη τυχόν δυνητικών τοξικών συστατικών.
- Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστήριων, διαφορετικά μπορεί να υπάρξει αύξηση σε μη ειδική χρώση.
- Χρόνοι ή θερμοκρασίες επώασης για την ενζυμική πέψη διαφορετικοί από τους καθορισμένους μπορούν να οδηγήσουν σε εσφαλμένα αποτελέσματα. Οποιαδήποτε τέτοια αλλαγή πρέπει να επικυρώνεται από τον χρήστη.

Οδηγίες Χρήσης

Το DNA Positive Control Probe 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, Stringency Wash Solution και το BOND Polymer Refine Detection. Το συνιστώμενο πρωτόκολλο χρώσης για το DNA Positive Control Probe είναι το ISH Protocol B. Συνιστάται ενζυμική προπεξεργασία με χρήση του BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1, για 15 πρακτικά.

Για να επιτευχθεί βέλτιστη απόδοση του DNA Positive Control Probe, τα δείγματα ιστού θα πρέπει να τοποθετούνται σε απόσταση τουλάχιστον 5 mm από το εσθμισμένο άκρο της αντικειμενοφόρου πλάκας και 9 mm από το μη εσθμισμένο άκρο της.

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

Αρνητικός μάρτυρας αντιδραστήριου

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 επιβεβαιώσετε την καλύτερη ερμηνεία της ειδικής χρώσης στο στόχο.

Θετικός μάρτυρας αντιδραστήριου

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

Ιστός ασθενούς

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

Αναμενόμενα Αποτελέσματα

Φυσιολογικοί ιστοί

Όπου ήταν μετρήσιμο, το PB0682 ανίχνευσε DNA σε μεγάλο εύρος ιστών. (Συνολικός αριθμός φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 118).

Νεοπλασματικοί ιστοί

Το PB0682 ανίχνευσε DNA σε 4/4 όγκους των πνευμόνων, 4/4 όγκους των ωοθηκών, 3/3 όγκους του θυρεοειδούς, 2/2 όγκους του οισοφάγου, 2/2 όγκους του μαστού, 2/2 όγκους του στομάχου, 2/2 όγκους μαλακών μοριών, 2/2 όγκους της γλώσσας, 2/2 μεταστατικούς όγκους ανώστου αιτιολογίας, 2/2 όγκους του ήπατος, 2/2 όγκους των νεφρών, 2/2 όγκους του τραχήλου της μήτρας, 2/2 όγκους των ορχέων, 2/2 όγκους στο κολόν, 2/2 όγκους του ορθού, 2/2 όγκους του δέρματος, 1/1 όγκο του λάρυγγα, 1/1 όγκο του θύμου αδένος και 1/1 όγκο του εγκεφάλου. (Συνολικός αριθμός μη φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 40).

Το PB0682 συνιστάται ως εργαλείο προληπτικού ελέγχου για την ανίχνευση της διατήρησης του DNA στα κύτταρα.

Ειδικό Περιορισμοί Του Προϊόντος

Το DNA Positive Control Probe έχει βελτιστοποιηθεί από τη Leica Biosystems για χρήση με Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection και βοηθητικά αντιδραστήρια BOND σε σταθεροποιημένο με φορμαλίνη, εμποτισμένο 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. Για τη βελτιστοποίηση των συνθηκών προκατεργασίας και των χρόνων πρωτοκόλλου θα πρέπει να χρησιμοποιούνται αντιδραστήρια αρνητικού ελέγχου.

Αντιμετώπιση Προβλημάτων

Η παραπομπή 6 μπορεί να βοηθήσει σε θεραπευτικές ενέργειες.

Τα δείγματα εξέτασης θα πρέπει να συμπληρώνονται με το κατάλληλο δείγμα ιστού και αντιδραστήριο ελέγχου.

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. International Human Genome Sequencing Consortium.,2001. Initial sequencing and analysis of the human genome.Nature 409 pp.860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL.,2002 Alu repeats and human genomic diversity.Nat Rev Genet.372 pp.370–9.
3. Schmid CW.,1998. Does SINE evolution preclude Alu function?Nucleic Acids Res.26 pp.4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG.The theory and practice of *in situ* hybridization.In:Wilkinson DG.(ed.)*In situ* Hybridization A practical approach.2nd Edition.New York:Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Ημερομηνία Έκδοσης

24 Σεπτεμβρίου 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Katalognummer: PB0682

Tilsigtet Anvendelse

Dette reagens er beregnet til *in vitro* diagnostik.

DNA Positive Control Probe er beregnet til brug som en positiv kontrol i formalinfikseret, paraffinindstøbt væv ved *in situ*-DNA-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 Positive Control Probe er en DNA-probe, som er udviklet til specifikt at hybridisere med de genome ALU gentagelsessekvenser, som repræsenterer ca. 10% af det humane genom¹. ALU gentagelserne er en del af superfamilien SINE (short interspersed elements). Selv om deres funktion ikke er klarlagt, ved man, at de styrer genom insertionel mutagenese gennem retrotransposition, og de er associeret med sygdom hos mennesket^{2,3}. Den DNA Positive Control Probe er fremstillet med en biotinmærkning med samme procedurer som BOND HPV Probes.

DNA ISH med anvendelse af den DNA Positive Control Probe benyttes som kontrol - ved detektion af humane ALU gentagelsessekvenser i formalinfikserede, paraffinindstøbte væv. Metoden er reproducerbar og skal medføre brun kernefarvning af de fleste humane kerneholdige celler.

Leverede Reagenser

DNA Positive Control Probe er en DNA-probe leveret i hybridiseringsopløsning.

Volumen i alt = 6,25 mL

Fortynding og Blanding

DNA Positive Control Probe er klar til brug. Rekonstitution, blanding, fortynding eller titring 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 prøvewæv.

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

Opbevaringsbetingelser, der adskiller sig fra de oven for specificerede, skal verificeres af brugeren⁴.

Forholdsregler

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

DNA POSITIVE CONTROL PROBE

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/

øjenskyttelse/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 forholdsregler⁵. Afpipetter ikke reagenser med munden, og undgå at reagenser og præparater kommer i kontakt med hud og slimhinder. Hvis reagenser eller præparater kommer i kontakt med følsomme områder, skal disse vaskes med rigelige mængder vand. Søg læge.
- Bortskaffelse af potentielt toksiske komponenter skal ske i overensstemmelse med gældende statslig eller lokal lovgivning.
- Mikrobiel kontaminering af reagenser skal minimeres for at undgå en øget uspecifik farvning.
- Enzymatisk nedbrydning og inkubationstider eller temperaturer, som afviger fra de specificerede, kan give fejlagtige resultater. Enhver af sådanne ændringer skal valideres af brugeren.

Brugsanvisning

DNA Positive Control Probe 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 Positive Control Probe er ISH Protocol B. Til enzymforbehandling, som anbefales, bruges BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 i 15 minutter.

For at få et optimalt udbytte af DNA Positive Control Probe placeres vævsprøven i en afstand af mindst 5 mm fra den mattede ende af objektglaset og 9 mm fra den ikke-mattede ende af objektglaset.

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 Probe PB0731.

Forventede Resultater

Normala væv

Hvor det er målbart, påviste PB0682 DNA i en lang række væv. (Samlet antal evaluerede, normale tilfælde = 118).

Tumorer

PB0682 påviste DNA i 4/4 lungetumorer, 4/4 ovarietumorer, 3/3 thyreoideatumorer, 2/2 øsofagustumorer, 2/2 brysttumorer, 2/2 mavetumorer, 2/2 bløddelstumorer, 2/2 tungetumorer, 2/2 metastatiske tumorer af ukendt oprindelse, 2/2 levertumorer, 2/2 nyretumorer, 2/2 cervixtumorer, 2/2 testikeltumorer, 2/2 colontumorer, 2/2 tumorer i rectum, 2/2 hudtumorer, 1/1 tumor i larynx, 1/1 thymustumor og 1/1 hjernetumor. (Samlet antal evaluerede, abnorme tilfælde = 40).

PB0682 anbefales som et screeningsværktøj til påvisning af bevarelse af DNA i celler.

Produktspecifikke Begrænsninger

DNA Positive Control Probe er optimeret hos Leica Biosystems til brug med Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection og BOND hjælpe-reagenser på formalinfixeret, paraffinindstøbt, væv fra cervix. 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 eller 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 6 for hjælpeforanstaltninger.

Undersøgelsesprøverne bør suppleres med passende vævs- og reagenskontroller.

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. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. *Nat Rev Genet.* 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? *Nucleic Acids Res.* 26 pp.4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Udgivelsesdato

24 september 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Catalogusnummer: PB0682

Beoogd gebruik

Dit reagens is voor *in vitro* diagnose.

De DNA Positive Control Probe is bedoeld voor gebruik als positieve controle in met formaline gefixeerd,

in paraffine ingebed weefsel door DNA *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 kleuring of van de afwezigheid van kleuring moet worden aangevuld met morfologisch onderzoek en geschikte controles, en moet worden geëvalueerd binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en eventueel andere diagnostisch onderzoek door een gekwalificeerd patholoog.

Samenvatting en uitleg

De DNA Positive Control Probe is een DNA-probe ontworpen om in het bijzonder aan de genomische repetitieve ALU-sequenties te hybridiseren, die ongeveer 10% van het menselijke genoom vertegenwoordigen¹. Repetitieve ALU-sequenties maken deel uit van de superfamilie van SINE's (short interspersed elements). Hoewel de functie ervan onduidelijk is, is bekend dat ze verantwoordelijk zijn voor genomische insertiemutagenese via retrotranspositie, en zijn ze geassocieerd met menselijke ziekten^{2,3}. De DNA Positive Control Probe wordt gegenereerd met een biotine-label, waarbij dezelfde procedures worden gebruikt die worden toegepast voor de BOND HPV Probes.

DNA ISH met de DNA Positive Control Probe wordt als een controle gebruikt door middel van de detectie van menselijke repetitieve ALU-sequenties in met formaline gefixeerd, in paraffine ingebed weefsel. De methode is reproduceerbaar en geeft als het goed is een bruine aankleuring van de kern van de meeste humane gekernde cellen.

Geleverde reagentia

De DNA Positive Control Probe is een DNA-probe geleverd in Hybridization Solution.

Totaal volume = 6,25 ml

Verdunnen en mengen

De DNA Positive Control Probe is klaar voor gebruik. Reconstitutie, mengen, verdunnen of titratie van dit reagens is niet nodig.

Benodigd maar niet meegeleverd materiaal

Raadpleeg "Gebruik van BOND-reagentia" in uw gebruiksdokumentatie van BOND voor een volledige lijst materiaal nodig voor het behandelen van specimen en voor *in situ* hybridisatie-kleuring met het BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem).

Opslag en stabiliteit

Opslaan bij 2-8 °C. Het product is onder die omstandigheden stabiel tot de vervaldatum. De vervaldatum is vermeld op het etiket van de verpakking.

Er zijn geen duidelijke tekenen van contaminatie en/of instabiliteit. Passende positieve en negatieve weefselcontroles moeten op hetzelfde moment worden meegenomen als testweefsels.

Zet direct na gebruik terug bij een temperatuur van 2-8 °C.

Andere opslagomstandigheden dan die hierboven vermeld zijn, moeten door de gebruiker worden geverifieerd⁴.

Voorzorgsmaatregelen

- Dit product is bedoeld voor *in vitro* diagnose.

DNA POSITIVE CONTROL PROBE

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/ogbescherming/gelaatsbescherming dragen.

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

P314: Bij onwel voelen een arts raadplegen.

Aleen voor professionele gebruikers.

- Neem voor een kopie van het veiligheidsinformatieblad contact op met uw plaatselijke distributeur, of met het regionale kantoor van Leica Biosystems, of bezoek de website van Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com.

- Specimens, vóór en na fixatie, en alle materiaal dat hieraan is blootgesteld, moeten worden behandeld als potentiële overdragers van infecties en volgens de juiste voorzorgsmaatregelen worden verwerkt⁵. Reagentia mogen nooit met de mond worden gepipetteerd. Vermijd contact van de huid en slijmvliezen met reagentia en specimens. Als reagentia of specimens in contact komen met gevoelige gebieden, was deze gebieden dan grote hoeveelheden water. Raadpleeg een arts.
- Raadpleeg de lokale of nationale wet- en regelgeving voor het verwerken van potentieel giftige componenten.
- Minimaliseer de kans op microbiële contaminatie van reagentia. Als u dat niet doet, kan er een toename van niet-specifieke kleuring optreden.
- Andere incubatietijden of temperaturen voor enzymatische digestie dan die vermeld, kunnen onjuiste resultaten opleveren. Alle dergelijke eventuele veranderingen moeten door de gebruiker worden gevalideerd.

Gebruiksaanwijzing

De DNA Positive Control Probe is ontwikkeld voor gebruik met 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 Positive Control Probe is ISH Protocol B. Enzymatische voorbehandeling met de BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1, gedurende 15 minuten.

Er moeten altijd passende weefsel- en reagenscontroles worden gebruikt. 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 leiden tot belangrijke verschillen in de resultaten, zodat regelmatig interne controles moeten worden uitgevoerd bovenop de te volgen procedures.

Positieve weefselcontrole

Gebruikt om te bevestigen dat weefsels correct zijn geprepareerd en dat de juiste kleuringstechnieken zijn gebruikt. Voor elke set testcondities in elke kleuringscyclus moet één positieve weefselcontrole worden opgenomen. Weefsels met zwakke positieve kleuring zijn geschikter dan weefsels met sterke positieve kleuring voor optimale kwaliteitscontrole en om een eventuele kleine mate van reagensdegradatie te detecteren.

Negatieve weefselcontrole

Deze moet na de positieve weefselcontrole worden bekeken om de specificiteit van de labeling van de probe aan de te labelen sequentie te verifiëren. Als alternatief zijn dankzij de verscheidenheid aan celtypen die in de meeste weefselpreparaten aanwezig zijn, vaak negatieve controlelocaties in het preparaat aanwezig, maar dit moet door de gebruiker worden geverifieerd.

Negatieve controle-reagens

Gebruik de DNA Negative Control PB0731 in plaats van de DNA-testprobe met een preparaat van elk patiëntenmonster om niet-specifieke kleuring te evalueren en om betere interpretatie van specifieke kleuring op het doelweefsel mogelijk te maken.

Positieve controle-reagens

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

Patiëntenweefsel

Onderzoek de patiëntenmonsters gekleurd met de DNA-testprobe als laatste. Positieve aankleuringsintensiteit moet worden geëvalueerd binnen de context van eventuele niet-specifieke achtergrondkleuring met de DNA Negative Control Probe PB0731.

Verwachte Resultaten

Normale weefsels

Waar meetbaar detecteerde PB0682 DNA in een groot aantal uiteenlopende weefsels. (Totaal aantal beoordeelde normale gevallen = 118).

Tumorweefsels

PB0682 detecteerde DNA in 4/4 longtumoren, 4/4 ovariumtumoren, 3/3 schildklier tumoren, 2/2 slokdarmtumoren, 2/2 borsttumoren, 2/2 maagtumoren, 2/2 wakedelentumoren, 2/2 tongtumoren, 2/2 gemetastaseerde tumoren van onbekende oorsprong, 2/2 lever tumoren, 2/2 niertumoren, 2/2 baarmoederhalstumoren, 2/2 testistumoren, 2/2 colontumoren, 2/2 rectumtumoren, 2/2 huidtumoren, 1/1 tumor van de larynx, 1/1 tumor van de thymus en 1/1 hersentumor. (Totaal aantal beoordeelde afwijkende gevallen = 40).

PB0682 wordt aanbevolen als een opsporingsmethode om het behoud van DNA in cellen te detecteren.

Productspecifieke beperkingen

De DNA Positive Control Probe is door Leica Biosystems geoptimaliseerd voor gebruik met Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection en BOND hulpmiddelreagentia bij met formaleïne gefixeerd, in paraffine ingebed cervixweefsel. Gebruikers die van de aanbevolen testprocedures afwijken, zijn zelf verantwoordelijk voor de interpretatie van de patiëntresultaten onder die 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 controles voor de reagentia moeten worden gebruikt bij het optimaliseren van voorbehandelingscondities en protocoltijden.

Probleemoplossing

Referentie 6 kan helpen bij het verhelpen van problemen.

Te onderzoeken monsters moeten worden aangevuld met passende weefsel- en reagenscontroles.

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

Verdere informatie

Verdere informatie over *in situ* hybridisatie met BOND-reagentia, onder de titels Principe van de procedure, Vereiste materialen, Voorbereiding van monsters, Kwaliteitscontrole, Assayverificatie, Interpretatie van aankleuring, Verklaring van symbolen op etiketten, en Algemene beperkingen, kunt u vinden in "Gebruik van BOND-reagentia" in uw gebruiksdokumentatie van BOND.

Bibliografie

1. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. *Nat Rev Genet.* 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? *Nucleic Acids Res.* 26 pp.4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Publicatiedatum

24 september 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Katalognummer: PB0682

Tiltenkt bruk

Denne reagenten er for *in vitro* diagnostisk bruk.

DNA positiv kontrollsonde er tiltenkt for bruk som en positiv kontroll i formalin-fiksert, parafininnebygdvev ved DNA *in situ* hybridisering (ISH) ved hjelp av automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet). Den kliniske tolkningen av eventuelle flekker eller dens fravær bør suppleres med morfologiske studier og forsvarlig kontroll og bør vurderes i sammenheng med pasientens kliniske historie og andre diagnostiske tester av en kvalifisert patolog.

Sammendrag og forklaring

DNA Positive Control Probe er en DNA -sonde laget spesielt for å hybridisere til de genomiske ALU repeterte sekvenser, som representerer omtrent 10 % av det menneskelige genome¹. ALU-repetisjoner er en del av de korte ispedd elementer superfamilie. Selv om deres funksjon er uklar, er de kjent for å være ansvarlig for genomisk innføringsmutagenese via retrotransposisjon og er forbundet med menneskelig sykdom^{2,3}. DNA Positive Control Probe genereres med en biotin-merket etikett ved hjelp av de samme fremgangsmåter som anvendt for den BOND HPV Probes.

DNA ISH bruker DNA Positive Control Probe og blir anvendt som en kontroll, ved påvisning av menneskelig ALU repeterte sekvenser i formalinfiksert, parafininntøpte vev. Fremgangsmåten er reproducerbar og bør resultere i intens brun nukleær farging av humane celler.

Reagens som følger med

DNA Positive Control Probe er en DNA-sonde levert i hybridiseringsoppløsning.

Samlet volum = 6,25 ml

Oppløsning og blanding

DNA Positive Control Probe er klar til bruk. Rekonstituering, blanding, fortykning eller titrering av denne reagens 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* hybridisering flekker ved hjelp av BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Oppbevaring og stabilitet

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

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

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

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

Forholdsregler

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

DNA POSITIVE CONTROL PROBE

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 eller alternativt, besøk Leica Biosystems Nettside, www.LeicaBiosystems.com
- Prøver, før og etter fiksering, og alle materialer som er utsatt for dem, skal behandles som om de kan overføre smitte og avhendes med riktige forholdsregler⁴. Pipetter aldri reagenser via munnen og unngå kontakt med hud og slimhinner med reagenser eller prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med sensitive områder, vask med store mengder vann. Oppsøk medisinsk tilsyn.
- Søk råd hos føderale, statlige eller lokale forskrifter for avhending av alle potensielt giftige komponenter.
- Reduser mikrobiell forurensning av reagensene, eller en økning av ikke- spesifikk farging kan forekomme.
- Inkubasjonstiden for enzym inntak eller temperaturer andre enn de som er spesifisert kan gi feilaktige resultater. Enhver slik endring skal godkjennes av brukeren.

Bruksanvisninger

DNA Positive Control Probe ble utviklet for bruk på automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) i kombinasjon med Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution and BOND Polymer Refine Detection. Den

anbefalte fargeprotokollen for DNA Positive Control Probe er ISH Protocol B. Enzyme forbehandling er anbefales ved bruk av å bruke BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1, i 15 minutter. Passende vev- og reagenskontroller skal alltid brukes. Protokollen for vev- og reagenskontroller skal tilsvare DNA testsonden.

Kvalitetskontroll

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

Positiv vevskontroll

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

Negativ vevskontroll

Skal undersøkes etter den positive vev kontroll for å kontrollere spesifisiteten av merking av sonden til målet. Alternativt kan mengden av ulike celletyper tilstede i de fleste vevseksjoner ofte tilbyr negative kontrollområder, men dette må testes og bekrefte av bruker.

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 skal bli vurdert i sammenheng med hvilken som helst ikke-spesifikk bakgrunnsfarging av DNA Negative Control Probe PB0731.

Forventede resultater

Normalt vev

Hvor målbar, oppdaget PB0682 DNA i et vidt spekter av vev. (Totalt antall evaluerte normale tilfeller = 118).

Tumorvev

PB0682 oppdaget DNA i 4/4 lungesvulster, 4/4 ovarietumorer, 3/3 skjoldbruskkjertelsvulster, 2/2 spiserørsvulster, 2/2 brystsvulster, 2/2 magesvulster, 2/2 bløtvevsvulster, 2/2 tungesvulster, 2/2 metastatiske svulster av ukjent opprinnelse, 2/2 leversvulster, 2/2 nyresvulster, 2/2 svulster i livmorhalsen, 2/2 testikkelsvulster, 2/2 tykktarmskreft, 2/2 endetarmssvulster, 2/2 hudkreft, 1/1 strupehodesvulst 1/1 thymustumor og 1/1 hjernesvulst. (Totalt antall evaluerte unormale tilfeller = 40).

PB0682 er anbefalt som et redskap for screening for å oppdage konservering av DNA i celler.

Produktspesifikke begrensninger

DNA Positive Control Probe 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, parafininnbygd cervicalt vev. Brukere som avviker fra anbefalte testprosedyrer må ta ansvar for tolkning av pasient resultater under disse omstendighetene. Protokollen kan variere fra tid til annen, på grunn av variasjon i vevtype, 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 protokoll flere ganger.

Feilsøking

Referanse 6 kan hjelpe i forbedringstiltak.

Testprøver skal utfylles av faktiske vev- og reagenskontroller.

Kontakt din lokale forhandler eller regionale kontor for Leica Biosystems for rapportering av uvanlige flekker.

Videre informasjon

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

Bibliografi

1. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. Nat Rev Genet. 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? Nucleic Acids Res. 26 pp.4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Utgivelsesdato

24 september 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Katalog No: PB0682

Kullanım Amacı

Bu reaktif, *in vitro* tanı kullanımı içindir.

DNA Positive Control Probe otomatik BOND sistemi (Leica BOND-MAX sistemini ve Leica BOND-III sistemini de içermektedir) kullanılarak DNA *in situ* hibridizasyon (ISH) yoluyla formalinde fikse edilmiş parafine gömülü dokuda bir pozitif kontrol olarak kullanılmak için tasarlanmıştır. Boyamaların veya bulunmamasının klinik yorumu morfolojik gelişmeler ve uygun kontrollerle tamamlanmalı ve uzman bir patolog tarafından hastanın klinik öyküsü ve diğer tanı testleri bağlamında değerlendirilmelidir.

Özet ve Açıklama

DNA Positive Control Probe insan geninin yaklaşık %10'unu temsil eden genomik ALU tekrar dizilişini spesifik olarak hibritlemek için tasarlanmış bir DNA probudur¹. ALU tekrarları kısa araya serpiştirilmiş elemanlar süper familyasının bir parçasıdır. Fonksiyonları net olmasa da, retrotranspozisyon yoluyla genomik insersiyonel mutajenden sorumlu ve insan hastalıkları ile ilişkili oldukları bilinmektedir^{2,3}. DNA Positive Control Probe, BOND HPV Probes için geçerli olan prosedürle aynı prosedürler kullanılarak bir biotin etiketi ile üretilir.

DNA Positive Control Probe'un kullanıldığı DNA ISH formalinde fikse edilmiş parafine gömülü dokudaki ALI tekrar dizilişlerinin saptanması yoluyla bir kontrol olarak kullanılır. Yöntem tekrarlanabilir ve birçok insan çekerindeki hücrelerinde kahverengi çekirdek boyaması ile sonuçlanmalıdır.

Sağlanan Reaktifler

DNA Positive Control Probe, hibridizasyon çözümü içinde bir DNA probudur

Toplam hacim = 6,25 mL

Seyreltme ve Karıştırma

DNA Positive Control Probe kullanıma hazırdır. Bu reaktifin sulandırılması, karıştırılması, seyreltilmesi veya titre edilmesi gerekmez.

Gerekli Olan Fakat Sağlanmamış Malzemeler

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

Saklama ve Stabilite

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

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

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

Yukarıda belirtilenler dışındaki saklama koşulları kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır⁴.

Önlemler

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

**DNA POSITIVE
CONTROL PROBE**
Formamid İçeriyor (<70%).
GHS08: Sağlık tehlikesi.
İsaret kelimesi: Tehlike.

H360D: Anne karnında çocuğa zarar verebilir.

P201: Kullanmadan önce özel talimatları alınız.
P202: Kullanmadan önce tüm güvenlik talimatlarını okuyunuz ve anlayınız.
P260: Toz/dumanı/gaz/sis/buhar/aerosol solumayınız.
P280: koruyucu eldiven/koruyucu elbise/göz koruyucu/ yüz siperi kullanınız.
P308+313: Maruziyet veya etkilene 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 edilmelidir⁵. Reaktifleri hiçbir zaman ağzınızla pipetlemeyin ve reaktiflerin veya numunelerin cilt ve muköz membranlarla temasından kaçınınız. Reaktiflerin veya numunelerin hassas bölgelerle temas etmesi halinde, bol su ile yıkayınız. 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.
- Belirtilenler dışındaki enzim sindirimi inkübasyon süreleri veya sıcaklıklar hatalı sonuçlara neden olabilir. Bu gibi değişiklikler kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Kullanım Talimatları

DNA Positive Control Probe Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution ve 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 Positive Control Probe için önerilen boyama protokolü ISH Protocol B'dir. BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 kullanılarak 15 dakika boyunca enzim ön işlemi tavsiye edilir. 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 Probe 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 göstermediği 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 şu probun spesifik olmayan arka plan boyamaya bağlamında değerlendirilmelidir: DNA Negative Control Probe PB0731.

Öngörülen Sonuçlar

Normal Dokular

Ölçülebilir olduğunda, PB0682 çok sayıda dokuda DNA'yı saptamıştır. (Değerlendirilen toplam normal vaka sayısı = 118).

Tümörlü Dokular

PB0682 4/4 akciğer tümörleri, 4/4 overyen tümörleri, 3/3 tiroid tümörleri, 2/2 özofagus tümörleri, 2/2 göğüs tümörleri, 2/2 mide tümörleri, 2/2 yumuşak doku tümörleri, 2/2 dil tümörleri, 2/2 bilinmeyen nedenlerle meydana gelen metastatik tümörler, 2/2 karaciğer tümörleri, 2/2 böbrek tümörleri, 2/2 servikal tümörler, 2/2 testiküler tümörler, 2/2 kolon tümörleri, 2/2 rektal tümörler, 2/2 cilt tümörleri, 1/1 larinks tümörü ve 1/1 beyin tümöründeki DNA'yı saptamıştır. (Değerlendirilen toplam normal olmayan vaka sayısı = 40).

PB0682 hücrelerde DNA korunmasını saptamak için bir tarama aracı olarak tavsiye edilir.

Ürüne Özgü Sınırlamalar

DNA Positive Control Probe 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 sonuçların yorumlanması ile ilgili sorumluluğu üstlenmelidir. Protokol süreleri doku tipi, fiksasyonundaki ve işlemesi nedeniyle farklılık gösterebilir. Ayrıca, BOND Enzim konsantrasyonu ve inkübasyon süresi doku tipine, işleme ve fiksasyon koşullarına bağlı olarak optimizasyon gerektirebilir. Ön işlem koşulları ve protokol süreleri optimize edilirken negatif reaktif kontrolleri kullanılmalıdır.

Sorun Giderme

Referans 6 sorunların giderilmesinde faydalı olabilir.

Test numuneleri uygun doku ve reaktif kontrolleri ile tamamlanmalıdır.

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

Daha Fazla Bilgi

BOND reaktifleri *in situ* hibridizasyon hakkında daha fazla bilgi BOND kullanıcı dokümantasyonundaki "BOND Reaktiflerinin Kullanımı" altındaki 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. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. Nat Rev Genet. 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? Nucleic Acids Res. 26 pp.4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Düzenlenme Tarihi

24 Eylül 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Каталожен №: PB0682

Предназначение

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

Продуктът DNA Positive Control Probe е предназначен за използване като позитивна контрола във фиксирана с формалин, вградена в парафин тъкан чрез *in situ* хибридизация (ISH) на ДНК 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 Positive Control Probe е проба от ДНК, предназначена за специфична хибридизация на геномни повтарящи се секвенции на ALU, които представляват приблизително 10% от човешкия геном¹. Повторенията на ALU са части от суперсемејството на късите разпръснати елементи. Въпреки че функцията им е неясна, се знае, че те са отговорни за геномната инсерционна мутагенеза чрез ретроинсерция и са свързани със заболяване при хората^{2,3}. DNA Positive Control Probe се генерира безлязан с биотин, като се използват същите процедури, които се прилагат при пробите BOND HPV Probe.

ДНК ISH чрез DNA Positive Control Probe се използва за контрола чрез откриване на човешки повтарящи се секвенции на ALU във фиксирана с формалин, вградена в парафин тъкан. Методът е възпроизводим, а очакваният резултат е кафяво оцветяване на ядрата на повечето човешки клетки с ядро.

Предоставени реагенти

DNA Positive Control Probe е ДНК проба, доставена в разтвор за хибридизация.

Общ обем = 6,25 mL

Разреждане и смесване

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

Необходими, но непредоставени материали

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

Съхранение и стабилност

Съхранявайте при температура 2 – 8 °C. Продуктът е стабилен при тези условия до изтичане на срока на годност, указан на етикета 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 потребителя⁴.

Предпазни мерки

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

DNA POSITIVE CONTROL PROBE

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+P313: 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, се свържете с Вашия местен дистрибутор или регионален офис на Leica Biosystems, или посетете уеб сайта на Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com.
- Спесимените преди и след фиксация, както и всички материали, изложени на тяхното влияние, трябва да бъдат третирани като способни да предадат инфекция и да бъдат изхвърлени, прилагайки съответните предпазни мерки. Никога не пипетирайте 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.
- Ензимна асимилация, инкубационни 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 Positive Control Probe 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 Positive Control Probe 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.

За да се извлекат оптимални характеристики от DNA Positive Control Probe, тъканните спесимени трябва да се поставят на най-малко 5 mm от замразения край на предметното стъкло и 9 mm от незамразения му край.

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

Използвайте се, за да се покажат правилно приготвени тъкани и правилни техники на оцветяване. Една позитивна тъканна контрола трябва да бъде включена за всеки сет с тестови условия при всяка серия проби за оцветяване. Тъкан със слабо позитивно оцветяване е по-подходяща от тъкан със силно позитивно оцветяване за оптимален качествен контрол и за откриване на по-малки нива на деградация на 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 тъканни 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 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 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 Probe PB0731.

Очаквани резултати

Нормални тъкани

Където подлежи на измерване PB0682 открива ДНК в широк диапазон от тъкани. (Общ брой на оценените нормални случаи = 118).

Абнормни тъкани

PB0682 открива ДНК в 4/4 белодробни тумори, 4/4 тумори на яйчниците, 3/3 тумори на щитовидната жлеза, 2/2 тумори на хранопровода, 2/2 тумори на гърдата, 2/2 тумори на стомаха, 2/2 тумори на меките тъкани, 2/2 тумори на езика, 2/2 метастатични тумори от неизвестен произход, 2/2 тумори на черния дроб, 2/2 тумори на бъбреците, 2/2 тумори на цервикса, 2/2 тумори на тестисите, 2/2 тумори на ободното черво, 2/2 тумори на дебелото черво, 2/2 тумори на кожата, 1/1 тумор на ларинкса 1/1 тумор на тимуса и 1/1 тумор на мозъка. (Общ брой на оценените абнормни случаи = 40).

PB0682 се препоръчва като инструмент за скрининг за откриване на запазването на ДНК в клетките.

Специфични ограничения на продукта

Продуктът DNA Positive Control Probe е оптимизиран от Leica Biosystems за употреба с Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection и спомагателни 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 6 може да подпомогне при коригиращи действия.

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

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

Допълнителна информация

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

Библиография

1. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. Nat Rev Genet. 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? Nucleic Acids Res. 26 pp.4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Дата на издаване

24 Септември 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Katalógusszám: PB0682

Alkalmazási terület

Ez a reagens *in vitro* diagnosztikai használatra szolgál.

A DNA Positive Control Probe formalinban fixált, paraffinba ágyazott szövet DNS *in situ* hibridizációja (ISH) során pozitív kontrollként szolgál automata BOND rendszeren (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel).

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 Positive Control Probe egy DNS-próba, amit úgy hoztak létre, hogy specifikusan hibridizáljon a genom ALU ismétlődő szekvenciáival, amelyek a humán genom körülbelül 10%-át teszik ki¹. Az ALU ismétlődések a rövid közbeiktatott elemek szupercsaládjába tartoznak. Noha szerepük nem tisztázott, ismert tény, hogy felelősek a genomi inszerciós mutagenézisért retrotranszpozíció révén, és humán betegségekkel állnak összefüggésben^{2,3}. A DNA Positive Control Probe biotin jelöléssel készült azonos módszereket alkalmazva, mint a BOND HPV Probe próbák.

A DNA Positive Control Probe próbát alkalmazó DNS ISH a humán ALU ismétlődő szekvenciák kimutatása révén kontrollként használatos formalinban fixált, paraffinba ágyazott szövetnél. A módszer reprodukálható, és barna magfestődést eredményez a legtöbb, sejtmagot tartalmazó humán sejtből.

Biztosított reagens

A DNA Positive Control Probe egy hibridizáló oldatban található DNS-próba.

Teljes mennyiség = 6,25 ml

Hígítás és elegyítés

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

Szükséges, de nem biztosított anyagok

A minta kezeléséhez és a BOND rendszerrel (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel) végzett *in situ* hibridizációs festéshez szükséges anyagok teljes listáját lásd a BOND felhasználói dokumentáció „BOND reagens használat” 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 kell⁴.

Óvintézkedések

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

DNA POSITIVE CONTROL PROBE

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 fertőzések terjesztésére képes anyagként kell kezelni, és megfelelő körültekintéssel kell ártalmatlanítani⁵. Soha ne pipettázza szájával a reagensket, továbbá kerülje a bőr és a nyálkahártyák érintkezését a reagenssekkel 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.
- Minimálisan kell csökkenteni a reagens mikrobiális szennyeződését, különben megnövekedhet a nem specifikus festődés.
- A megadottaktól eltérő enzimes emésztési inkubációs idő és hőmérsékletet hibás eredményekhez vezethetnek. A felhasználónak minden ilyen jellegű változtatást validálnia kell.

Használati útmutató

A DNA Positive Control Probe 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 Positive Control Probe próbához javasolt festési protokoll az ISH Protocol B. Az enzimes előkezeléshez a BOND Enzyme Pretreatment Kit, Enzyme 1 oldat 15 percig tartó alkalmazása javasolt. Mindig kell megfelelő szövet- és reagenskontrollokat alkalmazni. A szövet- és reagenskontrollokhoz alkalmazott protokollnak meg kell egyeznie a DNS vizsgálati próba protokolljával.

A DNA Positive Control Probe optimális teljesítményéhez a szövetmintákat a tárgylemez mattírozott végétől legalább 5 mm-re és a nem mattírozott végétől legalább 9 mm-re kell elhelyezni.

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 specificitását ellenőrizni lehessen. Ezenkívül a legtöbb szövetmetszetben jelen lévő különböző sejttípusok gyakran használhatók negatív kontrollként, de ezeket a felhasználónak kell ellenőriznie.

Negatív reagenskontroll

A nem specifikus festődés kiértékeléséhez és a célsejtekben létrejövő specifikus festődés jobb értelmezéséhez 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 készítményt minden betegminta esetén egy metszetenél. Ha a DNA Positive Control Probe 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 Probe PB0731 esetleges nem specifikus háttérfestődésének viszonylatában értékelje.

Várható eredmények

Normál szövetek

Ahol mérhető, a PB0682 szövetek széles körében kimutatta a DNS-t. (Vizsgált normál esetek összesített száma = 118).

Kóros szövetek

A PB0682 kimutatta a DNS-t 4/4 tüdődaganat, 4/4 petefészek-daganat, 3/3 pajzsmirigy-daganat, 2/2 nyelődcső-daganat, 2/2 emlődaganat, 2/2 gyomordaganat, 2/2 lágyszövet-daganat, 2/2 nyelvdaganat, 2/2 ismeretlen eredetű áttétes daganat, 2/2 májdaganat, 2/2 vesedaganat, 2/2 méhnyak-daganat, 2/2 heredaganat, 2/2 vastagbél-daganat, 2/2 végbél-daganat, 2/2 bórdaganat, 1/1 gégedaganat 1/1 csecsemőmirigy-daganat és 1/1 agydaganat esetén. (Vizsgált kóros esetek összesített száma = 40).

A PB0682 a sejtek DNS-tartalmának próba általi hozzáférhetőségét szűrő eszközként használatos.

Termékspecifikus korlátozások

A DNA Positive Control Probe próbát a Leica Biosystems az Anti-Biotin Antibody antitesttel, a Stringency Wash Solution mosófolyadékkal, a BOND Polymer Refine Detection kittel és a BOND segédreagenssel 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 6. számú hivatkozás segíthet a javító intézkedéseket illetően.

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

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

További információk

A BOND reagenssokkal végzett *in situ* hibridizációra vonatkozó további információkat a BOND felhasználói dokumentáció „BOND reagenssok 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. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. *Nat Rev Genet.* 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? *Nucleic Acids Res.* 26 pp.4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Kiadás dátuma

24 szeptember 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Nr. catalog: PB0682

Utilizare prevăzută

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

DNA Positive Control Probe este prevăzută pentru utilizare drept control pozitiv în țesut fixat cu formalină și încorporat în parafină, prin hibridizare *in situ* (ISH) de ADN utilizând sistemul automatizat BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III).

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

Rezumat și explicație

DNA Positive Control Probe este o probă de ADN concepută pentru a hibridiza în mod specific secvențele repetate ALU genomice, care reprezintă aproximativ 10% din genomul uman¹. Repetările ALU fac parte din superfamilia de elemente scurte intercalate. Deși funcția lor este neclară, se cunoaște că sunt responsabile pentru mutagenza inserțională genomică prin retrotranspoziție și sunt asociate cu boli umane^{2,3}. DNA Positive Control Probe este generată cu o etichetă de biotină utilizând aceleași proceduri care sunt aplicate la BOND HPV Probes.

ISH de ADN utilizând DNA Positive Control Probe este utilizat drept control; prin detectarea secvențelor repetate ALU umane în țesut fixat în formalină, încorporat în parafină. Metoda este reproductibilă și ar trebui să ducă la o colorație nucleară cafenie a celor mai multe celule umane nucleate.

Reactivi furnizați

DNA Positive Control Probe este o probă de ADN furnizată în soluție de hibridizare.

Volum total = 6,25 ml.

Diluare și amestecare

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

Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate

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

Depozitare și stabilitate

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

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

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

Alte condiții de depozitare decât cele specificate mai sus trebuie verificate de către utilizator⁴.

Precauții

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

DNA POSITIVE CONTROL PROBE

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 adecvate⁵. 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.

- Timpul de incubație la digestia enzimatică sau temperaturile care diferă de valorile specificate pot genera rezultate eronate. Orice astfel de modificare trebuie validată de către utilizator.

Instrucțiuni de utilizare

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

Pentru a obține performanță optimă de la DNA Positive Control Probe, speciunile de țesut trebuie amplasate la cel puțin 5 mm de capătul mat al lamei slide și 9 mm de capătul nemat al lamei.

Controlul calității

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

Țesutul de control pozitiv

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

Acolo unde este măsurabil, PB0682 a detectat ADN într-o largă varietate de țesuturi. (Numărul total al cazurilor normale evaluate = 118).

Țesuturi anormale

PB0682 a detectat ADN în 4/4 tumori pulmonare, 4/4 tumori ovariene, 3/3 tumori tiroidiene, 2/2 tumori esofagiene, 2/2 tumori mamare, 2/2 tumori gastrice, 2/2 tumori ale țesuturilor moi, 2/2 tumori ale limbii, 2/2 tumori metastatice de origine necunoscută, 2/2 tumori hepatice, 2/2 tumori renale, 2/2 tumori de col uterin, 2/2 tumori testiculare, 2/2 tumori de colon, 2/2 tumori rectale, 2/2 tumori ale pielii, 1/1 tumoare a laringelui 1/1 tumoare a timusului și 1/1 tumoare cerebrală. (Numărul total al cazurilor anormale evaluate = 40).

PB0682 este recomandată ca instrument de screening pentru a detecta conservarea ADN-ului în celule.

Restricții specifice produsului

DNA Positive Control Probe a fost optimizată de 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. Timpul protocolului pot varia din cauza variațiilor tipului de țesut, fixării și procesării. În plus, concentrația Enzimei BOND 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 timpul protocolului, trebuie să fie utilizați reactivii de control negativi.

Rezolvarea problemelor

Referința 6 poate ajuta la acțiunile de remediere.

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

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

Informații suplimentare

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

Bibliografie

1. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. *Nat Rev Genet.* 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? *Nucleic Acids Res.* 26 pp.4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Data publicării

24 septembrie 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Номер по каталогу: PB0682

Назначение

Этот реактив предназначен для диагностики *in vitro*.

Зонд DNA Positive Control Probe предназначен для использования в качестве положительного контроля в фиксированных формалином и залитых в парафин образцах тканей путем гибридизации ДНК *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 Positive Control Probe представляет собой зонд ДНК, предназначенный для специфической гибридизации геномных последовательностей ALU-повторов, которые представляют примерно 10 % генома человека¹. ALU-повторы являются частью суперсемейства коротких последовательностей, рассеянных по геному. Несмотря на то что их функция не ясна, известно, что они отвечают за геномный инсерционный мутагенез посредством РНК-зависимой транспозиции и связаны с заболеваниями человека^{2,3}. Зонд DNA Positive Control Probe генерируется с биотиновой меткой посредством таких же процедур, какие применяются к зондам BOND HPV.

Гибридизация ДНК *in situ* с помощью зонда DNA Positive Control Probe используется в качестве контроля при обнаружении последовательностей ALU-повторов человека в фиксированных формалином и залитых в парафин образцах тканей. Данный метод является воспроизводимым и должен приводить к коричневому ядерному окрашиванию большинства ядерных клеток человека.

Реактивы, входящие в комплект поставки

DNA Positive Control Probe представляет собой ДНК-зонд, поставляемый в растворе для гибридизации.

Общий объем = 6,25 мл

Разведение и смешивание

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

Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

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

Хранение и стабильность

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

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

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

Условия хранения, отличающиеся от указанных выше, должны быть верифицированы пользователем⁴.

Меры предосторожности

- Этот продукт предназначен для диагностики *in vitro*.

DNA POSITIVE CONTROL PROBE

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+P313: 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. В качестве альтернативы 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 предосторожности⁵. 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.
- Продолжительность или температура инкубации, предполагающие ферментативное расщепление, отличные от указанных параметров, могут привести к ошибочным результатам. Любые подобные изменения должны быть валидированы пользователем.

Инструкция по применению

Зонд DNA Positive Control Probe 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. Рекомендуемым протоколом иммуногистохимического окрашивания для DNA Positive Control Probe 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.

Для обеспечения максимальной эффективности зонда DNA Positive Control Probe образцы ткани необходимо поместить на расстоянии минимум 5 мм от матированного края и 9 мм от нематированного края предметного стекла.

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 DNA Positive Control Probe PB0682 (ДНК PB0682, которая служит в качестве положительного контроля). Если DNA Positive Control Probe (ДНК-зонд, использующийся в качестве положительного контроля), демонстрирует неудовлетворительные результаты с точки зрения положительного окрашивания, результаты исследования образцов следует считать недостоверными.

Ткань, полученная у пациента

Исследуйте образцы ткани, взятой у пациента и окрашенной с использованием ДНК-зонда, предназначенного для испытаний, в последнюю очередь. Интенсивность положительного окрашивания следует оценивать с учетом любого неспецифического фонового окрашивания зонда DNA Negative Control PB0731.

Ожидаемые результаты

Нормальные ткани

PB0682 обнаружил ДНК в широком диапазоне тканей, подававшихся измерению. (Общее число исследованных нормальных тканей = 118).

Патологически измененные ткани

PB0682 обнаружил ДНК в 4/4 случаях опухоли легкого, 4/4 случаев опухоли яичников, 3/3 случаев опухоли щитовидной железы, 2/2 случаев опухоли пищевода, 2/2 случаев опухоли молочной железы, 2/2 случаев опухоли желудка, 2/2 случаев опухоли мягких тканей, 2/2 случаев опухоли языка, 2/2 случаев метастатической опухоли неизвестного происхождения, 2/2 случаев опухоли

печени, 2/2 случаев опухоли почек, 2/2 случаев опухоли шейки матки, 2/2 случаев опухоли яичек, 2/2 случаев опухоли толстого кишечника, 2/2 случаев опухоли прямой кишки, 2/2 случаев опухоли кожи, 1/1 случая опухоли гортани, 1/1 случая опухоли вилочковой железы и 1/1 случая опухоли мозга. (Общее число исследованных патологически измененных образцов = 40).

PB0682 рекомендован в качестве скринингового инструмента для обнаружения сохранности ДНК в клетках.

Ограничения, специфичные для этого продукта

Зонд DNA Positive Control Probe 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 (6) может помочь в принятии мер по устранению неполадок.

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

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

Дополнительная информация

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

Список литературы

1. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. Nat Rev Genet. 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? Nucleic Acids Res. 26 pp.4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Дата выпуска

24 Сентябрь 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Nr katalogowy: PB0682

Przeznaczenie

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

Preparat DNA Positive Control Probe jest przeznaczony do stosowania jako kontrola pozytywna utrwalonej w formalinie i zatopionej w parafinie tkanki podczas hybrydyzacji DNA *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. Oceny powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

Podsumowanie i objaśnienie

DNA Positive Control Probe to sonda DNA przeznaczona do specyficznej hybrydyzacji do genomowych sekwencji powtórzeń ALU, które stanowią około 10% ludzkiego genomu¹. Powtórzenia ALU są częścią nadrodziny krótkich fragmentów rozrzuconych. Choć ich funkcja nie jest do końca znana, wiadomo, że powodują genomową mutagenezę elementów insercyjnych poprzez retrotranspozycję i są związane z chorobą ludzką^{2,3}. Sonda DNA Positive Control Probe generuje się za pomocą znakowania biotyny, stosując takie same procedury, jak w przypadku sond BOND HPV.

Metoda DNA ISH korzystająca z DNA Positive Control Probe służy do wykrywania ludzkich sekwencji powtórzeń ALU w utrwalonej w formalinie tkance zatopionej w parafinie. Metoda jest powtarzalna i jej efektem powinno być brązowe barwienie jądrowe większości ludzkich komórek jądrowych.

Odczynniki znajdujące się w zestawie

Preparat DNA Positive Control Probe to sonda DNA dostarczana w roztworze do hybrydyzacji.

Łączna objętość = 6,25 ml

Rozcieńczanie i mieszanie.

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

Wymagane materiały niedołączone do zestawu

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

Przechowywanie i trwałość

Przechowywać w temperaturze 2-8°C. Produkt jest stabilny w tych warunkach 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 użytkownika⁴.

Środki ostrożności

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

DNA POSITIVE CONTROL PROBE

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 otrzymać 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.⁵ Podczas pobierania pipetą nie wolno zasysać odczynników ustami i należy unikać kontaktu odczynników i preparatów ze skórą oraz błonami śluzowymi. W razie kontaktu odczynników lub próbek ze szczególnie narażonymi miejscami przemyć miejsce kontaktu dużą ilością wody. Należy zasięgnąć porady lekarza.
- Wszelkie potencjalnie toksyczne składniki należy utylizować zgodnie z krajowymi lub lokalnymi przepisami.

- Należy chronić odczynniki przed skażeniem drobnoustrojami, ponieważ może ono doprowadzić do zwiększonego barwienia niespecyficznego.
- Zastosowanie czasów inkubacji trawienia enzymatycznego lub temperatur innych niż podano w instrukcji może spowodować błędne wyniki. Wszelkie zmiany tego typu muszą zostać zweryfikowane przez użytkownika.

Instrukcja stosowania

Preparat DNA Positive Control Probe 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 Positive Control Probe 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.

Aby uzyskać optymalny efekt DNA Positive Control Probe próbki tkanek należy umieścić w odległości co najmniej 5 mm od matowej końcówki preparatu i 9 mm od przezroczystej końcówki preparatu.

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 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 DNA należy oceniać w kontekście ewentualnego niespecyficznego barwienia tła przy pomocy DNA Negative Control Probe PB0731.

Oczekiwane wyniki

Tkanki prawidłowe

Tam, gdzie to mierzalne, PB0682 wykrył DNA w wielu tkankach. (Łączna liczba ocenionych prawidłowych przypadków = 118).

Tkanki patologiczne

PB0682 wykrył DNA w 4/4 guzach płuc, 4/4 guzach jajnika, 3/3 guzach tarczycy, 2/2 guzach przełyku, 2/2 guzach sutka, 2/2 guzach żołądka, 2/2 guzach tkanek miękkich, 2/2 rakach języka, 2/2 guzach przerzutowych nieznanego pochodzenia, 2/2 guzach wątroby, 2/2 guzach nerek, 2/2 rakach szyjki macicy, 2/2 guzach jąder, 2/2 guzach okrężnicy, 2/2 guzach odbytniczych, 2/2 rakach skóry, 1/1 guzie krtni 1/1 guzie grasicy i 1/1 guzie mózgu. (Łączna liczba ocenionych nieprawidłowych przypadków = 40).

Zaleca się stosowanie PB0682 jako narzędzia przesiewowego do wykrywania konserwacji DNA w komórkach.

Szczególne ograniczenia dla produktu

Preparat DNA Positive Control Probe 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 6 może być pomocny w podejmowaniu działań zaradczych.

Próbki testowe należy uzupełnić odpowiednimi kontrolami tkanek i odczynników.

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

Dodatkowe informacje

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

Bibliografia

1. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. *Nat Rev Genet.* 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? *Nucleic Acids Res.* 26 pp.4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Data publikacji

24 września 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Katalogška št.: PB0682

Predvidena uporaba

Ta reagent je namenjen diagnostični uporabi *in vitro*.

Izdelek DNA Positive Control Probe je namenjen uporabi za pozitivno kontrolo tkiva, fiksiranega s formalinom in vstavljenega v parafin, pri izvajanju hibridizacije *in situ* (ISH) 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 Positive Control Probe je sonda DNA, zasnovana za hibridizacijo ponavljajočih se genomskih zaporedij ALU, ki predstavljajo približno 10 % človeškega genoma¹. Ponovitve ALU so del naddružine kratkih razpršenih elementov. Čeprav njihova funkcija ni pojasnjena, je znano, da so prek retrotranspozicije odgovorni za genomsko insercijsko mutagenozo ter so povezani z boleznimi pri človeku^{2,3}. DNA Positive Control Probe je pripravljena z biotinsko oznako z uporabo enakega postopka kot pri sondah BOND HPV.

ISH DNA s sondo DNA Positive Control Probe se uporablja kot kontrola za zaznavanjem ponavljajočih se humanih zaporedij ALU v tkivu, fiksiranem s formalinom in vstavljenem v parafin. Ta metoda je ponovljiva in bi morala povzročiti rjavo barvanje jedra celic večine humanih celic z jedri.

Priloženi reagenti

Sonda DNA Positive Control Probe je sonda DNA, dobavljena v raztopini hibridizacije.

Skupna prostornina = 6,25 ml.

Redčenje in mešanje

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

Potrebni materiali, ki niso priloženi

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

Shranjevanje in stabilnost

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

Ni očitnih znakov, ki bi kazali na kontaminacijo in/ali nestabilnost. Primerno pozitivno in negativno kontrolno tkiva morate obdelati 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 navedenih⁴.

Previdnostni ukrepi

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

DNA POSITIVE CONTROL PROBE

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. Nikoli ne pipetirajte reagentov skozi usta; pazite, da reagenti in vzorci ne pridejo v stik s kožo ali sluznicami. Če reagenti ali vzorci pridejo v stik z občutljivimi deli, jih izperite z obilo vode. Poiščite zdravniško pomoč.
- Sledite zveznim, državnim ali lokalnim predpisom za odstranjevanje katerih koli morebitno strupenih sestavin.
- Pazite, da ne pride do mikrobné okužbe reagentov, drugače se lahko pojavi nespecifično obarvanje.
- Če uporabite čas ali temperature inkubacije encimskega razkroja, ki se razlikujejo od navedenih, lahko pridobite napačne rezultate. Uporabnik mora validirati morebitne spremembe.

Navodila za uporabo

Sonda DNA Positive Control Probe je bila razvita 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 sondo DNA Positive Control Probe je ISH Protocol B. Priporočeni način encimske 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.

Za optimalno delovanje sonde DNA Positive Control Probe je treba vzorce tkiv postaviti najmanj 5 mm od zamrznjenega konca preparata ter 9 mm od nezamrznjenega konca preparata.

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 kontrolni reagent 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 Probe PB0731.

Pričakovani rezultati

Normalna tkiva

Tam, kjer je to mogoče izmeriti, je PB0682 zaznal DNA v številnih različnih tkivih. (Skupno število ocenjenih normalnih primerov = 118).

Nenormalna tkiva

PB0682 je zaznal DNA v 4/4 pljučnih tumorjev, 4/4 tumorjev jajčnikov, 3/3 tumorjev ščitnice, 2/2 tumorjev požiralnika, 2/2 tumorjev dojke, 2/2 želodčnih tumorjev, 2/2 tumorjev mehkih tkiv, 2/2 tumorjev jezika, 2/2 metastatskih tumorjev neznanega izvora, 2/2 tumorjev jeter, 2/2 ledvičnih tumorjev, 2/2 tumorjev materničnega vratu, 2/2 tumorjev testisov, 2/2 tumorjev kolona, 2/2 rektalnih tumorjev, 2/2 kožnih tumorjev, 1/1 tumorja grla, 1/1 tumorja priželjca in 1/1 možganskega tumorja. (Skupno število ocenjenih anomalnih primerov = 40).

PB0682 se priporoča kot orodje presejanja za zaznavanje ohranjanja DNA v celicah.

Specifične omejitve izdelka

Sondo DNA Positive Control Probe 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.

Odravljanje težav

Referenca 6 lahko pomaga pri ukrepanju za odpravljanju napake.

Testne vzorce morajo spremljati ustrezne kontrole za tkiva in reagente.

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

Dodatne informacije

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

Literatura

1. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. *Nat Rev Genet.* 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? *Nucleic Acids Res.* 26 pp.4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Datum izdaje

24 september 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Kat. č.: PB0682

Zamýšlené použití

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

Sonda DNA Positive Control Probe je určena k použití jako pozitivní kontrola ve tkáni fixované formalínem a zalité v parafínu při provádění DNA hybridizace *in situ* (ISH) pomocí automatického systému BOND system (včetně systému Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system).

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

Souhrn a vysvětlení

Sonda DNA Positive Control Probe je DNA, která specificky hybridizuje s opakujícími se ALU sekvencemi v genomu, které představují přibližně 10 % lidského genomu¹. Opakující se ALU sekvence jsou členem nadrodiny krátkých rozptýlených elementů. Přestože je jejich funkce neznámá, již je známo, že se podílejí na genomické inserční mutagenезi prostřednictvím retrotranspozice a jsou spojeny s lidskými onemocněními^{2,3}. Sonda DNA Positive Control Probe je vyráběna s biotinovou značkou stejným postupem, jakým se vyrábí sondy BOND HPV Probe.

DNA ISH se sondou DNA Positive Control Probe slouží jako kontrola; detekuje opakující se ALU sekvence v lidském genomu v tkáních fixovaných formalínem a zalitých v parafínu. Tato metoda je reprodukovatelná a měla by vést k hnědému zbarvení jader většiny lidských jaderných buněk.

Dodávané reagenzie

Sonda DNA Positive Control Probe je DNA dodávaná v hybridizačním roztoku.

Celkový objem = 6,25 ml

Ředění a míchání

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

Potřebný materiál, který není součástí dodávky

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

Skladování a stabilita

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

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

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

Podmínky skladování jiné než výše uvedené musí uživatel⁴ validovat.

Bezpečnostní opatření

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

SONDA DNA POSITIVE CONTROL PROBE

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 nepřčetli 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: Necíťte-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 webovou stránku 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 opatření⁵. Nikdy reagenzie nepipetujte ústy a zabraňte kontaktu reagenzií a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagenzie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omýjte je velkým množstvím vody. Vyhleďte lékařskou pomoc.
- Údaje o likvidaci jakýchkoli potenciálně toxických komponent prostudujte ve federálních, státních nebo místních nařízeních.
- Minimalizujte mikrobiální kontaminaci reagenzií, mohlo by dojít ke zvýšení výskytu nespecifického barvení.
- Doby enzymatické digesce, inkubační doby nebo teploty jiné než specifikované mohou vést k chybným výsledkům. Všechny takové změny musí být uživatelem validovány.

Návod k použití

Sonda DNA Positive Control Probe 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. Protokol doporučeného barvení pro sondu DNA Positive Control Probe 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.

Pro optimální funkčnost sondy DNA Positive Control Probe je třeba umístit vzorek tkáně nejméně 5 mm od matného konce podložního sklíčka a 9 mm od nematného konce podložního sklíčka.

Kontrola jakosti

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

Pozitivní tkáňová kontrola

Používá se k průkazu správně připravených tkání a správných barvicích technik. V každém barvicím cyklu musí být použita jedna pozitivní tkáňová kontrola pro každý soubor testovacích podmínek. Pro optimální kontrolu jakosti a k detekci menšího stupně degradace reagenzie je vhodnější tkáň se slabým pozitivním barvením než tkáň se silným pozitivním barvením.

Negativní tkáňová kontrola

Musí být vyšetřena po pozitivní tkáňové kontrole k ověření specificity 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 vyšetřete 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 tkáň

Při měření detekovala sonda PB0682 DNA v mnoha různých tkáních. (Celkový počet normálních vyšetřovaných tkání = 118).

Abnormální tkáň

Sonda PB0682 detekovala DNA ve 4/4 vzorků nádoru plic, 4/4 vzorků nádoru ovarií, 3/3 vzorků nádoru štítné žlázy, 2/2 vzorků nádoru jícnu, 2/2 vzorků nádoru prsu, 2/2 vzorků nádoru žaludku, 2/2 vzorků nádoru měkkých tkání, 2/2 vzorků nádoru jazyka, 2/2 vzorků metastatických nádorů neznámého původu, 2/2 vzorků nádoru jater, 2/2 vzorků nádoru ledvin, 2/2 vzorků nádoru děložního hrdla, 2/2 vzorků testikulárních nádorů, 2/2 vzorků nádoru tlustého střeva, 2/2 vzorků rektálního nádoru, 2/2 vzorků nádoru kůže, 1/1 vzorku nádoru hrtanu, 1/1 vzorku nádoru thymu a 1/1 vzorku nádoru mozku. (Celkový počet vyšetřených abnormálních tkání = 40).

Sonda PB0682 se doporučuje jako nástroj screeningu ke zjištění stavu konzervace DNA v buňkách.

Omezení specifická pro tento produkt

Sonda DNA Positive Control Probe byla optimalizována společností Leica Biosystems pro použití se soupravou Anti-Biotin Antibody, Stringency Wash Solution, BOND Polymer Refine Detection a pomocnými reagenциemi BOND na cervikální tkáni fixované formalinem a zalité v parafinu. 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 reagenzie pro negativní kontrolu.

Řešení problémů

Odkaz 6 může napomoci při provádění nápravných opatření.

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

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

Další informace

Další informace o hybridizaci *in situ* reagenциemi 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 reagenциí BOND“.

Literatura

1. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. *Nat Rev Genet.* 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? *Nucleic Acids Res.* 26 pp.4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Datum vydání

24 září 2018

BOND™ Ready-To-Use ISH DNA Positive Control Probe

Katalógové č.: PB0682

Zamýšľané použitie

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

Sonda DNA Positive Control Probe je určená na použitie ako pozitívna kontrola v tkanive zaliatom v parafíne a fixovanom formalínom pri vykonávaní hybridizácie *in situ* (ISH) použitím automatizovaného systému BOND (vrátane systému Leica BOND-MAX a Leica BOND-III).

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

Zhrnutie a vysvetlenie

Sonda DNA Positive Control Probe je sonda DNA určená na špecifickú hybridizáciu sekvencií opakovaní ľudských ALU, ktoré predstavujú približne 10 % ľudského génomu¹. ALU opakovania sú súčasťou krátkych roztrúsených prvkov. Aj napriek tomu, že ich funkcia nie je jasná, je známe, že sú zodpovedné za genómové vsunutie mutagenézy prostredníctvom retrotranspozície a že sa spájajú s ľudskými ochoreniami^{2,3}. Sonda DNA Positive Control Probe je vygenerovaná s označením biotínu pomocou rovnakej procedúry aká sa používa pri sondách BOND HPV Probes.

Metóda DNA ISH vykonávaná pomocou sondy DNA Positive Control Probe sa používa ako kontrola; detekciu sekvencií opakovaní ľudských ALU v tkanivách fixovaných formalínom a zaliatom v parafíne v parafíne. Metóda je reprodukovateľná a mala by viesť k hneďmu nukleárnemu zafarbeniu väčšiny ľudských nukleálnych buniek.

Dodané činidlá

Sonda DNA Positive Control Probe je sonda DNA, ktorá sa dodáva v hybridizačnom roztoku

Celkový objem = 6,25 ml

Riedenie a miešanie

Sonda DNA Positive Control Probe je pripravená 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 používateľom⁴.

Bezpečnostné opatrenia

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

DNA POSITIVE CONTROL PROBE

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: Nevýdychujte 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 opatrení⁵. 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 nespecifického zafarbenia.

- Nedodržanie predpísaných inkubačných dôb alebo teplôt enzymatickej digescie môže viesť k nesprávnym výsledkom. Všetky takéto zmeny si vyžadujú validáciu používateľom.

Návod na použitie

Sonda DNA Positive Control Probe bola vytvorená 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. Odporúčany protokol farbenia pre sondu DNA Positive Control Probe 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 čínidlom. Protokol pre kontroly tkanivom a čínidlom musí zodpovedať protokolu pre testovaciu sondu DNA.

Tak chcete zo sondy DNA Positive Control Probe získať optimálne výsledky, vzorky tkaniva sa musia umiestniť minimálne 5 mm od priehľadného okraja sklíčka a 9 mm od nepriehľadného okraja sklíčka.

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 čínidla 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 čínidlom

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 čínidlom

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 pozadí.

Očakávané výsledky

Normálne tkanivá

Tam, kde bola merateľná, sonda PB0682 zdetegovala DNA vo veľkom rozsahu tkaniv. (Celkový počet normálnych vyšetrených prípadov = 118).

Abnormálne tkanivá

PB0682 zdetegovala DNA 4/4 nádorov pľúc, 4/4 nádorov vaječníkov, 3/3 nádorov štítnej žľazy, 2/2 nádorov pažeráka, 2/2 nádorov prsníka, 2/2 nádorov žalúdka, 2/2 nádorov mäkkých tkanív, 2/2 nádorov jazyka, 2/2 metastatických nádorov neznámeho pôvodu, 2/2 nádorov pečene, 2/2 nádorov obličiek, 2/2 nádorov krčka maternice, 2/2 nádorov semenníkov, 2/2 nádorov hrubého čreva, 2/2 nádorov konečníka, 2/2 nádorov kože, 1/1 nádoru hrtana, 1/1 nádoru detskej žľazy a 1/1 nádoru mozgu. (Celkový počet abnormálnych vyšetrených prípadov = 40).

PB0682 sa odporúča ako skríningový nástroj na detekciu zachovania DNA v bunkách.

Špecifické obmedzenia pre tento výrobok

Sonda DNA Positive Control Probe 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 čínidlami BOND v cervikálnom tkanive zaliatom v parafíne a fixovanom formalínom. Používatelia, ktorí sa odchýlia 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 čínidlá negatívnej kontroly.

Riešenie problémov

Pri náprave môže byť nápomocná referencia 6.

Testovacie vzorky majú doplniť vhodné kontrolné tkanivá a kontrolné čínidlá.

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

Ďalšie informácie

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

Literatúra

1. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. *Nat Rev Genet.* 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? *Nucleic Acids Res.* 26 pp.4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

Dátum vydania

24 septembra 2018

BOND™ Ready-to-Use ISH DNA Positive Control Probe

رقم الدليل: PB0682

الاستعمال المستهدف

هذا الكشف مخصص للاستعمال في أعراض التشخيص في المختبرات.

يتمثل الغرض من DNA Positive Control Probe في استخدامه كتحكم إيجابي في النسيج المثبت بالفورمالين، والمضمن في البارافين عند القيام بالتهجين الموضعي (ISH) للحمض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين (DNA)، وذلك باستخدام نظام BOND الآلي (يشمل نظامي Leica BOND-MAX و Leica BOND-III).

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

الملخص والشرح

إن DNA Positive Control Probe هو عبارة عن مسبار من الحمض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين (DNA) مصمم خصيصاً لتهجين تتابعات ALU الجينومية المتكررة، والتي تمثل حوالي 10٪ من الجينوم البشري؛ تتابعات ALU هي جزء من طائفة العناصر القصيرة المنتشرة على الرغم من أن وظيفتها غير واضحة، إلا أنها معروفة بأنها مسؤولة عن التطوير الإقليمي الجينومي عن طريق النقل الإرجاعي وترتبط بالأمراض البشرية^{2,3}. يتم إنشاء DNA Positive Control Probe بمسبار DNA Positive Control Probe بمسبار DNA Positive Control Probe كعنصر تحكم؛ بالكشف عن تتابعات ALU البشرية الإقصائية الخاصة بـ BOND HPV Probes.

يُستخدم التهجين الموضعي للحمض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين (DNA ISH) بمسبار DNA Positive Control Probe كعنصر تحكم؛ بالكشف عن تتابعات ALU البشرية المتكررة في الأنسجة المثبتة بالفورمالين، والمضمنة في البارافين. تُعد هذه الطريقة قابلة للتكاثر ويجب أن ينتج عنها تلوّح نوي بني لمعظم الخلايا البشرية المُتَوَافِة.

الكواشف المتوفرة

يُعد DNA Positive Control Probe مسباراً للحمض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين (DNA) تم تزويده في محلول تهجين.

الحجم الكلي = 6.25 مل

التخفيف والخلط

مسبار DNA Positive Control Probe جاهز للاستعمال. لا يلزم إعادة تشكيل هذا الكاشف، أو خلطه، أو تخفيفه، أو معايرته.

المواد المطلوبة لكنها غير متوفرة

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

التخزين والاستقرار

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

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

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

يجب التحقق من ظروف التخزين لمعرفة المستخدم بخلاف الظروف المحددة أعلاه⁴.

الاحتياطات

• هذا المنتج مخصص للاستعمال في أعراض التشخيص في المختبرات.

DNA POSITIVE CONTROL PROBE

يحتوي على الفوراميد (>70%).

GHS08: خطر على الصحة.

كلمات الإشارة: خطر.

H360D: قد يضر الطفل الذي لم يُولد بعد.

P201: حصل على تعليمات خاصة قبل الاستخدام.

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

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

P281: استخدم معدات الوقاية الشخصية كما هو مطلوب.

P308+P313: في حالة التعرض أو المخاوف: احصل على المشورة الطبية/الاهتمام الطبي.

الطبي.

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

مقصور على المستخدمين المتخصصين.

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

• ينبغي التعامل مع العينات، قبل التثبيت وبعد، وكذلك مع جميع المواد التي تتعرض لها كما لو كانت قادرة على نقل العدوى، وينبغي التخلص منها مع اتخاذ الاحتياطات السلمية⁵. لا تمس الكواشف مطلقاً عن طريق الفم، وتجنب احتكاك الجلد والأغشية المخاطية بالكواشف أو العينات. إذا كانت الكواشف أو العينات تحتك بمناطق حساسة، فغسل تلك المناطق بكميات وفيرة من الماء. اطلب المشورة الطبية.

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

• قلّل من التلوث الميكروبي للكواشف وإلا قد تحدث زيادة في التلوّح غير المحدد.

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

إرشادات الاستعمال

تم تطوير DNA Positive Control Probe لاستخدامه في نظام BOND الآلي (يشمل نظامي Leica BOND-MAX و Leica BOND-III) بالاقتران مع Anti-Biotin، Antibody Stringency Wash Solution، و Bond Polymer Refine Detection، بروتوكول التلوّح الموصى به لمسبار DNA Positive Control Probe و DNA ISH Protocol B. يوصى بالمعالجة المسبقة للإنزيم باستخدام Bond Enzyme Pretreatment Kit، لمدة 15 دقيقة. ينبغي دائماً استخدام الأنسجة وضوابط الكواشف المناسبة. يجب أن يتوافق بروتوكول الأمسية وضوابط الكواشف مع بروتوكول مسبار اختبار الحمض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين (DNA).

للحصول على أفضل أداء من عينات أنسجة مسبار D

Leica BOND Probe NA Positive Control Probe يجب وضع 5 م على الأقل من الطرف المجدد من الشريحة و 9 م من الطرف غير المجدد من الشريحة.

ضبط الجودة

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

ضابط النسيج الإيجابي

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

ضابط النسيج السلبى

ينبغي فحصه بعد ضابط النسيج الإيجابي للتحقق من خصوصية وضع تسميات المسبار نحو الهدف.. وبدلاً من ذلك، هناك مجموعة متنوعة من مختلف أنواع الخلايا الموجودة في معظم قطاعات النسيج تُوفر 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 التلطيح غير المحدد والسماح بتفسير أفضل للتلطيح المحدد عند الهدف.

ضابط الكاشف الإيجابي

استخدم DNA Positive Control Probe 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 DNA Positive Control Probe في إظهار التلطيح الإيجابي، فينبغي اعتبار نتائج عينات الاختبار غير صحيحة.

نسيج المريض

فحص عينات المرضى المطلحة بمسبار اختبار DNA في النهاية. ينبغي تقييم كثافة التلطيح الإيجابي في سياق أي تلطيح غير محدد بالخلفية بخصوص مسبار DNA Negative Control Probe PB0731.

النتائج المتوقعة

الأنسجة الطبيعية

حيثما يكون ذلك قابلاً للقياس، كشف PB0682 وجود الحمض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين (DNA) في مجموعة كبيرة من الأنسجة. (إجمالي عدد الحالات العادية التي تم تقييمها = 118).

الأنسجة غير الطبيعية

كشف PB0682 وجود الحمض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين (DNA) في 4/4 من أورام الرئة، 4/4 من أورام المبيض، 3/3 من أورام الغدة الدرقية، 2/2 من أورام المريء، 2/2 من أورام الثدي، 2/2 من أورام المعدة، 2/2 من أورام الأنسجة الرخوة، 2/2 من أورام اللسان، 2/2 من الأورام النقيلية من أصل غير معروف، 2/2 من أورام الكبد، 2/2 من أورام الكلى، 2/2 من أورام عنق الرحم، 2/2 من أورام الخصية، 2/2 من أورام القولون، 2/2 من أورام المستقيم، 2/2 من أورام الجلد، 1/1 من أورام الحنجرة، 1/1 من ورم الغدة الصغرى، و1/1 من ورم المخ. (إجمالي عدد الحالات غير العادية التي تم تقييمها = 40).

يوصى باستخدام PB0682 كأداة فحص للكشف عن حفظ الحمض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين (DNA) في الخلايا.

القيود الخاصة بالمنتح

تم تحسين DNA Positive Control Probe باستخدام Leica Biosystems عن طريق 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 يحدون 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 الحضارة 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 6 في الحصول على إجراء علاجي.

ينبغي استكمال عينات الاختبار بضوابط النسيج والكواشف الملائمة.

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

المزيد من المعلومات

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

قائمة المراجع

1. International Human Genome Sequencing Consortium., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 409 pp. 860–921.
2. Batzer MA and Deininger PL., 2002 Alu repeats and human genomic diversity. Nat Rev Genet. 372 pp. 370–9.
3. Schmid CW., 1998. Does SINE evolution preclude Alu function? Nucleic Acids Res. 26 pp.4541–4550.
4. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
5. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
6. Wilkinson DG. The theory and practice of *in situ* hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) *In situ* Hybridization A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18–20.

تاريخ الإصدار

24سبتمبر2018

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