

OptiView DAB IHC Detection Kit

REF

760-700

06396500001

IVD

Σ 250

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

OptiView DAB IHC Detection Kit (OptiView) е индиректна система без биотин за откриване на миши IgG, миши IgM и заешки първични антитела. Комплектът е предназначен да идентифицира таргети чрез имунохистохимия (IHC) в срезове от фиксирана с формалин тъкан в парафин и замразена тъкан, които са оцветени на автоматизирани апарати за оцветяване на предметни стъкла VENTANA и са визуализирани чрез светлинна микроскопия. Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или липсата на оцветяване трябва да бъде допълнена с морфологични изследвания и оценка на правилните контроли.

Този продукт трябва да се интерпретира от квалифициран патолог във връзка с хистологично изследване, съответна клинична информация и подходящи контроли.

Този продукт е предназначен за in vitro диагностична (IVD) употреба.

РЕЗЮМЕ И ОБЯСНЕНИЕ

Имунохистохимията (IHC) е техника, използвана в лабораториите за диагностични цели. IHC използва специфични първични антитела за локализиране на и свързване с антигени във фиксирани или замразени тъканни срезове. Свързването на анти тялото с антигена се визуализира с индиректен метод за откриване. Най-често използваните техники на индиректните методи използват вторично анти тяло, насочено срещу видовете на първичното анти тяло и ензим със съответна система субстрат-хромоген. Тази комбинация води до оцветен преципитат на мястото на свързване със специфичното анти тяло. Комплектът OptiView DAB IHC Detection Kit използва непряк метод за визуализиране на специфични антитела, свързани с антигени, чрез отлагане на преципитат с кафяв цвят.

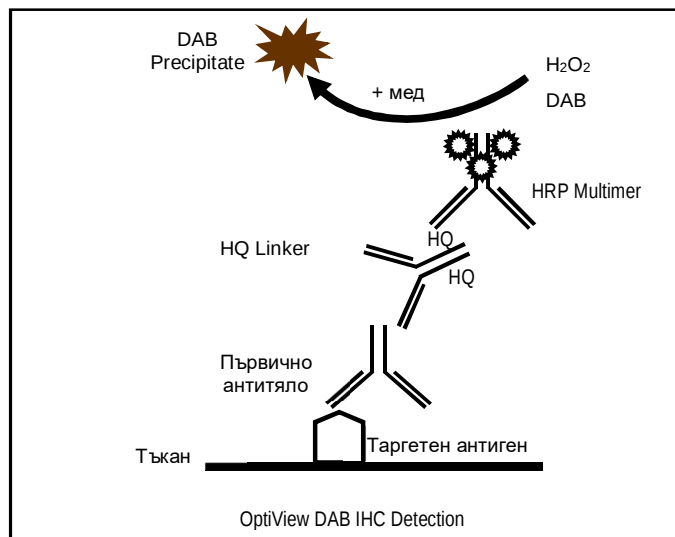
ПРИНЦИП НА ПРОЦЕДУРАТА

OptiView DAB IHC Detection Kit открива специфични миши и заешки първични антитела, свързани с антиген, в срезове от фиксирана с формалин тъкан в парафин (FFPE) или в срезове от замразена тъкан. Специфичното анти тяло се локализира от специфично вторично анти тяло, което е свързано с белязано от ензими третично анти тяло. След това комплексът се визуализира чрез субстрат водороден пероксид и хромоген 3,3'-диаминобензидин тетрахидрохлорид (DAB), като се получава кафяв преципитат, който лесно се наблюдава чрез светлинна микроскопия.

Протоколът за оцветяване се състои от множество етапи, при които реактивите се инкубират за предварително определени времена при специфични температури. В края на всяка стъпка на инкубация инструментът BenchMark IHC/ISH промива срезовете, за да отстрани несвързания материал, и прилага точно покривно стъкло, което минимизира изпарението на водните реактиви от предметното стъкло.¹ Резултатите се интерпретират с помощта на светлинен микроскоп и подпомагат диференциалната диагноза на патофизиологичните процеси, които могат да са свързани или не с конкретен антиген.

За по-подробна информация за работата на инструмента вижте съответното ръководство на потребителя.

Фигура 1 илюстрира индиректния метод за откриване.



Фиг. 1. OptiView DAB IHC Detection Kit.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Предоставени материали

OptiView DAB IHC Detection Kit съдържа достатъчно реактив за 250 теста.

Един дозатор от 25 mL	OptiView Peroxidase Inhibitor съдържа 3.0 % разтвор на водороден пероксид.
Един дозатор от 25 mL	OptiView HQ Universal Linker съдържа коктейл от HQ-белязани (HQ е патентован хаптен, ковалентно свързан с кози анти тяла) анти тяла (кози антимиши IgG, кози антимиши IgM и кози антизаешки) (приблизително 50 µg/mL) в буфер, съдържащ протеин с 0.05 % консервант ProClin 300.
Един дозатор от 25 mL	OptiView HRP Multimer съдържа мише моноклонално анти-HQ-белязано HRP третично анти тяло (приблизително 40 µg/mL) в буфер, съдържащ протеин с 0.05 % консервант ProClin 300.
Един дозатор от 25 mL	OptiView DAB съдържа 0.2 % w/v 3,3'-диаминобензидин тетрахидрохлорид (DAB) в патентован стабилизаторен разтвор с патентован консервант.
Един дозатор от 25 mL	OptiView H2O2 съдържа 0.04 % водороден пероксид в разтвор на фосфатен буфер.
Един дозатор от 25 mL	OptiView Copper съдържа меден сулфат (5.0 g/L) в ацетатен буфер с патентован консервант.

Разтваряне, смесване, разреждане, титруване

Комплектът за откриване е оптимизиран за употреба на инструменти BenchMark IHC/ISH. Не е необходимо разтваряне, смесване, разреждане или титруване на реактивите от комплекта. По-нататъшното разреждане може да доведе до загуба на оцветяване.

Необходими, но непредоставени материали

Не са предоставени оцветяващи реактиви, като напр. първични антители и спомагателни компоненти VENTANA, включително предметни стъкла с отрицателни и положителни тъкани контроли.

Някои от продуктите, изброени в листовката за метода, могат да липсват в някои географски райони. Консултирайте се с местния представител за поддръжка.

Следните реактиви и материали може да са необходими за оцветяване, но да не са предоставени с комплекта за откриване:

1. Първично анти тяло
2. Реактив за отрицателна контрола
3. Препоръчителни тъкани контроли
4. OptiView Amplification Kit (кат. номер 760-099 / 06396518001 (50 теста) или 860-099 / 06718863001 (250 теста))
5. Protease 1 (кат. номер 760-2018 / 05266688001)
6. Protease 2 (кат. номер 760-2019 / 05266696001)
7. Protease 3 (кат. номер 760-2020 / 05266718001)
8. Hematoxylin (кат. номер 760-2021 / 05266726001)
9. Hematoxylin II (кат. номер 790-2208 / 05277965001)
10. Bluing Reagent (кат. номер 760-2037 / 05266769001)
11. Reaction Buffer Concentrate (10X) (кат. номер 950-300 / 05353955001)
12. Cell Conditioning Solution (CC1) (кат. номер 950-124 / 05279801001)
13. Cell Conditioning Solution (CC2) (кат. номер 950-123 / 05279798001)
14. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (кат. номер 950-224 / 05424569001)
15. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (кат. номер 950-223 / 05424542001)
16. Antibody Diluent (кат. номер 251-018 / 05261899001)
17. EZ Prep Concentrate (10X) (кат. номер 950-102 / 05279771001)
18. LCS (Predilute) (кат. номер 650-010 / 05264839001)
19. ULTRA LCS (Predilute) (кат. номер 650-210 / 05424534001)
20. Инструмент BenchMark IHC/ISH
21. Предметни стъкла за микроскоп, заредени положително
22. Покривно стъкло и метод за покривно стъкло, достатъчни за покриване на тъкан
23. Лабораторно оборудване с общо предназначение

Съхранение и стабилност

При получаване и когато не се използва, съхранявайте при 2 – 8 °C. Не замразявайте. Потребителят трябва да потвърди всички условия за съхранение, различни от посочените в листовката за метода. Този комплект за откриване може да се използва веднага след изваждането от хладилника.

За да осигурите правилното доставяне на реактива и стабилността на всеки реактив, сменяйте капачката на дозатора след всяка употреба и веднага поставяйте дозатора в хладилника в изправено положение.

Всеки комплект за откриване е с обозначен срок на годност. Когато се съхранява правилно, продуктът е стабилен до датата, посочена на етикета. Не използвайте продукта след срока на годност за предписания метод на съхранение. Няма категорични признаци, които да показват нестабилност на този продукт; следователно положителните и отрицателните контроли трябва да се провеждат едновременно с неизвестни проби. Свържете се незабавно с Вашия местен представител за поддръжка, ако има индикации за нестабилност на реактива.

Взимане на проби и подготовка за анализ

FFPE тъканите са подходящи за употреба с OptiView DAB Detection Kit и инструменти BenchMark IHC/ISH (вижте раздела Необходими, но непредоставени материали). Препоръчителният фиксатор на тъкани е 10% неутрален буфериран формалин (NBF).² Променливи резултати могат да се получат в резултат на дебелина на тъканния срез, типа на фиксация, непълна продължителна фиксация или специални процеси, като декалцификация на препарати с костен мозък.

Всеки срез трябва да се нареже с подходящата дебелина (2-5 µm) за използването първично анти тяло и да се постави върху положително заредено микроскопско предметно стъкло. Предметните стъкла с тъканния срез трябва да се изсушат в изправено положение в продължение на най-малко 15 минути при стайна температура, за да се отцеди излишната вода, намираща се под среза, преди изпичането. Предметните стъкла могат да се изпекат/загреят в продължение на

един час в пещ при 60 °C ± 5 °C или да се изсушат на въздух при 37 °C до 24 часа. Изсушаването и нагряването на предметното стъкло се използват за изсушаване на тъканта след прикрепването на среза към предметното стъкло и за подобряване на адхезията на тъканта към стъклото. Консултирайте се с листовката за метода за първичното анти тяло, за да определите ограниченията за нагряване. Продължителното нагряване на тъканта може да доведе до намалена наличност на антиген.

Правилно фиксирани и вградени тъкани, експресиращи антигена, ще останат стабилни, ако се съхраняват на хладно място (15–25 °C). Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) (Закон за подобряване на клиничната лаборатория) от 1988 г., 42CFR493.1259 (b), изисква следното: „Лабораторията трябва да съхранява предметните стъкла поне десет години от датата на изследването и да съхранява блокчетата от проби поне две години от датата на изследването“. Всяка лаборатория трябва да валидира стабилността на предметните стъкла за своите собствени процедури и условия околната среда за съхранение.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. За in vitro диагностична (IVD) употреба.
2. Само за професионална употреба.
3. **Предупреждение: Възможен канцероген.** Международната агенция за изследване на рака (International Agency for Research on Cancer, IARC) и Националната токсикологична програма на САЩ (National Toxicology Program, NTP) са включили бензидин, съединение, тясно свързано с 3,3'-диаминобензидин тетрахидрохлорид (DAB), като известен канцероген при хора.
4. Не използвайте за повече от определения брой тестове.
5. Разтворът ProClin 300 се използва като консервант в този разтвор. Той е класифициран като иритант и може да причини сенсibiliзация при контакт с кожата. При работа вземете разумни предпазни мерки. Избягвайте контакт на реактивите с очите, кожата и лигавиците. Използвайте защитно облекло и ръкавици.
6. Материалите от човешки или животински произход трябва да се третират като потенциално биологично опасни и да се изхвърлят при подходящи предпазни мерки. В случай на експозиция трябва да се спазват здравните директиви на отговорните органи.^{3,4}
7. Вземете разумни предпазни мерки при работа с реактиви. Избягвайте контакт на реактивите с очите, кожата и лигавиците. Използвайте ръкавици за еднократна употреба и носете подходящо защитно облекло при работа с материали със съмнения за канцерогенност или токсични материали.
8. Ако реактивите влязат в контакт с чувствителни зони, измийте обилно с вода. Избягвайте вдишването на реактиви.
9. Уверете се, че контейнерът за отпадъци е празен, преди да започнете цикъл с инструмента. Ако тази предпазна мярка не бъде взета, контейнерът за отпадъци може да прелее и потребителят рискува да се хлъзне и да падне.
10. Избягвайте микробно замърсяване на реактивите, тъй като това може да доведе до неправилни резултати.
11. За допълнителна информация относно употребата на това изделие вижте Ръководство на потребителя за инструмента BenchMark IHC/ISH, както и листовката за метода на всички необходими компоненти, на адрес navifyportal.roche.com.
12. Консултирайте се с местните и/или държавните власти за определяне на препоръчителния метод за изхвърляне.
13. Етиктирането за безопасност на продуктите следва основно насоките на ЕС за GHS. Информационен лист за безопасност е на разположение на професионалния потребител при поискване.
14. За да съобщите подозирани сериозни инциденти, свързани с това изделие, свържете се с местния представител на Roche и компетентния орган на държавата членка или държавата, в която е установен потребителят.

Този продукт съдържа компоненти, класифицирани, както следва, в съответствие с Регламент (ЕО) № 1272/2008:

Таб. 1. Информация за опасност.

Опасност	Код	Изявление
Опасност	H350	Може да причини рак.

Опасност	Код	Изявление
	H412	Вредно за водните организми с дълготрайни ефекти.
	P201	Получете специални инструкции преди употреба.
	P202	Не започвайте работа, докато не бъдат прочетени и разбрани всички предпазни мерки за безопасност.
	P273	Избягвайте изпускането в околната среда.
	P280	Носете защитни ръкавици/защитно облекло/предпазни средства за очи/лице/слух.
	P308 + P313	ПРИ явна или предполагаема експозиция: Потърсете медицински съвет/помощ.
	P501	Изхвърлете съдържанието/контейнера в одобрено депо за обезвреждане на отпадъци.

EUN208: Съдържа смес от: 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1). Може да причини алергична реакция.

ПРОЦЕДУРА

OptiView DAB IHC Detection Kit е разработен за употреба на инструменти BenchMark IHC/ISH в комбинация с първични антитела и спомагателни компоненти VENTANA. Параметрите за автоматизираните процедури може да бъдат показани, отпечатани и редактирани в съответствие с процедурата в Ръководство на потребителя за инструмента. Други работни параметри на инструмента са предварително зададени фабрично.

Процедурите за оцветяване на инструментите BenchMark IHC/ISH са, както следва. За по-подробни инструкции и допълнителни опции за протокол вижте Ръководството на потребителя. Дали дадена проба ще изисква Cell Conditioning, зависи от анти тялото. Моля, проверете листовката за метода на анти тялото за указания.

Инструменти BenchMark IHC/ISH

1. Приложете етикет с баркод на предметното стъкло, съответстващ на протокола, който трябва да се извърши.
2. Заредете първичното анти тяло, подходящите дозатори за комплекти за откриване и необходимия допълнителен реактив в тавата за реактиви и ги поставете върху инструмента.
3. Проверете напипните течности и изхвърлете отпадъците.
4. Заредете предметните стъкла върху инструмента.
5. Пуснете цикъла на оцветяване.
6. След завършване на цикъла отстранете предметните стъкла от инструмента.
7. Преминете към Препоръчителни процедури за обработка след инструмента.

Препоръчителни процедури за обработка след инструмента

1. Промийте предметните стъкла в мек препарат за миене на съдове, за да отстраните разтвора на течното покривно стъкло.
2. Изплакнете обилно предметните стъкла в дестилирана вода, за да отстраните целия препарат.
3. Дехидратирайте, изчистете и покрийте със среда за постоянно закрепване.

ПРОЦЕДУРА ЗА КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО

Положителна тъканна контрола

Положителна тъканна контрола трябва да се провежда при всяка извършена процедура на оцветяване. Оптималната лабораторна практика е да се включи положителен контролен срез на същото предметно стъкло като пациентската тъкан. Тази практика помага да се идентифицира неуспех в прилагането на първично анти тяло или друг критичен реактив върху тестовото предметно стъкло на пациента. Тъкан със слабо положително оцветяване е по-подходяща за оптимален контрол на качеството. Положителните оцветяващите се тъканни компоненти се използват, за да се потвърди, че анти тялото е приложено и инструментът функционира правилно. Тази тъкан може да съдържа както положителни, така и отрицателни оцветяващи се клетки или тъканни компоненти, и служи едновременно като положителна и отрицателна контролна тъкан. Контролните тъкани трябва да бъдат от пресни аутопсионни, биопсични или хирургични проби, подготвени или фиксирани възможно

най-скоро по начин, идентичен на тестовите срезове. Такива тъкани могат да проследяват всички стъпки на процедурата – от подготовката на тъканта до оцветяването. Използване на тъканен срез, фиксиран или обработен по различен начин от тестовата проба, ще осигури контрол за всички реактиви и етапи на метода, с изключение на фиксирането и обработката на тъкани.

Известните положителни тъканни контроли трябва да се използват само за проследяване на правилното функциониране на обработените тъкани и тестовите реактиви, а не като помощ при определяне на конкретна диагноза на пациентски проби. Ако положителните тъканни контроли не показват положително оцветяване, резултатите с тестовите проби трябва да се считат за невалидни.

Отрицателна тъканна контрола

Същата тъкан, използвана за положителна тъканна контрола, може да се използва като отрицателна тъканна контрола. Разнообразието от типове клетки, присъстващи в повечето тъканни срезове, предлага вътрешни отрицателни контролни места, но това трябва да бъде проверено от потребителя. Компонентите, които не се оцветяват, трябва да демонстрират липсата на специфично оцветяване и да осигуряват индикация за фоново оцветяване. Ако се появи специфично оцветяване в отрицателните тъканни контролни места, резултатите с пробите от пациента трябва да се считат за невалидни.

Необясними несъответствия

Необясними несъответствия по отношение на контролите трябва незабавно да бъдат отнесени до местния представител за поддръжка. Ако резултатите от контрола на качеството не отговарят на спецификациите, пациентските резултати са невалидни. Вижте раздела „Отстраняване на неизправности“ в тази листовка за метода. Идентифицирайте и коригирайте проблема, след което повторете пациентските проби.

Отрицателна реактивна контрола

За всяка проба трябва да се проведе отрицателна контрола на реактива, за да се подпомогне интерпретирането на резултатите. За оценка на неспецифичното оцветяване се използва отрицателната контрола на реактива вместо първичното анти тяло. Предметното стъкло трябва да бъде оцветено с анти тела Negative Control Mouse или Negative Control Rabbit, както е подходящо. Разредителят сам по себе си може да се използва като алтернатива на описаните по-горе отрицателни контроли на реактива. Инкубационният период за отрицателната контрола на реактива трябва да бъде равен на инкубационния период за първичното анти тяло.

Когато панели от няколко анти тела се използват върху серийни срезове, отрицателната контрола на реактива на едно предметно стъкло може да служи като отрицателна или неспецифична контрола за свързване на фона за други анти тела.

Проверка на анализа

Преди първоначалната употреба на първично анти тяло или система за оцветяване в диагностична процедура специфичността на първичното анти тяло трябва да бъде проверена, като се тества върху серия от тъкани с известни работни характеристики при имунохистохимия, представляващи известни положителни и отрицателни тъкани (вижте раздела „Положителна тъканна контрола“ в листовката за метода на първичното анти тяло и препоръките за контрол на качеството на College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist⁵ или CLSI Approved Guideline⁶, или и двата документа). Тези процедури за контрол на качеството трябва да се повтарят за всяка нова партида анти тяло или когато има промяна в параметрите на анализа. Тъканите, изброени в раздел „Работни характеристики“ на първичното анти тяло, са подходящи за проверка на анализа.

Интерпретиране на резултатите

OptiView DAB IHC Detection Kit предизвиква преципитат на оцветен в кафяво или в червено реакционен продукт на антигенните места, локализиращи от първичното анти тяло. Квалифициран патолог, който има опит в процедурите по имунохистохимия, трябва да оцени контролите и да класифицира оцветения продукт, преди да интерпретира резултатите. Първо трябва да се отбележи оцветяване на отрицателни контроли и тези резултати трябва да се сравнят с оцветения материал, за да се провери дали генерираният сигнал не е причината за неспецифични взаимодействия.

Положителна тъканна контрола

Оцветената положителна тъканна контрола трябва първо да бъде изследвана, за да се установи, че всички реактиви функционират правилно. Наличието на подходящо оцветен реакционен продукт в целевите клетки е показателно за положителна реактивност. В зависимост от продължителността на инкубация и мощността на

използвания хематоксилин оцветяването с контраст ще доведе до бледо до тъмносиво оцветяване на клетъчните ядра. Прекомерното или непълно оцветяване с контраст може да компрометира правилното интерпретиране на резултатите.

Ако положителната тъканна контрола не успее да покаже положително оцветяване, всички резултати с тестовите проби трябва да се считат за невалидни.

Отрицателна тъканна контрола

Отрицателната тъканна контрола трябва да се изследва след положителната тъканна контрола, за да се провери специфичното маркиране на таргетния антиген от първичното анти тяло. Липсата на специфично оцветяване в отрицателната тъканна контрола потвърждава липсата на кръстосана реактивност на анти тяла към клетки или клетъчни компоненти. Ако се появи специфично оцветяване в отрицателната тъканна контрола, резултатите с пробите от пациента трябва да се считат за невалидни.

Неспецифичното оцветяване, ако има такова, ще има дифузен вид. Може също така да се наблюдава спорадично леко оцветяване на съединителната тъкан в срезове от тъкани, които са прекомерно фиксирани с формалин. За интерпретиране на резултатите от оцветяването трябва да се използват интактни клетки. Некротичните или дегенерираните клетки често се оцветяват неспецифично.

Тъкан от пациента

Пробите от пациенти трябва да бъдат изследвани последни. Наситеността на положително оцветяване трябва да се оценява в контекста на всяко неспецифично фоново оцветяване на отрицателната контрола на реактива. Както при всеки тест с имунохистохимия, отрицателен резултат означава, че конкретният антиген не е бил открит, а не че антигенът липсва в изследваните клетки или тъкани. Ако е необходимо, използвайте панел от анти тяла, за да подпомогнете идентифицирането на фалшиво отрицателни реакции. Когато се интерпретира всеки имунохистохимичен резултат, също така трябва да се изследва морфологията на всяка тъканна проба, като се използва оцветен с хематоксилин и еозин срез. Морфологичните находки при пациента и съответните клинични данни трябва да бъдат интерпретирани от квалифициран патолог.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Общи ограничения

1. ИНС е многоетапен диагностичен процес, който изисква специализирано обучение за подбор на подходящите реактиви, тъканни селекции, фиксация, обработка, подготовка на имунохистохимичното предметно стъкло и интерпретация на резултатите от оцветяването.
2. Оцветяването на тъкани зависи от начина на работа с и обработка на тъканите преди оцветяване. Неправилната фиксация, замразяване, размразяване, измиване, изсушаване, нагряване, нарязване или замърсяване с други тъкани или течности може да доведе до артефакти, улавяне на анти тяло или фалшиво отрицателни резултати. Непоследователните резултати могат да бъдат следствие от вариации в методите за фиксация и вграждане или от присъщи нередности в тъканта.
3. Прекомерното или непълно оцветяване с контраст може да компрометира правилното интерпретиране на резултатите.
4. Клиничната интерпретация на всяко положително оцветяване или липсата му трябва да бъде оценена в контекста на клиничната анамнеза, морфологията и други хистопатологични критерии. Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или неговото отсъствие трябва да бъде допълнена с морфологични изследвания и подходящи контроли, както и с други диагностични тестове. Задължение на квалифициран патолог е да се запознае с анти тялата, реактивите и методите, използвани за интерпретиране на оцветения препарат. Оцветяването трябва да се извършва в сертифицирана, лицензирана лаборатория под наблюдението на патолог, който е отговорен за прегледа на оцветените предметни стъкла и който гарантира адекватността на положителните и отрицателните контроли.
5. Анти тялата и реактивите VENTANA се предоставят при оптимално разреждане за употреба при спазване на предоставените инструкции. Всяко отклонение от препоръчаните тестови процедури може да направи невалидни очакваните резултати. Трябва да се използват и документирант подходящи контроли. Потребителите, които се отклоняват от препоръчаните тестови процедури, трябва да поемат отговорност за тълкуването на пациентските резултати.
6. Реактивите могат да демонстрират неочаквани реакции в нетествани до този момент тъкани. Възможността за неочаквани реакции дори в тествани тъкани

групи не може да бъде напълно елиминирана поради биологичната променливост на експресията на даден антиген в новообразувания или други патологични тъкани.^{7,8} Свържете се с местния представител за поддръжка по отношение на документираните неочаквани реакции.

7. Тъкани от лица, инфектирани с вирус на хепатит В и съдържащи повърхностен антиген на хепатит В (HBsAg) може да проявят неспецифично оцветяване с хрянова пероксидаза.⁹
8. Когато се използват в стъпки за блокиране, нормалните серуми от един и същи животински източник като вторичните антисеруми, могат да доведат до фалшиво отрицателни или фалшиво положителни резултати поради автоанти тяла или естествени анти тяла.
9. Както при всеки имунохистохимичен тест, отрицателен резултат означава, че антигенът не е бил открит, а не че антигенът липсва в анализираният клетки или тъкан.

Специфични ограничения

1. Всяка стъпка от процедурата на комплекта за откриване е оптимизирана на инструментите BenchMark IHC/ISH и е налична. Поради вариациите във фиксирането и обработката на тъканите може да се наложи да се увеличи или намали времето на инкубиране на първичното анти тяло на отделните проби. Времето за инкубация на първичното анти тяло зависи от степента на фиксиране на тъканта и може да варира от 4 до 120 минути. За повече информация относно променливите на фиксация вижте „Immunohistochemistry Principles and Advances“¹⁰ или “Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist.”¹¹
2. Комплектът за откриване в комбинация с първичните анти тяла и аксесоари VENTANA открива антиген, който оцветява при рутинна обработка на тъкани и нарязване.
3. Този комплект за откриване е оптимизиран за употреба с промивен разтвор Reaction Buffer, първични анти тяла, аксесоари и инструменти BenchMark IHC/ISH. Употребата на промивен разтвор Reaction Buffer е важно за правилната функция на комплекта за откриване. Потребителите, които се отклоняват от препоръчаните тестови процедури, са отговорни за тълкуването на пациентските резултати при тези обстоятелства.
4. Този комплект за откриване е оптимизиран за употреба с LCS (Predilute) или ULTRA LCS (Predilute). LCS е предварително разреден разтвор за покривно стъкло, използван както като бариера между водните реактиви и въздуха, така и като реактив за отстраняване на парафин от тъканни проби по време на процеса на депарафинизация. Бариерата LCS намалява изпарението и предоставя стабилна водна среда за реакциите на ИНС или in situ хибридизация (ISH), проведени на инструменти BenchMark IHC/ISH.
5. Времена на инкубация и температури, различни от посочените, могат да дадат грешни резултати. Потребителят трябва да валидира всяка такава промяна. Възможно е не всички комплекти за откриване да са регистрирани на всеки инструмент. Моля, свържете се с Вашия местен представител за повече информация.
7. Препоръчителният фиксатор за употреба със системата за откриване OptiView е 10 % Neutral Buffered Formalin (NBF). Употребата на фиксатор Modified Davidson може да доведе до неприемливи резултати на оцветяване.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

АНАЛИТИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ

Работата на OptiView DAB IHC Detection Kit е оценена чрез изследвания на възпроизводимостта и други съответни проучвания. Всички оцветявания са проведени според протокола, както е отбелязано в листовката за метода на анти тялото на инструменти BenchMark IHC/ISH, освен ако не е посочено друго.

Тестването е включвало:

Чувствителност и специфичност

Тестване на специфичността, за да се демонстрира специфично откриване на миши и заешки първични анти тяла и приемливи нива на неспецифично фоново оцветяване, за да се гарантира, че интерпретацията на положителни и отрицателни резултати не е компрометирана.

Тестване на чувствителността, за да се демонстрира способността за откриване на първични анти тяла, свързани с ниски нива на антигени, с подходящи модели на оцветяване.

Точност

- Точност в рамките на цикъла и между циклите
- Точност в рамките на платформата и между платформите

Във всички случаи тъканните проби са били отчетени и установени за приемливи по отношение на подходящо и качествено оцветяване за морфологично клетъчно оцветяване. Всички проучвания отговарят на критериите за приемане.

ОТСТРАНЯВАНЕ НА НЕИЗПРАВНОСТИ

1. Ако положителната контрола показва по-слабо оцветяване от очакваното, трябва да се проверят други положителни контроли, пускани при един и същ цикъл на инструмента, за да се определи дали това се дължи на първичното анти тяло или на един от общите вторични реактиви.
2. Ако положителната контрола е отрицателна, трябва да се провери дали предметното стъкло е с правилния етикет с баркод. Ако предметното стъкло е етикетирано правилно, трябва да се проверят други положителни контроли, изпълнени при един и същ цикъл на инструмента, за да се определи дали това се дължи на първичното анти тяло или на един от общите вторични реактиви. Тъканите може да са взети, фиксирани или депарафинизирани неправилно. Трябва да се спазва правилната процедура за вземане, съхранение и фиксация.
3. Непълно отстраняване на парафин може да доведе до оцветяване на артефакти или липса на оцветяване.
 - Ако целият парафин не е отстранен от предметното стъкло, цикълът на оцветяване трябва да се повтори, като се използва опцията за удължена депарафинизация, ако е налична.
 - Като алтернатива може да се извърши ръчна депарафинизация извън инструмента. Ако се използва ръчната опция, премахнете онлайн депарафинизация от протокола за оцветяване, преди да заредите предметните стъкла на инструмента. Трябва да се обърне особено внимание, за да се гарантира, че предметните стъкла не са изсъхнали преди цикъла на оцветяване.
4. Ако оцветяването със специфично анти тяло е твърде интензивно, цикълът трябва да се повтори, като времето на инкубиране се съкращава с интервали от 4 минути, докато се постигне желаната интензивност на оцветяване.
5. Ако тъканните срезове се отмиват от предметното стъкло, предметните стъкла трябва да се проверят, за да се гарантира, че са заредени положително.
6. За коригиращи действия вижте раздела „Процедура“, Ръководството на потребителя за инструмента или се свържете с Вашия местен представител за поддръжка.
7. Ако дозаторът за реактива не дозира течност, проверете камерата за пълнене или менисуса за наличие на чужди материали или частици, като влакна или преципитати. Ако дозаторът е блокиран, не използвайте дозатора и се свържете с местния представител за поддръжка. В противен случай напълнете повторно дозатора, като завъртите дозатора над контейнер за отпадъци, премахнете капачката на дюзата и натиснете върху горната част на дозатора. Вижте листовката за метод за вграден дозатор, свързана P/N 760-700, за информация относно правилната употреба.
8. Може да се прояви ендегенна пероксидазна активност, ако Peroxidase Inhibitor не е избран преди или след първичното анти тяло. Настройката по подразбиране на рецептата е без приложение. При установяване на протокол операторът трябва да избере кога да се прилага Peroxidase Inhibitor, ако желае това.
9. В резултат на смилането с протеаза може да възникне нежелателно оцветяване на плазмените клетки и мастоцитите. Отрицателната тъканна контрола трябва да се оцени, за да се посочи нивото на фоново оцветяване в сравнение с положително оцветения резултат.⁸

РЕФЕРЕНЦИИ

1. 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.
2. Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
3. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.

4. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 Jun 2020 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
5. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2009.
6. 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.
7. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem. 1991;66(4):194-199.
8. Hautzer NW, Wittkuhn JF, Elliott-McCaughy WT. Trypsin Digestion in Immunoperoxidase Staining. Jour of Histochem and Cytochem. 1980;28:52-53.
9. 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.
10. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
11. Taylor C, Cote RJ. Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist. 2nd Edition. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company; 1986.

ЗАБЕЛЕЖКА: В този документ винаги се използва точка като десетичен разделител за маркиране на границата между интегралната и дробната част на десетично число. Разделители за хиляди не се използват.

Символи

Ventana използва следните символи и знаци в допълнение към изброените в стандарта ISO 15223-1 (за USA : вижте elabdoc.roche.com/symbols за повече информация).



Глобален номер на търговска единица

Rx only

За USA: Внимание: Федералният закон ограничава продажбата на това изделие от или по указание на лекар.

ИСТОРИЯ НА РЕДАКЦИИТЕ

Ред.	Актуализации
F	Актуализации на раздела „Предупреждения и предпазни мерки“ съгласно текущия шаблон.

ИНТЕЛЕКТУАЛНА СОБСТВЕНОСТ

VENTANA, BENCHMARK и OPTIVIEW са търговски марки на Roche.

Всички останали продуктови названия и търговски марки са собственост на съответните им собственици

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

ИНФОРМАЦИЯ ЗА КОНТАКТ



Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, AZ 85755
USA

+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.roche.com



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

