

RNAscopeTM ISH Probe dapB (Negative Control)

REF 200470

Para diagnóstico *in vitro*.
Solo para exportación en Estados Unidos.

USO PREVISTO

La sonda RNAscope ISH Probe dapB (Negative Control) se emplea como control negativo en un ensayo RNAscope de hibridación *in situ* (ISH) de muestras de tejido fijado con formol e incluido en parafina (FFPE). La sonda se dirige selectivamente contra los transcritos de ARNm del gen de la dihidrodipicolinato reductasa de *Bacillus subtilis*.

La sonda está pensada para usarse en laboratorios clínicos con reactivos de detección RNAscope marrón BOND en el sistema de tinción automatizado BOND-III de Leica Biosystems. La interpretación clínica de la presencia o ausencia de cualquier señal de hibridación debe hacerla un anatomopatólogo cualificado con controles adecuados, y complementarse con el examen histológico y la información clínica pertinente.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

La sonda RNAscope ISH Probe dapB (Negative Control) contiene sondas de oligonucleótidos diseñadas para hibridar con secuencias de ácido nucleico del gen de la dihidrodipicolinato reductasa de *Bacillus subtilis* en cortes de tejido FFPE. La sonda se visualiza utilizando los reactivos del sistema de detección RNAscope marrón BOND, con los que se obtiene una señal cromogénica marrón que se puede observar al microscopio óptico^{1,2}. La sonda de dapB es una sonda de control negativo que no se espera que produzca ninguna señal en los tejidos humanos. El control negativo se utiliza para evaluar cualquier tinción de fondo o inespecífica, junto con una sonda selectiva de RNAscope.

REACTIVO SUMINISTRADO

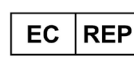
La sonda RNAscope ISH Probe dapB (Negative Control) se suministra en forma de una solución de sonda de oligonucleótidos de 14 mL lista para usar en un tampón de hibridación que contiene formamida. La cantidad suministrada es suficiente para 30 ensayos. No se requiere ningún tipo de reconstitución, mezcla, dilución ni valoración.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- La sonda debe almacenarse a 2-8 °C en el momento de recibirla e inmediatamente después de usarla.
- La sonda sin abrir es estable hasta la fecha de caducidad impresa en el frasco. No use el producto pasada la fecha de caducidad.
- Después de usarse y transferirse a un BOND Open Container, la sonda es estable durante al menos 3 semanas a 2-8 °C.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- 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 (Leica Biosystems, AR9590)
- BOND-III Slide Stainer (Leica Biosystems) con el software BOND v5.1 o superior con BDD v82 o superior.



En el apartado «Using BOND Reagents» (Uso de reactivos BOND) del manual de usuario de BOND se indican qué materiales corrientes hacen falta para llevar a cabo el procedimiento en el sistema BOND.

MUESTRAS DE ANÁLISIS

Las muestras deben ser tejido de carcinoma orofaríngeo humano fijado con formalina e incluido en parafina (FFPE). Fijar los tejidos con formol amortiguado neutro (FAN) al 10% y cortar los bloques de tejido en secciones de 4-5 µm de grosor. Una vez montadas en portaobjetos y conservadas a temperatura ambiente (20-25 °C), teñir las muestras de tejido antes de 3 semanas.

PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN

La tinción de las muestras debe hacerla personal de laboratorio con formación en procedimientos histológicos y usando el sistema BOND-III.

El procedimiento de tinción de la sonda RNAscope ISH Probe dapB (Negative Control) debe ser el mismo que se utiliza para la sonda selectiva de un ensayo RNAscope. Incluir un control negativo de la sonda con cada muestra de un paciente utilizando un corte seriado adyacente.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

La interpretación de las muestras debe hacerla un anatomopatólogo cualificado.

La señal aparece en forma de puntos cromógenos de color marrón que se pueden observar con un microscopio óptico usando un objetivo 20X o 40X.

Una señal de dapB aceptable consiste en la ausencia de tinción o en una tinción focal débil que permite una interpretación inequívoca de la sonda selectiva de RNAscope.

Si la señal está presente de forma difusa en el área del tumor, la sonda selectiva de RNAscope no se debe interpretar.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Especificidad analítica

Para comprobar la especificidad analítica se utilizaron plásmidos que contenían un fragmento de la secuencia del gen de dapB, distribuidos en puntos e inmovilizados en portaobjetos de vidrio. El portaobjetos con los plásmidos fue analizado con la sonda RNAscope ISH Probe dapB (Negative Control). Se detectó el plásmido de dapB, pero no otras secuencias no relacionadas.

Precisión analítica

La reproducibilidad del rendimiento de la tinción de la sonda RNAscope ISH Probe dapB (Negative Control) se evaluó a lo largo de varios días, en diferentes sistemas de tinción y con sondas de diferentes lotes.

Para evaluar la precisión interdiaria se realizaron ensayos durante cinco días utilizando sondas de un lote y un sistema de tinción BOND-III. Se tiñó diariamente un corte de cada uno de cinco tejidos FFPE. El porcentaje total de concordancia interdiaria de la señal de ISH calculado fue del 100% de 25 cortes evaluados.

Para determinar la precisión entre instrumentos se utilizaron sondas de un lote y tres sistemas de tinción BOND-III. Se tiñó un corte de cada uno de cinco tejidos FFPE en cada sistema de tinción. El porcentaje total de concordancia entre instrumentos de la señal de ISH calculado fue del 100% de 15 cortes evaluados.



La precisión entre lotes se determinó utilizando sondas de tres lotes. Se tiñó un corte de cada uno de cinco tejidos FFPE en cada sistema de tinción. El porcentaje total de concordancia entre lotes de la señal de ISH calculado fue del 100% de 15 cortes evaluados.

LIMITACIONES

1. El método se ha optimizado para usarse con el sistema de tinción automatizado BOND-III de Leica Biosystems, utilizando el sistema de detección RNAscope marrón BOND y reactivos auxiliares BOND. Los usuarios deben estar familiarizados con el uso de BOND-III.
2. No se recomienda modificar los procedimientos, ya que podrían obtenerse resultados inexactos.
3. El ensayo ha sido validado con muestras de tejido humano FFPE. No se han evaluado otros tipos de muestras.
4. Para interpretar correctamente el ensayo es necesario usar sondas de control positivo y negativo. La sonda de control positivo comprueba la integridad del ARN de la muestra. La sonda de control negativo confirma que la muestra no produce una señal inespecífica ni tiene interferentes analíticos que pudieran confundir la interpretación.
5. La tinción de tejidos y células depende de la manipulación y del procesamiento de la muestra de tejido antes de la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o corte inadecuados, o una contaminación con otros tejidos o líquidos, pueden producir artefactos y resultados positivos o negativos falsos. Los resultados discrepantes pueden deberse a variaciones en los métodos de fijación e inclusión, o a irregularidades inherentes a la muestra de tejido.
6. Los resultados negativos falsos pueden deberse a una degradación del ARNm de los tejidos con el paso del tiempo. Una vez montadas en portaobjetos y conservadas a temperatura ambiente (20-25 °C), las muestras de tejido deben teñirse antes de 3 semanas.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Formamide (≤ 50%).



Palabra de advertencia:
Peligro.

Indicaciones de peligro:

H351 Se sospecha que provoca cáncer.

H360 Puede perjudicar la fertilidad o dañar al feto.

H373 Puede provocar daños en el hígado, los riñones y la sangre.

Consejos de prudencia:

P201 Pedir instrucciones especiales antes del uso.

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

P281 Utilizar el equipo de protección individual obligatorio.

P308+P313 EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: consultar a un médico.

P314 Consultar a un médico en caso de malestar.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Eliminar el contenido/el recipiente conforme a la reglamentación local/regional/nacional/internacional.

1. Debe evitarse el contacto directo con la sonda. Usar un equipo de protección individual (EPI) adecuado para evitar la exposición de los ojos, la piel y las membranas mucosas. En caso de exposición, lavar con agua abundante.
2. La sonda contiene material de origen animal. Cualquier material de origen humano o animal debe considerarse un posible riesgo de transmisión de infecciones. Tomar las precauciones adecuadas para manipularlo y desecharlo correctamente.
3. La contaminación microbiana puede hacer que se obtengan resultados inexactos.













4. Consulte la ficha de datos de seguridad para obtener información de seguridad adicional disponible en www.bio-techne.com.
5. Para eliminar correctamente la sonda, consulte la normativa y a las autoridades locales pertinentes.

RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Si no se obtienen los resultados esperados con el tejido de control, repetir la prueba.

Para obtener información sobre la resolución de problemas, póngase en contacto con el Servicio Técnico en support.acd@bio-techne.com.

DEFINICIONES DE LOS SÍMBOLOS

 Número de referencia	 Límite de temperatura	 Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
 Fabricante	 Código de lote	 Conformidad con la Unión Europea
 Fecha de caducidad	 Consultar las instrucciones de uso	 Representante autorizado en la Comunidad Europea
 Riesgo sanitario grave		

PROPIEDAD INTELECTUAL

ACD y RNAscope son marcas comerciales de Advanced Cell Diagnostics, Inc.

BOND es una marca comercial de Leica Biosystems.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wilkinson DG. The theory and practice of in situ hybridization. En: Wilkinson DG. (ed.) In situ Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. 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.

FECHA DE PUBLICACIÓN

20 Mayo 2022