

## RNAscope<sup>TM</sup> ISH Probe dapB (Negative Control)

**REF** 200470

*In-vitro*-Diagnostikum.  
Nur für den US-Export.

### VERWENDUNGSZWECK

Die RNAscope ISH Probe dapB (Negative Control) ist als Negativkontrolle für RNAscope *In-situ*-Hybridisierungstests (ISH) an formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten (FFPE) Gewebeproben bestimmt. Die Sonde zielt auf mRNA-Transkripte des Dihydrodipicolinat-Reduktase-Gens des *Bacillus subtilis* ab.

Die Sonde ist für den Einsatz in klinischen Labors mit BOND RNAscope Brown Detection im automatischen BOND-III Färbeautomaten von Leica Biosystems vorgesehen. Die klinische Auswertung jeglicher Hybridisierungssignale bzw. fehlender Hybridisierungssignale muss von einem qualifizierten Pathologen mit angemessenen Kontrollen durchgeführt und durch histologische Untersuchungen und relevante klinische Daten ergänzt werden.

### VERFAHRENSPRINZIP

Die RNAscope ISH Probe dapB (Negative Control) enthält Oligonukleotid-Sonden, die mit Nukleinsäuresequenzen des Dihydrodipicolinat-Reduktase-Gens des *Bacillus subtilis* in FFPE-Gewebeschnitten hybridisiert werden. Die Visualisierung erfolgt unter Verwendung der Detektionsreagenzien BOND RNAscope Brown Detection, die ein braunes chromogenes Signal erzeugen, das mithilfe eines Lichtmikroskops beurteilt werden kann.<sup>1,2</sup> Die dapB-Sonde ist eine Negativkontrollsonde, bei der keine Signalerzeugung in Menschengewebe erwartet wird. Die Negativkontrolle wird verwendet, um in Kombination mit der RNAscope-Zielsonde jegliche Hintergrund- bzw. unspezifische Färbung zu beurteilen.

### IM LIEFERUMFANG ENTHALTENES REAGENZ

14 mL der RNAscope ISH Probe dapB (Negative Control) werden als gebrauchsfertige Oligonukleotid-Sondenlösung in einem Formamid enthaltenden Hybridisierungspuffer bereitgestellt. Die bereitgestellte Menge ist ausreichend für 30 Testdurchführungen. Kein Rekonstituieren, Mischen, Verdünnen oder Titrieren erforderlich.

### LAGERUNG UND STABILITÄT

- Die Sonde nach Erhalt und sofort nach jeder Verwendung bei 2-8 °C aufbewahren.
- Ungeöffnete Sonden sind bis zu dem auf der Flasche aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Nach dem Verfallsdatum nicht mehr verwenden.
- Nach der Übertragung in einen BOND Open Container ist die Sonde mindestens 3 Wochen stabil, wenn sie nach der Verwendung bei 2-8 °C gelagert wird.

### NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE ERFORDERLICHE MATERIALIEN

- BOND RNAscope Brown Detection (Leica Biosystems, DS9815)
- BOND Open Container 30 mL (Leica Biosystems, OP309700)
- BOND Epitope Retrieval 2 (Leica Biosystems, AR9640)
- BOND Dewax Solution (Leica Biosystems, AR9222)
- 10X BOND Wash Solution (Leica Biosystems, AR9590)
- BOND-III Slide Stainer (Leica Biosystems) mit BOND-Software v5.1 oder höher mit BDD v82 oder höher.



Der Abschnitt „Using BOND Reagents“ (Verwendung von BOND-Reagenzien) im BOND Benutzerhandbuch enthält gängige Materialien, die zur Verfahrensdurchführung mit BOND Geräten benötigt werden.

## PROBEN FÜR DIE TESTDURCHFÜHRUNG

Bei den Proben muss es sich um formalinfixiertes, in Paraffin eingebettetes (FFPE) humanes Oropharynxkarzinomgewebe handeln. Das Gewebe in 10%igem neutral gepuffertem formalin fixieren und aus den Gewebelöcken 4-5 µm Gewebeschnitte herstellen. Die Proben sollten innerhalb von 3 Wochen nach dem Aufziehen auf die Objektträger gefärbt werden, wenn die Objektträger bei Raumtemperatur (20-25 °C) gelagert werden.

## FÄRBEVERFAHREN

Die Proben dürfen nur von Laborpersonal gefärbt werden, das in histologischen Verfahren und in der Verwendung des BOND-III Geräts geschult wurde.

Die Färbeverfahren für die RNAscope ISH Probe dapB (Negative Control) und für Zielsenzen in RNAscope-Tests müssen identisch sein. Für jede Patientenprobe unter Verwendung eines angrenzenden Gewebeschnitts eine Sonden-Negativkontrolle ausführen.

## AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Die Proben müssen von einer qualifizierten Fachkraft für anatomische Pathologie ausgewertet werden.

Bei einem Signal erscheinen braune chromogene Punkte, die mit einem Lichtmikroskop und einer Objektivlinse mit 20- oder 40-facher Vergrößerung erkennbar sind.

Eine fehlende oder lediglich schwache, fokale Färbung, die eine eindeutige Auswertung der RNAscope-Zielsonde zulässt, gilt als akzeptables dapB-Signal.

Bei einem schwachen Signal auf dem Tumorbereich sollte auf die Auswertung der RNAscope-Zielsonde verzichtet werden.

## LEISTUNGSMERKMALE

### Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität wurde unter Verwendung von punktförmig auf Glasobjektträger aufgetragenen und auf der Oberfläche fixierten Plasmiden getestet, die einen Teil der dapB-Gensequenz enthalten. Die RNAscope ISH Probe dapB (Negative Control) wurde auf dem Plasmid enthaltenden Objektträger getestet. Das dapB-Plasmid konnte nachgewiesen werden, bei anderen, nicht in Zusammenhang stehenden Sequenzen war hingegen kein Nachweis möglich.

### Analytische Präzision

Die Reproduzierbarkeit der Färbeleistung der RNAscope ISH Probe dapB (Negative Control) wurde über mehrere Tage, mit verschiedenen Geräten und unterschiedlichen Sondenchargen bewertet.

Die Präzision von Tag zu Tag wurde über fünf Tage unter Verwendung der gleichen Sondencharge und des gleichen BOND-III Geräts beurteilt. Dabei wurde täglich ein Gewebeschnitt von jeweils fünf FFPE-Gewebeproben gefärbt. Zwischen den einzelnen Tagen wurde für das ISH-Signal eine prozentuale Übereinstimmung von insgesamt 100% für 25 beurteilte Gewebeschnitte berechnet.



Die Präzision von Gerät zu Gerät wurde unter Verwendung der gleichen Sondencharge mit drei unterschiedlichen BOND-III Geräten beurteilt. Dabei wurde mit jeder Charge ein Gewebeschnitt von jeweils fünf FFPE-Gewebeproben gefärbt. Zwischen den einzelnen Geräten wurde für das ISH-Signal eine prozentuale Übereinstimmung von insgesamt 100% für 15 beurteilte Gewebeschnitte berechnet.

Die Präzision von Charge zu Charge wurde unter Verwendung von drei verschiedenen Sondenchargen beurteilt. Dabei wurde mit jeder Charge ein Gewebeschnitt von jeweils fünf FFPE-Gewebeproben gefärbt. Zwischen den einzelnen Chargen wurde für das ISH-Signal eine prozentuale Übereinstimmung von insgesamt 100% für 15 beurteilte Gewebeschnitte berechnet.

## GRENZEN DES VERFAHRENS

1. Die Verfahrensmethode wurde für die Verwendung des automatischen BOND-III Färbeautomaten von Leica Biosystems mit BOND RNAscope Brown Detection und BOND Reagenzien optimiert. Alle Benutzer müssen in der Verwendung des BOND-III Geräts geschult sein.
2. Von einer Änderung der Verfahren wird abgeraten, da jegliche Modifikationen zu ungenauen Ergebnissen führen können.
3. Der Test wurde mittels humaner FFPE-Gewebeproben validiert. Andere Gewebetypen wurden nicht beurteilt.
4. Für eine ordnungsgemäße Testauswertung werden Positiv- und Negativkontrollsonden benötigt. Mit der Positivkontrollsonde wird die RNA-Integrität innerhalb der Probe verifiziert. Mit der Negativkontrollsonde wird das Fehlen von unspezifischen Signalen oder Störsubstanzen, die die Auswertung beeinträchtigen könnten, bestätigt.
5. Die Färbung der Gewebe und Zellen ist von einer sachgemäßen Behandlung und Aufbereitung der Proben vor dem Färben abhängig. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erhitzen, Schneiden oder eine Kontamination mit anderen Gewebeproben oder Flüssigkeiten kann zu Artefakten und zu falsch-positiven oder falsch-negativen Ergebnissen führen. Inkonsistente Ergebnisse können auf Abweichungen beim Fixierungs- oder Einbettungsverfahren zurückzuführen sein oder auf Unregelmäßigkeiten im Gewebe selbst beruhen.
6. Falsch-negative Ergebnisse können unter Umständen durch den allmählichen Abbau der mRNA in den Geweben entstehen. Die Proben sollten innerhalb von 3 Wochen nach dem Aufziehen auf die Objektträger gefärbt werden, wenn die Objektträger bei Raumtemperatur (20-25 °C) gelagert werden.

## WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Formamide ( $\leq 50\%$ ).



Signalwort: Gefahr.

Gefahrenhinweis(e)

H351 Kann vermutlich Krebs erzeugen.

H360 Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen.

H373 Kann die Leber, die Nieren und das Blut schädigen.

Sicherheitshinweis(e):

P201 Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.

P202 Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.

P281 Vorgeschriebene persönliche Schutzausrüstung verwenden.

P308+P313 BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.

P314 Bei Unwohlsein ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.

P405 Unter Verschluss aufbewahren.



P501 Inhalt/Behälter gemäß  
lokalen/regionalen/nationalen/internationalen Vorschriften der  
Entsorgung zuführen.











1. Jeglichen direkten Kontakt mit der Sonde vermeiden. Eine angemessene persönliche Schutzausrüstung (PSA) tragen, um Kontakt mit Augen, Haut und Schleimhäuten zu vermeiden. Bei Kontakt mit reichlich Wasser abwaschen.
2. Die Sonde enthält Material tierischen Ursprungs. Bei allen Materialien menschlichen oder tierischen Ursprungs muss das Risiko einer Infektionsübertragung berücksichtigt werden. Bei der Handhabung und zur Gewährleistung der ordnungsgemäßen Entsorgung sind angemessene Vorsichtsmaßnahmen zu ergreifen.
3. Mikrobielle Kontamination kann zu ungenauen Ergebnissen führen.
4. Weitere Sicherheitsinformationen sind dem Sicherheitsdatenblatt unter [www.bio-techne.com](http://www.bio-techne.com) zu entnehmen.
5. Informationen zur ordnungsgemäßen Entsorgung der Sonde sind bei den zuständigen örtlichen Behörden erhältlich und den geltenden Vorschriften zu entnehmen.

## FEHLERSUCHE

Wenn die erwarteten Ergebnisse mit dem Kontrollgewebe nicht erzielt werden, den Test wiederholen.

Falls Sie Hilfe bei der Fehlersuche benötigen, wenden Sie sich an unseren technischen Service [support.acd@bio-techne.com](mailto:support.acd@bio-techne.com).

## DEFINITION DER SYMBOLE

 Katalognummer	 Zulässiger Temperaturbereich	 <i>In-Vitro</i> -Diagnostikum
 Hersteller	 Chargenbezeichnung	 CE-Kennzeichnung
 Verfallsdatum	 Gebrauchsanweisung beachten	 Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
 Ernstzunehmende Gesundheitsgefahr		

## GEISTIGES EIGENTUM

ACD und RNAscope sind Marken von Advanced Cell Diagnostics, Inc.

BOND ist eine Marke von Leica Biosystems.

## QUELLENANGABEN

1. Wilkinson DG. The theory and practice of in situ hybridization. In: Wilkinson DG. (Aufl.) In situ Hybridization. A practical approach. 2. Auflage. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18-20.
2. Wang F, Flanagan J, Su N, Wang LC, Bui S, Nielson A, Wu X, Vo HT, Ma XJ, Luo Y. RNAscope: a novel in situ RNA analysis platform for formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. J Mol Diagn. 2012 Jan;14(1):22-9.



Gebrauchsanweisung:  
*RNAscope™ ISH Probe dapB (Negative Control) (Kat.-Nr. 200470)*

**AUSGABEDATUM**

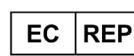
20 Mai 2022



Hergestellt von  
Advanced Cell Diagnostics  
7707 Gateway Blvd.,  
Newark, CA 94560  
USA



+1 510-576-8800  
bio-techne.com



Qarad EC-REP BV  
Pas 257  
2440 Geel  
Belgien

Seite 5 von 5