

ultraView Universal DAB Detection Kit

REF

760-500

05269806001

IVD
 250

USO PREVISTO

ultraView Universal DAB Detection Kit è un sistema indiretto privo di biotina per la rilevazione di anticorpi primari di coniglio, IgG di topo e IgM di topo. Il kit è destinato all'identificazione dei target mediante analisi immunocitochimica (IHC) in sezioni di tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina o congelato, colorate su uno strumento BenchMark IHC/ISH.

I risultati ottenuti tramite questo prodotto devono essere interpretati da un patologo qualificato in un quadro che consideri anche gli esami istologici, i dati clinici pertinenti e i controlli adeguati.

Questo prodotto è indicato per uso diagnostico in vitro (IVD).

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

L'immunocitochimica (IHC) è una tecnica utilizzata nei laboratori per scopi diagnostici. L'IHC utilizza anticorpi primari specifici, che localizzano e si legano agli antigeni in sezioni di tessuto fissate o congelate. Il legame dell'anticorpo all'antigene viene visualizzato con un metodo di rilevazione indiretta. Le tecniche più comuni per i metodi indiretti prevedono l'uso di un anticorpo secondario diretto contro la specie dell'anticorpo primario e di un enzima con un corrispondente sistema substrato-cromogeno. Questa combinazione dà come risultato un precipitato colorato presso il sito di legame dell'anticorpo specifico. ultraView Universal DAB Detection Kit utilizza un metodo indiretto per visualizzare anticorpi specifici legati agli antigeni, depositando un precipitato di colore marrone.

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

ultraView Universal DAB Detection Kit rileva anticorpi primari specifici di topo e di coniglio legati a un antigene in sezioni di tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE) o congelato. L'anticorpo specifico viene localizzato con un cocktail di anticorpi secondari marcati con un enzima. Il complesso viene quindi visualizzato con un substrato di perossido di idrogeno e 3,3'-diaminobenzidina tetraidrocloruro (DAB) come cromogeno, che produce un precipitato marrone facilmente osservabile al microscopio ottico.

Il protocollo di colorazione è articolato in varie fasi nelle quali i reagenti vengono incubati per periodi pre-determinati a temperature specifiche. Al termine di ogni fase di incubazione, lo strumento BenchMark IHC/ISH lava le sezioni per rimuovere il materiale non legato e applica un coverslip (LCS) liquido che minimizza l'evaporazione dei reagenti acquosi dal vetrino.¹ I risultati vengono interpretati utilizzando un microscopio ottico e possono fungere da supporto nella diagnosi differenziale di processi fisiopatologici, che possono essere associati a un particolare antigene o meno.

Per informazioni più dettagliate sul funzionamento dello strumento, fare riferimento all'opportuna guida per l'utilizzatore. La Figura 1 illustra il metodo di rilevazione indiretta.

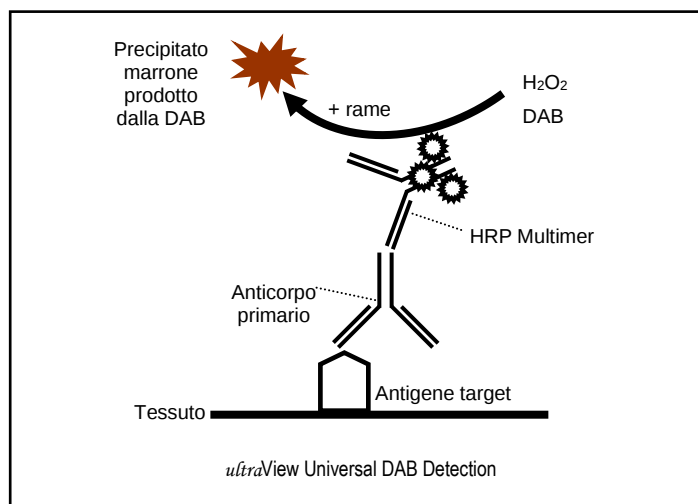


Figura 1. Reazione con ultraView Universal DAB Detection Kit

MATERIALI E METODI

Materiali forniti

ultraView Universal DAB Detection Kit contiene una quantità di reagente sufficiente per 250 test.

Un erogatore da 25 mL di

ultraView Universal DAB Inhibitor contiene una soluzione di perossido di idrogeno 3%.

Un erogatore da 25 mL di

ultraView Universal HRP Multimer contiene un cocktail di anticorpi marcati con HRP (IgG anti-topo di capra, IgM anti-topo di capra e anti-coniglio di capra) (all'incirca 55 µg/mL) in un tampone contenente proteina con ProClin 300, un conservante.

Un erogatore da 25 mL di

ultraView Universal DAB Chromogen contiene 3,3'-diaminobenzidina tetraidrocloruro 0.2% (p/v) in una soluzione stabilizzante proprietaria con un conservante proprietario.

Un erogatore da 25 mL di

ultraView Universal DAB H₂O₂ contiene perossido di idrogeno 0.04% in una soluzione tampone fosfato.

Un erogatore da 25 mL di

ultraView Universal DAB Copper contiene solfato di rame (5 g/L) in un tampone acetato con un conservante proprietario.

Ricostituzione, miscelazione, diluizione, titolazione

Il kit di rivelazione è ottimizzato per l'uso su strumenti BenchMark IHC/ISH. Non sono necessarie ricostituzione, miscelazione, diluizione o titolazione dei reagenti del kit. Un'ulteriore diluizione può determinare una perdita di colorazione.

Materiali necessari ma non forniti

I reagenti di colorazione, quali gli anticorpi primari VENTANA e i componenti ausiliari, compresi i vetrini dei tessuti di controllo positivi e negativi, non sono forniti.

È possibile che non tutti i prodotti elencati nella scheda metodologica siano disponibili in tutte le aree geografiche. Rivolgersi al rappresentante dell'assistenza locale.

I reagenti e materiali seguenti possono essere necessari per la colorazione ma non sono forniti con il kit di rivelazione:

1. Anticorpo primario
2. Reagente di controllo negativo
3. Tessuti di controllo positivo e negativo (consultare le schede metodologiche degli anticorpi per conoscere i tipi consigliati)
4. Amplification Kit (n. di cat. 760-080 / 05266114001)
5. Protease 1 (n. di cat. 760-2018 / 05266688001)
6. Protease 2 (n. di cat. 760-2019 / 05266696001)
7. Protease 3 (n. di cat. 760-2020 / 05266718001)
8. Hematoxylin (n. di cat. 760-2021 / 05266726001)

9. Hematoxylin II (n. di cat. 790-2208 / 05277965001)
10. Bluing Reagent (n. di cat. 760-2037 / 05266769001)
11. Reaction Buffer Concentrate (10X) (n. di cat. 950-300 / 05353955001)
12. Cell Conditioning Solution 1 (CC1) (n. di cat. 950-124 / 05279801001)
13. Cell Conditioning Solution 2 (CC2) (n. di cat. 950-123 / 05279798001)
14. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (n. di cat. 950-224 / 05424569001)
15. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (n. di cat. 950-223 / 05424542001)
16. Antibody Diluent (n. di cat. 251-018 / 05261899001)
17. EZ Prep Concentrate (10X) (n. di cat. 950-102 / 05279771001)
18. LCS (Predilute) (n. di cat. 650-010 / 05264839001)
19. ULTRA LCS (Predilute) (n. di cat. 650-210 / 05424534001)
20. Strumento BenchMark IHC/ISH
21. Vetrini per microscopia, caricati positivamente
22. Coverslip (LCS) e metodo di coverslip sufficiente per coprire il tessuto
23. Attrezzatura di laboratorio per uso generico

Conservazione e stabilità

Alla ricezione e quando non è in uso, il prodotto va conservato a 2-8 °C. Non congelare. L'utilizzatore deve convalidare qualsiasi condizione di conservazione diversa da quelle specificate nella scheda metodologica. Questo kit di rilevazione può essere utilizzato subito dopo la rimozione dal frigorifero.

Per garantire la corretta erogazione di reagente e la stabilità di ogni reagente, dopo ogni utilizzo riposizionare il tappo dell'erogatore e riporre immediatamente l'erogatore in frigorifero in posizione verticale.

Su ogni kit di rilevazione è riportata la scadenza. Se conservato adeguatamente, il prodotto resta stabile fino alla data indicata sull'etichetta. Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza per il metodo di conservazione indicato. Non esistono segni che indichino con certezza l'instabilità di questo prodotto; pertanto, i controlli positivi e negativi devono essere eseguiti contemporaneamente ai campioni sconosciuti. Contattare immediatamente il rappresentante dell'assistenza locale in caso di indicazioni di instabilità del reagente.

Prelievo dei campioni e preparazione per l'analisi

I tessuti FFPE trattati normalmente sono adatti per l'uso con *ultraView* Universal DAB Detection Kit e gli strumenti BenchMark IHC/ISH (vedere la sezione Materiali necessari ma non forniti). Il fissativo per i tessuti consigliato è formalina neutra tamponata al 10% (NBF).² Si possono ottenere risultati variabili dovuti allo spessore della sezione del tessuto, al tipo di fissazione, a una fissazione prolungata o incompleta o a processi particolari come la decalcificazione di preparazioni di midollo osseo.

Ogni sezione deve essere tagliata allo spessore appropriato per l'anticorpo primario utilizzato (vedere la scheda metodologica dell'anticorpo in questione) e collocata su un vetrino di vetro per microscopio caricato positivamente. Prima della cottura, i vetrini contenenti la sezione di tessuto si devono asciugare in posizione verticale per almeno 15 minuti a temperatura ambiente per drenare l'eccesso di acqua presente sotto la sezione. I vetrini possono essere cotti/riscaldati per 1 ora in un forno, a una temperatura di 60 °C ± 5 °C, oppure possono essere lasciati ad asciugare all'aria a 37 °C per un massimo di 24 ore. L'asciugatura e il riscaldamento dei vetrini sono impiegati per asciugare il tessuto dopo il montaggio sul vetrino e per migliorare l'adesione del tessuto al vetro. Consultare la scheda metodologica dell'anticorpo primario per individuare le limitazioni relative al riscaldamento. Il riscaldamento prolungato del tessuto può determinare una riduzione della disponibilità dell'antigene.

I tessuti fissati e inclusi correttamente che esprimono l'antigene rimangono stabili se conservati in un luogo fresco (15-25 °C). I requisiti del Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) del 1988, 42CFR493.1259 (b) prevedono che "il laboratorio deve conservare i vetrini per almeno dieci anni dalla data dell'esame e i blocchi di campioni per almeno due anni dalla data dell'esame". Ogni laboratorio deve convalidare la stabilità del vetrino tagliato in base alle proprie procedure e alle condizioni ambientali di conservazione.

I tessuti congelati trattati normalmente sono anch'essi adatti per l'uso con *ultraView* Universal DAB Detection Kit e gli strumenti BenchMark IHC/ISH. La fissazione dei tessuti raccomandata è di 10 minuti in acetone freddo. Come risultato di una fissazione prolungata o di processi particolari, quali la decalcificazione di campioni di midollo osseo, si possono ottenere risultati variabili.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Per uso diagnostico in vitro (IVD).
2. Solo per uso professionale.

3. **ATTENZIONE:** negli Stati Uniti le leggi federali consentono la vendita di questo dispositivo solo da parte di un medico o solo su prescrizione medica. (Rx Only)
4. **Avvertenza: possibile cancerogeno.** L'Agenzia internazionale per la ricerca sul cancro (IARC) e lo US National Toxicology Program (NTP) hanno indicato la benzidina, un composto strettamente correlato a 3, 3'-diamminobenzidina tetraidrocloruro (DAB), come noto cancerogeno nell'uomo.
5. Non usare oltre il numero di test specificato.
6. La soluzione ProClin 300 è utilizzata come conservante in questa soluzione. È classificata come irritante e può causare sensibilizzazione tramite contatto cutaneo. Adottare precauzioni ragionevoli durante la manipolazione. Evitare il contatto dei reagenti con occhi, cute e membrane mucose. Indossare guanti e indumenti di protezione adeguati.
7. I materiali di origine umana o animale devono essere maneggiati come materiali a potenziale rischio biologico e smaltiti adottando precauzioni appropriate. In caso di esposizione, attenersi alle direttive sanitarie delle autorità responsabili.^{3,4}
8. Adottare precauzioni ragionevoli durante la manipolazione dei reagenti. Evitare il contatto dei reagenti con occhi, cute e membrane mucose. Utilizzare guanti monouso e indossare indumenti protettivi adeguati durante la manipolazione di possibili cancerogeni o materiali tossici.
9. Se i reagenti entrano in contatto con aree sensibili, lavare con acqua abbondante. Evitare l'inalazione dei reagenti.
10. Assicurarsi che il contenitore dei rifiuti sia vuoto prima di avviare una corsa di colorazione sullo strumento. Se non si prende questa precauzione, il contenitore dei rifiuti potrebbe traboccare e l'utilizzatore rischia di scivolare e cadere.
11. Evitare la contaminazione microbica dei reagenti poiché può causare risultati non corretti.
12. Per ulteriori informazioni sull'uso di questo dispositivo, fare riferimento alla guida per l'utilizzatore dello strumento BenchMark IHC/ISH e alle schede metodologiche di tutti i componenti necessari disponibili sul sito navifyportal.roche.com.
13. Consultare le autorità locali e/o statali per determinare il metodo di smaltimento consigliato.
14. Le etichette di sicurezza dei prodotti seguono principalmente le linee guida GHS dell'UE. La scheda dati di sicurezza è disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.
15. Per segnalare sospetti incidenti gravi correlati a questo dispositivo, contattare il rappresentante locale Roche e l'autorità competente dello Stato membro o del paese in cui risiede l'utilizzatore.

Questo prodotto contiene componenti classificati come segue in conformità con il regolamento (CE) n. 1272/2008:

Tabella 1. Informazioni sui pericoli.

Pericolo	Codice	Indicazione
 	H317	Può provocare una reazione allergica cutanea.
	H319	Provoca grave irritazione oculare.
	H350	Può provocare il cancro.
	H412	Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
	P201	Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.
	P261	Evitare di respirare la nebbia/i vapori.
	P273	Non disperdere nell'ambiente.
	P280	Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/Proteggere il viso/Proteggere l'udito.
	P308 + P313	IN CASO DI esposizione o possibile esposizione: consultare un medico.
	P333 + P313	In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.

PROCEDURA

ultraView Universal DAB Detection Kit è stato sviluppato per l'uso su strumenti BenchMark IHC/ISH in combinazione con gli anticorpi primari e i componenti ausiliari VENTANA. È possibile visualizzare, stampare e modificare i parametri delle procedure automatizzate conformemente alla procedura descritta nella guida per l'utilizzatore dello strumento. Altri parametri operativi per lo strumento sono stati preimpostati in fabbrica.

Le procedure per la colorazione su strumenti BenchMark IHC/ISH sono le seguenti. Per istruzioni più dettagliate e ulteriori opzioni di protocollo, fare riferimento alla guida per l'utente. L'eventuale utilizzo di Cell Conditioning per un campione dipende dall'anticorpo. Controllare la scheda metodologica dell'anticorpo per indicazioni in proposito.

Strumenti BenchMark IHC/ISH

1. Applicare l'etichetta del vetrino con codice a barre corrispondente al protocollo da eseguire.
2. Caricare l'anticorpo primario, gli appositi erogatori del kit di rilevazione e il reagente accessorio richiesto sul vassoio reagenti e posizionarli sullo strumento.
3. Controllare i liquidi consumabili e svuotare il contenitore dei rifiuti.
4. Caricare i vetrini nello strumento.
5. Avviare la corsa di colorazione.
6. Al termine della corsa di colorazione, rimuovere i vetrini dallo strumento.
7. Procedere con Procedure consigliate di processazione dopo l'utilizzo dello strumento.

Procedure consigliate di processazione dopo l'utilizzo dello strumento

1. Lavare i vetrini con un detergente delicato per piatti per rimuovere la soluzione coverslip (LCS).
2. Risciacquare accuratamente i vetrini in acqua distillata per rimuovere tutto il detergente.
3. Disidratare, chiarificare e applicare il coverslip (LCS) con montante permanente.

PROCEDURA DI CONTROLLO QUALITÀ

Tessuto di controllo positivo

Acquisire un tessuto di controllo positivo per ogni procedura di colorazione eseguita. La pratica di laboratorio ottimale prevede l'inclusione di una sezione di tessuto di controllo positivo sullo stesso vetrino del tessuto del paziente. Questa pratica aiuta nell'identificazione di una mancata applicazione dell'anticorpo primario o di un altro reagente critico al vetrino di test del paziente. Un tessuto con una colorazione positiva debole è più adatto per un controllo qualità ottimale. I componenti del tessuto a colorazione positiva vengono utilizzati per confermare l'applicazione dell'anticorpo e il funzionamento corretto dello strumento. Questo tessuto può contenere cellule o componenti del tessuto con colorazione positiva e negativa e serve come controllo sia positivo che negativo. I tessuti di controllo devono provenire da un'autopsia recente, da una biopsia o da campioni chirurgici preparati o fissati il prima possibile, in modo identico alle sezioni da testare. Tali tessuti possono consentire di controllare tutte le fasi della procedura, dalla preparazione del tessuto fino alla colorazione. L'uso di una sezione di tessuto fissata o processata diversamente rispetto al campione sottoposto a test servirà come controllo per tutti i reagenti e le fasi del metodo, tranne che per la fissazione e la processazione del tessuto.

I tessuti di controllo positivi noti devono essere utilizzati solo per il monitoraggio delle prestazioni corrette di tessuti trattati e reagenti di test, non come ausilio nella determinazione della diagnosi specifica dei campioni del paziente. Se i tessuti di controllo positivi non si colorano positivamente, i risultati ottenuti con i campioni del test devono essere considerati non validi.

Tessuto di controllo negativo

Lo stesso tessuto utilizzato per il tessuto di controllo positivo può essere utilizzato come tessuto di controllo negativo. Anche se la varietà di tipi cellulari presente nella maggior parte delle sezioni di tessuto offre siti di controllo negativo interni, è necessario che ciò sia verificato dall'utilizzatore. I componenti che non mostrano colorazione devono dimostrare l'assenza di colorazione specifica e fornire un'indicazione di colorazione di fondo. Se i siti del tessuto di controllo negativo mostrano una colorazione specifica, i risultati ottenuti con i campioni del paziente devono essere considerati non validi.

Discrepanze inspiegabili

Eventuali discrepanze inspiegabili nei controlli devono essere immediatamente riferite al rappresentante dell'assistenza locale. Se i risultati del controllo qualità non soddisfano le specifiche, i risultati dei pazienti non sono validi. Vedere la sezione Risoluzione dei problemi di questa scheda metodologica. Identificare e correggere il problema e ripetere quindi l'analisi dei campioni del paziente.

Controllo negativo del reagente

Acquisire un controllo negativo del reagente per ogni campione come ausilio all'interpretazione dei risultati. Per valutare la colorazione non specifica, al posto dell'anticorpo primario si utilizza un controllo negativo del reagente. Il vetrino deve essere colorato con Negative Control Mouse o con Negative Control Rabbit, a seconda dei casi. È possibile utilizzare il solo diluente in alternativa ai controlli negativi del reagente descritti in precedenza. Il periodo di incubazione del controllo negativo del reagente deve essere uguale al periodo di incubazione dell'anticorpo primario.

Quando si utilizzano pannelli di diversi anticorpi su sezioni in serie, un controllo negativo del reagente su un vetrino può servire come controllo di fondo negativo o del legame non specifico per gli altri anticorpi.

Verifica dell'analisi

Prima dell'uso iniziale di un anticorpo primario o di un sistema di colorazione in una procedura diagnostica, è necessario verificare la specificità dell'anticorpo primario effettuando il test su una serie di tessuti con caratteristiche prestazionali immunoistochimiche note che rappresentino tessuti positivi e negativi noti (fare riferimento alla sezione Tessuto di controllo positivo descritta nella scheda metodologica dell'anticorpo primario e alle indicazioni per il controllo qualità del College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist⁵, alle CLSI Approved Guideline⁶ oppure a entrambi i documenti). Ripetere queste procedure di controllo qualità per ciascun nuovo lotto di anticorpo od ogni volta che si modificano i parametri dell'analisi. I tessuti elencati nella sezione Caratteristiche prestazionali dell'anticorpo primario sono adatti per la verifica dell'analisi.

Interpretazione dei risultati

ultraView Universal DAB Detection Kit provoca la precipitazione di un prodotto di reazione di colore marrone in corrispondenza dei siti dell'antigene individuati dall'anticorpo primario. Un patologo qualificato con esperienza nelle procedure immunoistochimiche dovrà valutare i controlli e qualificare il prodotto colorato prima di interpretare i risultati. La colorazione dei controlli negativi deve essere controllata per prima e questi risultati devono essere confrontati con il materiale colorato per verificare che il segnale generato non sia il risultato di interazioni non specifiche.

Tessuto di controllo positivo

Il tessuto di controllo positivo colorato deve essere esaminato per primo, per verificare che tutti i reagenti funzionino correttamente. La presenza di un prodotto di reazione colorato in maniera appropriata nelle cellule target è indicativa di una reattività positiva. A seconda della durata del periodo di incubazione e della potenza dell'ematossilina utilizzata, la controcolorazione determina una colorazione dei nuclei cellulari da blu pallido a blu scuro. Una controcolorazione eccessiva o incompleta può compromettere l'interpretazione corretta dei risultati.

Se i tessuti di controllo positivi non si colorano positivamente, tutti i risultati ottenuti con i campioni del test devono essere considerati non validi.

Tessuto di controllo negativo

Il tessuto di controllo negativo deve essere esaminato dopo il tessuto di controllo positivo per verificare la marcatura specifica dell'antigene target da parte dell'anticorpo primario. L'assenza di colorazione specifica nel tessuto di controllo negativo conferma l'assenza di cross-reattività dell'anticorpo alle cellule o ai componenti cellulari. Se il tessuto di controllo negativo mostra una colorazione specifica, i risultati ottenuti con il campione del paziente devono essere considerati non validi.

Una colorazione non specifica, se presente, avrà un aspetto diffuso. È possibile osservare anche una lieve colorazione sporadica del tessuto connettivo in sezioni provenienti da tessuti fissati in formalina in misura eccessiva. Utilizzare cellule intatte per l'interpretazione dei risultati di colorazione. Le cellule necrotiche o degradate spesso si colorano in modo non specifico.

Tessuto del paziente

I campioni del paziente devono essere esaminati per ultimi. L'intensità della colorazione positiva deve essere valutata tenendo in considerazione qualunque colorazione di fondo aspecifica del controllo negativo del reagente. Come in qualsiasi altro test

immunoistochimico, un risultato negativo indica che l'antigene non è stato rilevato, non che l'antigene è assente nelle cellule o nei tessuti sottoposti al test. Se necessario, utilizzare una serie di anticorpi per facilitare l'identificazione di reazioni false negative. La morfologia di ogni campione di tessuto deve essere esaminata anche utilizzando una sezione colorata con ematossilina ed eosina quando si interpretano i risultati immunoistochimici. I riscontri morfologici del paziente e i dati clinici pertinenti devono essere interpretati da un patologo qualificato.

LIMITAZIONI

Limitazioni generali

1. L'IHC è un processo diagnostico a più fasi che necessita di formazione specialistica nella scelta dei reagenti appropriati, nella selezione dei tessuti, nella fissazione, processazione, preparazione del vetrino per immunoistochimica e nell'interpretazione dei risultati di colorazione.
2. La colorazione tessutale dipende dalla manipolazione e dalla processazione del tessuto prima della colorazione. Condizioni inappropriate di fissazione, congelamento, scongelamento, lavaggio, asciugatura, riscaldamento, taglio o la contaminazione con altri tessuti o fluidi possono produrre artefatti, intrappolamento degli anticorpi o risultati falsi negativi. Variazioni nella fissazione e nei metodi di inclusione o le irregolarità intrinseche del tessuto possono provocare risultati incoerenti.
3. Una controcolorazione eccessiva o incompleta può compromettere l'interpretazione corretta dei risultati.
4. L'interpretazione clinica di qualunque colorazione positiva o della sua assenza deve essere valutata nel contesto dell'anamnesi clinica, della morfologia e di altri criteri istopatologici. L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione o della sua assenza deve essere integrata da studi morfologici, controlli appropriati e da altri test diagnostici. È responsabilità del patologo qualificato aver acquisito familiarità con gli anticorpi, i reagenti e i metodi utilizzati per interpretare la preparazione colorata. È necessario eseguire la colorazione in un laboratorio certificato e autorizzato, sotto la supervisione di un patologo responsabile della revisione dei vetrini colorati e che garantisce l'adeguatezza dei controlli positivi e negativi.
5. Gli anticorpi e i reagenti VENTANA sono forniti a una diluizione ottimale per l'uso, purché le istruzioni fornite siano rispettate. Qualsiasi deviazione dalle procedure di test consigliate può inficiare i risultati attesi. È indispensabile utilizzare e documentare controlli appropriati. Gli utilizzatori che modificano le procedure di test consigliate si devono assumere ogni responsabilità relativamente all'interpretazione dei risultati dei pazienti.
6. I reagenti possono dare luogo a reazioni inattese in tessuti non testati precedentemente. La possibilità di reazioni inattese, anche in gruppi di tessuti già esaminati, non può essere completamente esclusa a causa della variabilità biologica dell'espressione dell'antigene nei neoplasmi e altri tessuti patologici.⁷ Contattare il rappresentante dell'assistenza locale per segnalare reazioni inattese documentate.
7. I tessuti ottenuti da soggetti affetti dal virus dell'epatite B e contenenti l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) possono evidenziare una colorazione non specifica con la perossidasi di rafano.⁸
8. Quando sono utilizzati in fasi di blocco, i sieri normali dalla stessa fonte animale degli antisieri secondari possono causare risultati falsi negativi o falsi positivi a causa di autoanticorpi o di anticorpi naturali.
9. Come in qualsiasi altro test immunoistochimico, un risultato negativo indica che l'antigene non è stato rilevato, non che l'antigene era assente nelle cellule o nei tessuti sottoposti al test.

Limitazioni specifiche

1. Ogni fase della procedura del kit di rilevazione è stata ottimizzata su strumenti BenchMark IHC/ISH ed è preimpostata. A causa della variabilità nella fissazione e processazione dei tessuti, può essere necessario aumentare o diminuire il tempo di incubazione dell'anticorpo primario su singoli campioni. Il tempo di incubazione dell'anticorpo primario dipende dal grado di fissazione dei tessuti e può variare da 8 a 32 minuti. Per ulteriori informazioni sulle variabili della fissazione, fare riferimento a "Immunohistochemistry Principles and Advances"⁹ oppure a "Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist".¹⁰
2. Il kit di rilevazione, in combinazione con gli anticorpi primari e gli accessori VENTANA, rileva l'antigene che sopravvive alla fissazione in formalina, alla processazione del tessuto e al taglio normali.

3. Questo kit di rilevazione è stato ottimizzato per l'uso con soluzione di lavaggio Reaction Buffer, anticorpi primari, accessori e strumenti BenchMark IHC/ISH. L'uso della soluzione di lavaggio Reaction Buffer è importante per il corretto funzionamento del kit di rilevazione. Gli utilizzatori che modificano le procedure di test consigliate sono responsabili per l'interpretazione dei risultati del paziente in tali circostanze.
4. Questo kit di rilevazione è stato ottimizzato per l'uso con LCS (Predilute) o ULTRA LCS (Predilute). LCS è una soluzione coverslip prediluita utilizzata sia come barriera tra i reagenti acquosi e l'aria, che come reagente per rimuovere la paraffina dai campioni di tessuto durante il processo di sparaffinatura. La barriera LCS riduce l'evaporazione e fornisce un ambiente acquoso stabile per le reazioni di IHC o di ibridazione in situ (ISH) eseguite su strumenti VENTANA.
5. Tempi di incubazione e temperature diverse da quelle specificate possono causare risultati non corretti. L'utilizzatore deve convalidare qualunque modifica.
6. Non tutti i kit di rilevazione potrebbero essere registrati su ogni strumento. Per ulteriori informazioni, contattare il rappresentante locale Roche.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

PRESTAZIONI ANALITICHE

Le prestazioni del *ultraView* Universal DAB Detection Kit sono state valutate in studi sulla precisione e altri studi pertinenti. Se non altrimenti specificato, tutte le colorazioni sono state eseguite seguendo il protocollo indicato nella scheda metodologica dell'anticorpo con strumenti BenchMark IHC/ISH.

Studi sulla precisione

I test sulla precisione di *ultraView* Universal DAB Detection Kit sono stati eseguiti colorando sezioni seriali provenienti da 3 tessuti fissati in formalina neutra tamponata e inclusi in paraffina con 3 anticorpi primari: una IgG di topo (anti-Ki67) impiegata per colorazione su carcinoma mammario, una IgM di topo (anti-CD15) impiegata per colorazione su uno xenotrapianto di linfoma di Hodgkin e una IgG di coniglio (anti-S100) su un melanoma utilizzando gli strumenti BenchMark e BenchMark XT. Tutti gli anticorpi primari sono stati incubati per 16 minuti e i vetrini sono stati controcolorati utilizzando Hematoxylin II seguita da Bluing Reagent. Tutti i vetrini colorati con un anticorpo primario sono stati confrontati l'uno con l'altro per verificare l'adeguatezza e l'intensità della colorazione:

1. Le corse di colorazione per verificare la precisione all'interno della stessa corsa di colorazione (lo stesso anticorpo primario applicato su una piattaforma e confrontato) sono state eseguite una al giorno in 3 giorni diversi utilizzando 2 strumenti diversi: gli strumenti BenchMark e BenchMark XT, per un totale di 6 corse di colorazione. La precisione all'interno della stessa corsa di colorazione per lo strumento BenchMark XT è risultata del 100% (30 vetrini su 30 per anticorpo primario per corsa, un totale di 90 vetrini colorati per anticorpo nelle 3 corse) e del 100% (20 vetrini su 20 per anticorpo primario per corsa, un totale di 60 vetrini per anticorpo nelle 3 corse) per lo strumento BenchMark.
2. La precisione tra diverse corse di colorazione è stata calcolata in base al numero di vetrini colorati in 3 corse di colorazione per ogni tipo di strumento. Le corse di colorazione sono state eseguite una al giorno in 3 giorni diversi utilizzando 2 strumenti diversi: gli strumenti BenchMark e BenchMark XT. La precisione tra corse di colorazione per lo strumento BenchMark XT è risultata del 100% (90 vetrini su 90, 30 vetrini per ciascun anticorpo primario in 3 corse diverse) e del 100% (60 vetrini su 60, 20 vetrini per ciascun anticorpo primario in 3 corse diverse per ciascuna piattaforma) per lo strumento BenchMark.
3. La precisione tra strumenti è stata calcolata in base al numero di vetrini colorati in 6 corse di colorazione su tutti i tipi di strumento. Le corse di colorazione sono state eseguite una al giorno in 3 giorni diversi utilizzando 2 diversi strumenti: gli strumenti BenchMark e BenchMark XT. La precisione tra strumenti di *ultraView* Universal DAB Detection Kit è risultata del 100% (150 vetrini colorati su 150, con i vetrini valutati che includevano tutti e 3 gli anticorpi primari).

Numerosi anticorpi primari VENTANA sono stati sviluppati con *ultraView* Universal DAB Detection Kit. Nell'ambito dei test eseguiti per queste analisi, sono state dimostrate le seguenti caratteristiche prestazionali di *ultraView* Universal DAB Detection Kit:

1. Precisione intra-corsa, tra giorni diversi, tra strumenti e tra piattaforme sugli strumenti BenchMark GX, BenchMark XT e BenchMark ULTRA.
2. Sensibilità e specificità della colorazione su diversi tipi di tessuti normali e neoplastici e tessuti target specifici per l'analisi

- La precisione sullo strumento BenchMark ULTRA PLUS è stata dimostrata usando analisi rappresentative. Gli studi hanno incluso precisione intra-corsa, tra giorni diversi e tra strumenti. Tutti gli studi hanno soddisfatto i rispettivi criteri di accettabilità

RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

- Se il controllo positivo mostra una colorazione più debole rispetto alle previsioni, verificare gli altri controlli positivi analizzati contemporaneamente sullo strumento per determinare se la causa è l'anticorpo primario o uno dei reagenti secondari in comune.
- Se il controllo positivo è negativo, assicurarsi che il vetrino abbia l'etichetta con codice a barre corretta. Se l'etichetta del vetrino è corretta, verificare gli altri controlli positivi analizzati contemporaneamente sullo strumento per determinare se la causa è l'anticorpo primario o uno dei reagenti secondari in comune. I tessuti potrebbero essere stati raccolti, fissati o sparaffinati non correttamente. Seguire la procedura corretta per la raccolta, la conservazione e la fissazione.
- La rimozione incompleta della paraffina può produrre artefatti di colorazione o causare l'assenza di colorazione.
 - Se non è stata rimossa tutta la paraffina dal vetrino, ripetere la corsa di colorazione utilizzando l'opzione di sparaffinatura prolungata, se disponibile.
 - In alternativa, è possibile eseguire una sparaffinatura manuale fuori strumento. Se si sceglie la sparaffinatura manuale, deselezionare la sparaffinatura online dal protocollo di colorazione prima di caricare i vetrini sullo strumento. Prestare particolare attenzione affinché i vetrini non si asciugano prima della corsa di colorazione.
- Se la colorazione specifica con l'anticorpo è troppo intensa, ripetere la corsa riducendo il periodo di incubazione a intervalli di 4 minuti fino a raggiungere l'intensità di colorazione desiderata.
- In caso di dilavamento delle sezioni di tessuto dal vetrino, controllare i vetrini per assicurarsi che siano caricati positivamente.
- Per le azioni correttive, consultare la sezione Procedura, la guida per l'utilizzatore dello strumento o contattare il rappresentante dell'assistenza locale.
- Se un erogatore di reagente non eroga liquido, controllare la camera di caricamento o il menisco per verificare l'eventuale presenza di corpi estranei o particolato, ad esempio fibre o precipitati. Se l'erogatore è bloccato, non utilizzarlo e contattare il rappresentante dell'assistenza locale. In caso contrario, caricare nuovamente l'erogatore puntandolo verso un contenitore dei rifiuti, rimuovendo il tappo dell'ugello e premendo verso il basso sulla parte superiore dell'erogatore. Fare riferimento alla scheda metodologica dell'erogatore in linea associato al codice 760-500 per informazioni sull'uso corretto.

BIBLIOGRAFIA

- Elias JM, Gown AM, Nakamura RM, et al. Quality control in immunohistochemistry. Report of a workshop sponsored by the Biological Stain Commission. Am J Clin Pathol. 1989;92(6):836-843.
- Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. 2nd edition. St. Louis, MO: The C.V. Mosby Company; 1980.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 June 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
- College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2009.
- (CLSI) formerly NCCLS. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. CLSI document MM4-A (ISBN 1-56238-396-5). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
- Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem. 1991;66(4):194-199.
- Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen. A possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Pathol. 1980;73(5):626-32.
- Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
- Taylor C, Cote RJ. Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist. 2nd Edition. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company; 1986.

NOTA: nel presente documento si utilizza sempre un punto come separatore decimale per separare la parte intera di un numero decimale da quella frazionaria. I separatori per le migliaia non sono utilizzati.

Simboli

Ventana usa i seguenti simboli e segni in aggiunta a quelli elencati nello standard ISO 15223-1 (per gli Stati Uniti: elabdoc.roche.com/symbols per ulteriori informazioni).



Numero prodotto globale



Identificativo unico del dispositivo



Indica l'entità che importa il dispositivo medico nell'Unione europea

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Rev.	Aggiornamenti
K	Aggiornamenti ad Avvertenze e precauzioni, Istruzioni per l'uso e ai link di riferimento per i simboli nelle sezioni Avvertenze e precauzioni e Simboli. Aggiornamenti alla Bibliografia pertinente

PROPRIETÀ INTELLETTUALE

VENTANA, BENCHMARK, *ultraView* e il logo VENTANA sono marchi commerciali di Roche. Tutti gli altri marchi commerciali sono di proprietà dei rispettivi titolari.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

INFORMAZIONI DI CONTATTO



Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.roche.com



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany
+800 5505 6606

