

RNAscope™ ISH Probe UBC (Positive Control)

REF 200460

Per uso diagnostico *in vitro*.
Solo per l'esportazione negli Stati Uniti.

USO PREVISTO

RNAscope ISH Probe UBC (Positive Control) è destinato all'uso come controllo positivo in un test di ibridazione *in situ* (ISH) RNAscope in campioni di tessuto fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE). La sonda rileva le trascrizioni di mRNA del gene dell'ubiquitina C umana.

La sonda è destinata all'uso in laboratori clinici con BOND RNAscope Brown Detection sul coloratore automatizzato Leica Biosystems BOND-III. L'interpretazione clinica di un eventuale segnale di ibridazione o della sua assenza deve essere eseguita da un patologo qualificato con controlli adeguati, integrata da esame istologico e informazioni cliniche pertinenti.

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

RNAscope ISH Probe UBC (Positive Control) contiene sonde oligonucleotidiche progettate per ibridarsi con sequenze di acido nucleico del gene dell'ubiquitina C umana in sezioni di tessuto FFPE. La sonda viene visualizzata utilizzando i reagenti di rilevamento di BOND RNAscope Brown Detection, generando un segnale cromogeno marrone che può essere valutato mediante un microscopio ottico.^{1,2} Il segnale UBC deve essere osservato nei tessuti umani con RNA sufficientemente conservato, adatto per il test RNAscope.

REAGENTE FORNITO

RNAscope ISH Probe UBC (Positive Control) viene fornito come una soluzione pronta per l'uso da 14 mL di sonda oligonucleotidica in tampone di ibridazione contenente formammide. La quantità fornita è sufficiente per eseguire 30 test. Non sono richieste ricostituzione, miscelazione, diluizione o titolazione.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Conservare la sonda a 2-8 °C al ricevimento e subito dopo l'uso.
- Prima dell'apertura, la sonda è stabile fino alla data di scadenza stampata sul flacone. Non utilizzare dopo la data di scadenza.
- Una volta trasferita in un BOND Open Container, la sonda è stabile per almeno 3 settimane se conservata a 2-8 °C dopo l'uso.

MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

- 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) dotato di software BOND v5.1 o successiva con BDD v82 o successiva.

La sezione "Using BOND Reagents" (Uso dei reagenti BOND) nel Manuale d'uso del sistema BOND identifica i materiali comuni necessari per eseguire la procedura sullo strumento BOND.



CAMPIONI PER IL TEST

Utilizzare campioni di tessuto di carcinoma orofaringeo umano fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE). Fissare i tessuti in formalina tamponata neutra al 10% (NBF) e sezionare blocchi di tessuto con uno spessore di 4-5 µm. Colorare i campioni entro 3 settimane dal montaggio sui vetrini se conservati a temperatura ambiente (20-25 °C).

PROCEDURA DI COLORAZIONE

La colorazione del campione deve essere eseguita da personale di laboratorio con adeguata formazione sulle procedure istologiche e sull'uso dello strumento BOND-III.

La procedura di colorazione per RNAscope ISH Probe UBC (Positive Control) deve essere identica a quella utilizzata per la sonda target in un test RNAscope. Eseguire un controllo positivo della sonda per ogni campione del paziente utilizzando una sezione seriale adiacente.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

L'interpretazione dei campioni deve essere eseguita da un patologo anatomico qualificato.

Il segnale positivo appare sotto forma di punti cromogeni marroni, visibili con un microscopio ottico utilizzando un obiettivo 20X o 40X.

La colorazione UBC accettabile comprende un segnale diffuso presente nell'area tumorale, indicativo di un'integrità dell'RNA sufficiente per l'interpretazione di una sonda target RNAscope.

Se non si osserva alcuna colorazione o si osserva solo una colorazione focale debole, l'RNA potrebbe essere compromesso e la sonda target RNAscope non deve essere interpretata.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Specificità analitica

La specificità analitica è stata testata utilizzando plasmidi contenenti una porzione della sequenza del gene UBC individuati e reticolati sui vetrini. RNAscope ISH Probe UBC (Positive Control) è stato testato sul vetrino plasmidico. Il plasmide UBC è stato rilevato, mentre non sono state rilevate altre sequenze non correlate.

Precisione analitica

La riproducibilità delle prestazioni di colorazione di RNAscope ISH Probe UBC (Positive Control) è stata valutata in più giorni, su strumenti diversi e con lotti di sonde diversi.

La precisione intergiornaliera è stata condotta nell'arco di cinque giorni, utilizzando un unico lotto di sonde e un unico strumento BOND-III. Due sezioni di ciascuno dei cinque tessuti FFPE sono state colorate ogni giorno. La concordanza percentuale complessiva per il segnale ISH tra i giorni è stata calcolata nella misura del 100% per 50 sezioni valutate.

La precisione tra gli strumenti è stata condotta utilizzando un unico lotto di sonde e tre strumenti BOND-III. Due sezioni di ciascuno dei cinque tessuti FFPE sono state colorate su ogni strumento. La concordanza percentuale complessiva per il segnale ISH tra gli strumenti è stata calcolata nella misura del 100% per 30 sezioni valutate.

La precisione tra i lotti è stata condotta utilizzando tre lotti di sonde. Due sezioni di ciascuno dei cinque tessuti FFPE sono state colorate su ogni strumento. La concordanza percentuale complessiva per il segnale ISH tra i lotti è stata calcolata nella misura del 100% per 30 sezioni valutate.



LIMITAZIONI

1. Il metodo è stato ottimizzato per l'uso sul coloratore automatizzato BOND-III Leica Biosystems utilizzando BOND RNAscope Brown Detection e reagenti BOND ausiliari. Gli utenti devono aver ricevuto adeguata formazione sull'uso del sistema BOND-III.
2. Si raccomanda di non apportare modifiche alle procedure in quanto possono produrre risultati imprecisi.
3. Il test è stato convalidato con campioni di tessuto umano FFPE. Non sono stati valutati altri tipi di campioni.
4. L'uso di sonde di controllo positive e negative è necessario per la corretta interpretazione del test. La sonda di controllo positivo verifica l'integrità dell'RNA nel campione. La sonda di controllo negativo verifica che il campione sia privo di segnali non specifici o sostanze interferenti che complicherebbero l'interpretazione.
5. La colorazione dei tessuti e delle cellule dipende dalla manipolazione e dall'elaborazione del campione di tessuto prima della colorazione. Procedure di fissazione, congelamento, scongelamento, lavaggio, asciugatura, riscaldamento, sezionamento o contaminazione eseguite in modo improprio con altri tessuti o fluidi possono produrre artefatti, risultati falsi positivi o falsi negativi. Risultati incoerenti possono essere dovuti a variazioni nei metodi di fissazione e inclusione o a irregolarità intrinseche all'interno del campione di tessuto.
6. Risultati falsi negativi potrebbero essere causati dalla degradazione dell'mRNA nei tessuti nel tempo. I campioni devono essere colorati entro 3 settimane dal montaggio dei tessuti sui vetrini se conservati a temperatura ambiente (20-25 °C).

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Formamide (≤ 50%).



Parola di segnalazione:
Pericolo .

Indicazioni di pericolo

H351 Sospettato di provocare il cancro.

H360 Può nuocere alla fertilità o al feto.

H373 Può causare danni al fegato, ai reni e al sangue.

Consigli di prudenza

P201 Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.

P202 Non maneggiare prima di aver letto e compreso tutte le precauzioni di sicurezza.

P281 Utilizzare i dispositivi di protezione individuale richiesti.

P308+P313 IN CASO di esposizione o di possibile esposizione: consultare un medico.

P314 In caso di malessere, consultare un medico.

P405 Conservare sotto chiave.

P501 Smaltire il contenuto/contenitore in conformità alle normative locali/regionali/nazionali/internazionali.

1. Evitare il contatto diretto con la sonda. Utilizzare dispositivi di protezione individuale (DPI) adeguati per prevenire l'esposizione degli occhi, della pelle e delle mucose. In caso di esposizione, lavare abbondantemente con acqua.
2. La sonda contiene materiale di origine animale. Considerare tutti i materiali di origine umana o animale come a rischio di trasmissione dell'infezione. Adottare precauzioni adeguate per la manipolazione e garantire il corretto smaltimento.
3. La contaminazione microbica può portare a risultati imprecisi.



- Per ulteriori informazioni sulla sicurezza, fare riferimento alla scheda di dati di sicurezza disponibile all'indirizzo www.bio-techne.com.
- Per il corretto smaltimento della sonda, consultare le autorità e le normative locali pertinenti.

RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

Se non si ottengono i risultati attesi con il tessuto di controllo, ripetere il test.

Per informazioni sulla risoluzione dei problemi, contattare il supporto tecnico all'indirizzo support.acd@bio-techne.com.

DEFINIZIONI DEI SIMBOLI

 Numero di catalogo	 Limite di temperatura	 Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>
 Produttore	 Codice lotto	 Conformità europea
 Usare entro la data	 Consultare le istruzioni per l'uso	 Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea
 Pericoloso per la salute		

PROPRIETÀ INTELLETTUALE

ACD e RNAscope sono marchi di Advanced Cell Diagnostics, Inc.

BOND è un marchio di Leica Biosystems.

RIFERIMENTI

- 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.
- 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.

DATA DI RILASCIO

20 Maggio 2022