

OptiView DAB IHC Detection Kit

REF

760-700

06396500001

IVD

Σ 250

KULLANIM AMACI

OptiView DAB IHC Detection Kit (OptiView); fare IgG, fare IgM ve tavşan primer antikorlarının saptanmasına yönelik, indirekt ve biyotin içermeyen bir sistemdir. Kit VENTANA otomatik slayt boyama aletleri üzerinde boyanan ve ışık mikroskopuyla görselleştirilen, formalinle sabitlenmiş, parafine gömülü ve dondurulmuş doku kesitlerinde immünohistokimya (IHC) yoluyla hedeflerin tespit edilmesine yöneliktir. Her türlü boyamanın veya boyama yokluğunun klinik yorumlaması, morfolojik çalışmalar ve uygun kontrollerin değerlendirilmesi eşliğinde yapılmalıdır.

Bu ürün, kalifiye bir patolog tarafından histolojik inceleme, ilgili klinik bilgiler ve doğru kontrollerle birlikte yorumlanmalıdır.

Bu ürün, *in vitro* diagnostik (IVD) kullanıma yöneliktir.

ÖZET VE AÇIKLAMA

İmmünohistokimya (IHC) laboratuvarlarda teşhis amaçlarıyla kullanılan bir tekniktir. IHC, sabitlenmiş veya dondurulmuş doku kesitlerinde antijenleri lokalize etmeleri ve bunlara bağlanmaları için belirli primer antikorlardan yararlanır. Antikorum antijene bağlanması bir indirekt saptama yöntemiyle görselleştirilir. Indirekt yöntemlere yönelik en yaygın teknikler primer antikor türüne yöneltilen ikincil bir antikordan ve ilgili bir substrat-kromojen sistemine sahip bir enzimden yararlanır. Bu kombinasyon ilgili antikor bağlanma bölgesinde renkli bir çökeltiyle sonuçlanır. OptiView DAB IHC Detection Kit kahverengi bir çökelti oluşturarak antijenlere bağlı belirli antikorları görselleştirmek için indirekt bir yöntemden yararlanır.

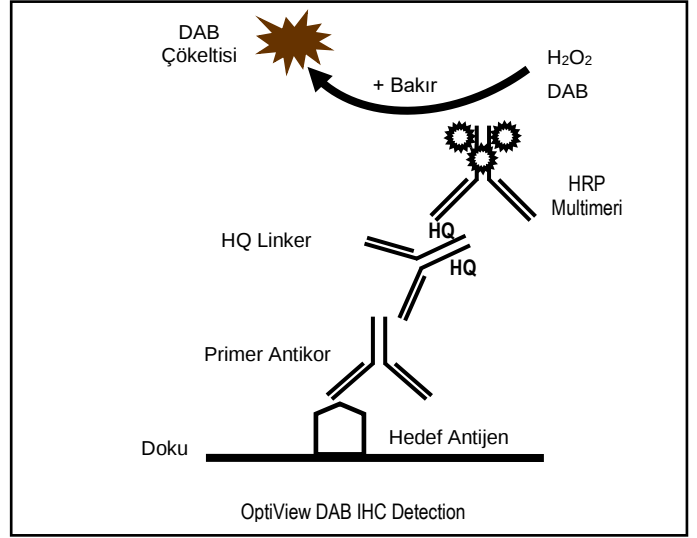
PROSEDÜR PRENSİBİ

OptiView DAB IHC Detection Kit, formalinle sabitlenmiş, parafine gömülü (FFPE) veya dondurulmuş doku kesitlerinde bir antijene bağlı olan spesifik fare ve tavşan primer antikorlarını saptar. Spesifik antikorum yeri, enzim etiketli üçüncül bir antikor tarafından bağlanan spesifik bir sekonder antikor tarafından bulunur. Ardından kompleks ışık mikroskobu ile kolayca gözlemlenebilen kahverengi bir çökelti oluşturan hidrojen peroksit substratı ve 3, 3'-diaminobenzidin tetrahidroklorür (DAB) kromojeni ile görselleştirilir.

Boyama protokolü, reaktiflerin belirli sıcaklıklarda önceden belirlenmiş sürelerle inkübe edildiği çeşitli adımlardan oluşur. Her bir inkübasyon adımının sonunda BenchMark IHC/ISH cihazı bağlanmayan materyali gidermek için kesitleri yıkar ve slayttan aköz reaktiflerin buharlaşmasını en aza indiren sıvı bir lamel uygular.¹ Sonuçlar bir ışık mikroskobu kullanılarak yorumlanır ve belirli bir antijenle ilişkili olabilen veya olmayabilen patofizyolojik süreçlerin ayırt edici teşhisine yardımcı olur.

Cihaz çalıştırmaya dair ayrıntılı bilgiler için ilgili Kullanıcı Kılavuzuna bakın.

Şekil 1, indirekt saptama yöntemini göstermektedir.



Şekil 1 OptiView DAB IHC Detection Kit.

MATERYAL VE METOTLAR

Ürünle Birlikte Verilen Malzeme

OptiView DAB IHC Detection Kit, 250 test için yeterli miktarda reaktif içerir.

Bir adet 25 mL dağıtıcı	OptiView Peroxidase Inhibitor %3.0 hidrojen peroksit çözeltisi içerir.
Bir adet 25 mL dağıtıcı	OptiView HQ Universal Linker, bir koruyucu olan %0.05 ProClin 300 ile birlikte protein içeren bir tamponda, HQ etiketli (HQ, keçi antikorlarına kovalent bağlanan tescilli bir haptendir) antikorlardan (keçi anti-fare IgG, keçi anti-fare IgM ve keçi anti-tavşan) (yaklaşık 50 µg/mL) oluşan bir kokteyl içerir.
Bir adet 25 mL dağıtıcı	OptiView HRP Multimer, bir koruyucu olan %0.05 ProClin 300 ile protein içeren bir tampon içinde, bir fare monoklonal anti-HQ etiketli HRP üçüncül antikoru (yaklaşık 40 µg/mL) içerir.
Bir adet 25 mL dağıtıcı	OptiView DAB tescilli bir koruyucu ile birlikte tescilli bir stabilize edici çözelti içinde %0.2 a/h 3,3'-diaminobenzidin tetrahidroklorür (DAB) içerir.
Bir adet 25 mL dağıtıcı	OptiView H2O2 bir fosfat tampon çözeltisi içinde %0.04 hidrojen peroksit içerir.
Bir adet 25 mL dağıtıcı	OptiView Copper, tescilli bir koruyucu ile birlikte bir asetat tamponu içinde bakır sülfat (5.0 g/L) içerir.

Sulandırma, Karıştırma, Seyreltme, Titrasyon

Saptama kiti, BenchMark IHC/ISH cihazları üzerinde kullanım için optimize edilmiştir. Kit reaktiflerinde sulandırma, karıştırma, seyreltme veya titrasyon gerekmez. Ek seyreltme boyama kaybına yol açabilir.

Gerekli Olan Fakat Ürünle Birlikte Verilmeyen Malzemeler

VENTANA primer antikörleri gibi boyama reaktifleri ve negatif ve pozitif doku kontrol slaytlarını da içeren yardımcı bileşenler, ürünle birlikte verilmemektedir.

Yöntem tablosunda listelenen ürünlerin hepsi tüm bölgelerde mevcut olmayabilir. Yerel destek temsilcinizle iletişime geçin.

Aşağıda yer alan reaktifler ve malzemeler boyama için gerekli olabilir fakat saptama kiti ile birlikte verilmez:

1. Primer antikor
2. Negatif kontrol reaktif
3. Önerilen doku kontrolleri
4. OptiView Amplification Kit (Kat. No. 760-099 / 06396518001 (50 test) veya 860-099 / 06718863001 (250 test))
5. Protease 1 (Kat. No. 760-2018 / 05266688001)
6. Protease 2 (Kat. No. 760-2019 / 05266696001)
7. Protease 3 (Kat. No. 760-2020 / 05266718001)
8. Hematoxylin (Kat. No. 760-2021 / 05266726001)
9. Hematoxylin II (Kat. No. 790-2208 / 05277965001)
10. Bluing Reagent (Kat. No. 760-2037 / 05266769001)
11. Reaction Buffer Concentrate (10X) (Kat. No. 950-300 / 05353955001)
12. Cell Conditioning Solution (CC1) (Kat. No. 950-124 / 05279801001)
13. Cell Conditioning Solution (CC2) (Kat. No. 950-123 / 05279798001)
14. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (Kat. No. 950-224 / 05424569001)
15. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (Kat. No. 950-223 / 05424542001)
16. Antibody Diluent (Kat. No. 251-018 / 05261899001)
17. EZ Prep Concentrate (10X) (Kat. No. 950-102 / 05279771001)
18. LCS (Predilute) (Kat. No. 650-010 / 05264839001)
19. ULTRA LCS (Predilute) (Kat. No. 650-210 / 05424534001)
20. BenchMark IHC/ISH cihazı
21. Mikroskop slaytları, pozitif yüklü
22. Dokuyu örtmek için yeterli lamel ve lamel yöntemi
23. Genel amaçlı laboratuvar ekipmanı

Saklama ve Stabilite

Alındıktan sonra ve kullanmadığınız zamanlarda 2-8 °C'de saklayın. Dondurmayın. Kullanıcı yöntem tablosunda belirtilenlerin dışındaki tüm saklama koşullarını doğrulamalıdır. Bu saptama kiti soğutucudan çıkarıldıktan hemen sonra kullanılabilir.

Reaktifin uygun bir şekilde uygulandığından ve her bir reaktifin stabilitesinden emin olmak için dağıtıcı kapağını her kullanımdan sonra yerine takın ve dağıtıcıyı derhal soğutucuya dikey konumda yerleştirin.

Her saptama kitinin bir son kullanma tarihi vardır. Düzgün bir şekilde saklanması halinde, ürün etikette belirtilen tarihe kadar stabil kalır. Ürünü belirtilen saklama yöntemine yönelik son kullanma tarihinden sonra kullanmayın. Bu üründe instabiliteyi gösterecek kesin işaretler yoktur; dolayısıyla bilinmeyen numunelerle eş zamanlı olarak pozitif ve negatif kontroller çalıştırılmalıdır. Reaktif instabilitesine yönelik bir işaret olması durumunda derhal yerel destek temsilcisi ile irtibat kurulmalıdır.

Numune Toplama ve Analiz için Hazırlama

FFPE dokular OptiView DAB Detection Kit ve BenchMark IHC/ISH cihazları ile kullanıma uygundur (bkz. Gerekli Olan Fakat Ürünle Birlikte Verilmeyen Malzemeler kısmı). Tavsiye edilen doku sabitleyici %10 nötr tamponlu formalindir (NBF).² Doku kesiti kalınlığı, fiksasyon türü, eksik, uzun süreli fiksasyon veya kemik iliği preparatlarında dekalsifikasyon gibi özel süreçlerden dolayı değişken sonuçlar meydana gelebilir.

Her bir kesit kullanılmakta olan primer antikor için uygun kalınlıkta (2-5 µm) kesilmeli ve pozitif yüklü cam bir mikroskop slaydı üzerine yerleştirilmelidir. Doku kesitinin bulunduğu slaytlar, fırınlanmadan önce kesit altındaki fazla suyu gidermek için oda sıcaklığında en az 15 dakika boyunca dikey konumda kurutulmalıdır. Slaytlar, 60 °C ± 5 °C sıcaklığında bir fırında bir saat boyunca fırınlanabilir/ısıtılabilir veya 37 °C'de 24 saate kadar havada kurutulabilir. Slayt kurutma ve ısıtma, slayda sabitleme sonrasında dokuyu kurutmak ve dokunun cama daha iyi yapışmasını sağlamak için kullanılır. Isıtma kısıtlamalarını belirlemek için primer antikor yöntem tablosuna başvurun. Dokunun uzun süreli ısıtılması antijen kullanılabilirliğinin azalmasıyla sonuçlanabilir.

Antijeni eksprese eden, uygun şekilde sabitlenmiş ve gömülmüş dokular serin bir yerde (15-25 °C) saklanmaları durumunda stabil kalırlar. 1988 tarihli Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA), 42CFR493.1259 (b) "Laboratuvar, slaytları tetkik tarihinden

itibaren en az on yıl, numune bloklarını ise tetkik tarihinden itibaren en az iki yıl saklamalıdır" gerekliliğini şart koşar. Her laboratuvar, kesilen slayt stabilitesini kendi prosedürleri ve çevresel saklama koşulları bakımından doğrulamalıdır.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. İn vitro diagnostik (IVD) kullanıma yöneliktir.
2. Sadece profesyonel kullanım içindir.
3. **Uyarı: Olası karsinojen.** International Agency for Research on Cancer (IARC) ve US National Toxicology Program (NTP), 3, 3'-diaminobenzidin tetrahidroklorür (DAB) ile yakından ilişkili bir bileşik olan benzinidin bilinen bir insan karsinojeni olarak listelemiştir.
4. Belirtilen test sayısının üzerinde kullanmayın.
5. ProClin 300 çözeltisi, bu çözeltide koruyucu olarak kullanılmıştır. Tahriş edici olarak sınıflandırılmıştır ve deriyle temas ettiğinde hassasiyete yol açabilir. Kullanırken uygun önlemleri alın. Reaktiflerin göz, deri ve mukoz membranlarla temas etmesini önleyin. Koruyucu giysi ve eldiven kullanın.
6. İnsan veya hayvan kaynaklı materyaller, potansiyel açıdan biyoteknikli oldukları varsayılarak kullanılmalı ve uygun önlemler alınarak atılmalıdır. Maruz kalma durumunda, sorumlu otoritelerin sağlık direktifleri izlenmelidir.^{3,4}
7. Reaktifleri kullanırken uygun önlemleri alın. Reaktiflerin göz, deri ve mukoz membranlarla temas etmesini önleyin. Kuşkuyla kullanılan karsinojenleri veya toksik malzemeleri kullanırken tek kullanımlık eldivenlerden yararlanın ve uygun koruyucu kıyafetler giyin.
8. Reaktifler hassas bölgelerle temas ederse bu bölgeleri bol suyla yıkayın. Reaktiflerin solunmasından kaçının.
9. Cihazda bir işlem başlatmadan önce atık kabının boş olduğundan emin olun. Bu önlemin alınmaması durumunda atık kabı taşabilir ve kullanıcı kayıp düşme riski altında olur.
10. Yanlış sonuçlar üretebileceği için reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonundan kaçının.
11. Bu cihazın kullanımı hakkında daha fazla bilgi için BenchMark IHC/ISH cihazı Kullanıcı Kılavuzuna ve tüm gerekli bileşenlerin navifyportal.roche.com adresinde bulunan yöntem tablolarına bakın.
12. Önerilen imha yöntemine karar vermek için yerel ve/veya resmi kurumlara danışın.
13. Ürün güvenliği etiketi, öncelikli olarak EU GHS yönergelerini izler. Güvenlik bilgi formu profesyonel kullanıcı için talep üzerine temin edilir.
14. Bu cihazla ilgili şüphelenilen ciddi olayları raporlamak için yerel Roche temsilcisi ve kullanıcının bulunduğu Üye Devlet veya Ülkenin yetkili makamıyla iletişime geçin.

Bu ürün, Düzenleme (EC) No. 1272/2008 uyarınca aşağıdaki şekilde sınıflandırılan bileşenler içermektedir:

Tablo 1 Tehlike bilgileri.

Tehlike	Kod	Beyan
	H350	Kansere yol açabilir.
	H412	Uzun süreli etkilere su yaşamı için zararlıdır.
	P201	Kullanımdan önce özel talimatları edinin.
	P202	Tüm güvenlik önlemleri okunup anlaşılana kadar kullanmayın.
	P273	Çevreye salınımından kaçının.
	P280	Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/koruyucu gözlük/yüz koruması/işitme koruması kullanın.
	P308 + P313	Maruz kalmışsanız veya endişe duyarsanız: Tıbbi tavsiye/yardım alın.
	P501	İçerikli/kabı uygun bir atık imha tesisine atın.

EUH208: Şu Karışımı içerir: 5-kloro-2-metil-4-izotiazolin-3-on ve 2-metil-2H-izotiazol-3-on (3:1). Alerjik reaksiyona neden olabilir.

PROSEDÜR

OptiView DAB IHC Detection Kit, BenchMark IHC/ISH cihazları üzerinde VENTANA primer antikörleri ve yardımcı bileşenleriyle birlikte kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Otomatik prosedürlere ilişkin parametreler, cihazın Kullanıcı Kılavuzundaki prosedüre göre

görüntülenebilir, yazdırılabilir ve düzenlenebilir. Cihaza yönelik diğer çalışma parametreleri fabrikada önceden ayarlanmıştır.

BenchMark IHC/ISH cihazları üzerinde boyama için prosedürler aşağıdaki gibidir. Daha ayrıntılı talimatlar ve ek protokol seçenekleri için Kullanıcı Kılavuzunuza bakın. Bir örneğin Cell Conditioning gerektirip gerektirmediği antikora bağlıdır. Lütfen talimatlar için antikor yöntem tablosunu kontrol edin.

BenchMark IHC/ISH Cihazları

1. Gerçekleştirilecek protokole karşılık gelen slayt barkod etiketini uygulayın.
2. Primer antikor, uygun saptama kiti dağıtıcılarını ve gerekli yardımcı reaktif reaktif tepsinine yükleyin ve bunları cihaza yerleştirin.
3. Hacimli sıvıları kontrol edin ve atıkları boşaltın.
4. Slaytları cihaza yükleyin.
5. Boyama işlemini başlatın.
6. İşlem tamamlandığında slaytları cihazdan çıkarın.
7. Önerilen Cihaz İşleme Sonrası Prosedürler geçin.

Önerilen Cihaz İşleme Sonrası Prosedürler

1. Lamel çözeltisini gidermek için slaytları hafif bir bulaşık deterjanıyla yıkayın.
2. Tüm deterjanı gidermek için slaytları distile su ile iyice durulayın.
3. Dehidre edin, temizleyin ve kalıcı sabitleme ortamlarıyla lamelleyin.

KALİTE KONTROL PROSEDÜRÜ

Pozitif Doku Kontrolü

Gerçekleştirilen her boyama prosedürü için bir pozitif doku kontrolü çalıştırılmalıdır. En uygun laboratuvar uygulaması, hasta dokusuyla aynı slayt üzerinde bir pozitif kontrol kesiti dahil etmektir. Bu uygulama primer antikorun veya diğer kritik reaktiflerin hasta test slaydına uygulanmadığı durumların tespit edilmesine yardımcı olur. Pozitif boyama, yaygın doku, optimum kalite kontrol için daha uygundur. Pozitif boyama doku bileşenleri antikorun uygulandığını ve cihazın uygun şekilde işlev gösterdiğini teyit etmek için kullanılır. Bu doku, hem pozitif hem de negatif boyama hücre veya doku bileşenleri içerebilir ve hem pozitif hem de negatif kontrol dokusu görevi görebilir. Kontrol dokuları, test kesitleriyle aynı şekilde mümkün olan en kısa sürede hazırlanmış veya sabitlenmiş taze otopsi, biyopsi numunesi veya cerrahi numuneler olmalıdır. Bu gibi dokular, doku hazırlığından boyamaya kadar prosedürün tüm adımlarını izleyebilir. Test numunesinden farklı şekilde sabitlenmiş veya işlenmiş bir doku kesitinin kullanılması, tüm reaktifler ve fiksasyon ile doku işleme hariç yöntem adımları için kontrol sağlar.

Bilinen pozitif doku kontrolleri, hasta örneklerinin spesifik teşhisinin belirlenmesinde bir yardımcı olarak değil, yalnızca işlenen dokuların ve test reaktiflerinin doğru performansını izlemek için kullanılmalıdır. Pozitif doku kontrolleri pozitif boyama ortaya koyamazsa test numuneleri sonuçları geçersiz sayılmalıdır.

Negatif Doku Kontrolü

Pozitif doku kontrolü için kullanılan dokunun aynısı negatif doku kontrolü olarak kullanılabilir. Çoğu doku kesitinde bulunan çeşitli hücre türleri, dahili negatif kontrol bölgeleri sağlar ancak bu, kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır. Boyanmayan bileşenler, spesifik boyamanın yokluğunu göstermeli ve arka plan boyamasına dair bir gösterge sağlamalıdır. Negatif doku kontrolü bölgelerinde, spesifik boyamanın gerçekleşmesi durumunda hasta numunelerinin sonuçları geçersiz kabul edilmelidir.

Açıklanamayan Uyuşmazlıklar

Kontrollerde açıklanamayan uyuşmazlıklar derhal yerel destek temsilcisine yönlendirilmelidir. Kalite kontrol sonuçlarının spesifikasyonları karşılamaması durumunda hasta sonuçları geçersiz olur. Bu yöntem tablosunun Sorun Giderme kısmına bakın. Sorunu tespit edip düzeltin, ardından hasta örneklerini tekrarlayın.

Negatif Reaktif Kontrolü

Her numune için sonuçların yorumlanmasına yardımcı olacak bir negatif reaktif kontrolü çalıştırılmalıdır. Non-spesifik boyamanın değerlendirilmesi için primer antikor yerine bir negatif reaktif kontrolü kullanılır. Slayt, duruma göre uygun şekilde Negative Control Mouse veya Negative Control Rabbit ile boyanmalıdır. Seyreltilmiş tek başına daha önce açıklanan negatif reaktif kontrollerine alternatif olarak kullanılabilir. Negatif reaktif kontrolü için inkübasyon süresi, primer antikor inkübasyon süresine eşit olmalıdır.

Seri kesitlerde birçok antikordan oluşan paneller kullanıldığında, bir slayttaki negatif reaktif kontrolü, diğer antikorlar için negatif veya spesifik olmayan bağlayıcı bir arka plan kontrolü görevi görebilir.

Tayin Doğrulaması

Diagnostik bir prosedürde bir primer antikorun veya boyama sisteminin ilk kullanımından önce, primer antikorun spesifitesi bunun bilinen pozitif ve negatif dokuları temsil eden bilinen immünohistokimya performans özellikleri ile bir dizi doku üzerinde test edilmesi yoluyla doğrulanmalıdır (primer antikor yöntem tablosundaki Pozitif Doku Kontrolü kısmına ve College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist,⁵ Kalite Kontrol önerilerine veya CLSI Approved Guideline⁶ ya da her iki belgeye birden bakın). Bu kalite kontrol prosedürleri her yeni antikor lotu için veya tayin parametrelerinde her değişiklik olduğunda tekrarlanmalıdır. Primer antikorun Performans Özellikleri kısmında listelenen dokular, tayin doğrulaması için uygundur.

Sonuçların Yorumlanması

OptiView DAB IHC Detection Kit, primer antikor tarafından lokalize edilen antijen bölgelerinde kahverengi veya kırmızı bir reaksiyon ürününün göklemesine yol açar. İmmünohistokimya prosedürlerinde deneyimli bir uzman patolog, sonuçların yorumlanmasından önce kontrolleri değerlendirmeli ve boyanmış ürünün nitelendirilmelidir. Önce negatif kontrollerin boyanması dikkate alınmalı ve bu sonuçlar oluşturulan sinyalin nonspesifik etkileşimlerin nedeni olmadığını doğrulamak üzere boyanan materyalle karşılaştırılmalıdır.

Pozitif Doku Kontrolü

Tüm reaktiflerin uygun şekilde işlev gösterdiğinden emin olmak için ilk olarak boyalı pozitif doku kontrolü incelenmelidir. Hedef hücreleri içinde uygun şekilde renkli bir reaksiyon ürününün varlığı pozitif reaktiviteye işaret eder. İnkübasyon uzunluğuna ve kullanılan hematoksilinin kuvvetine bağlı olarak, karşıt boyama hücre çekirdeklerinde soluk mavi ile koyu mavi arası bir renklenmeyle sonuçlanır. Aşırı veya eksik karşıt boyama, sonuçların uygun şekilde yorumlanmasını engelleyebilir.

Pozitif doku kontrolü pozitif boyama ortaya koyamazsa test numunelerinin tüm sonuçları geçersiz sayılmalıdır.

Negatif Doku Kontrolü

Negatif doku kontrolü, hedef antijenin primer antikor tarafından spesifik etiketlenmesini doğrulamak için pozitif doku kontrolünden sonra incelenmelidir. Negatif doku kontrolünde spesifik boyamanın bulunmaması, hücreler veya selüler bileşenlerde antikor çapraz reaksiyonunun yokluğunu doğrular. Negatif doku kontrolünde spesifik boyamanın gerçekleşmesi durumunda hasta numunesinin sonuçları geçersiz kabul edilmelidir.

Mevcutsa non-spesifik boyama dağınık bir görünüme sahiptir. Aşırı miktarda formalinle sabitlenmiş doku kesitlerinde, bağ dokusunda sporadik hafif boyama da gözlemlenebilir. Boyama sonuçlarının yorumlanması için intakt hücreler kullanılmalıdır. Nekrotik veya dejenere hücreler sıklıkla non-spesifik boyanır.

Hasta Dokusu

Hasta numuneleri en son incelenmelidir. Pozitif boyama yoğunluğu, negatif reaktif kontrolünün herhangi bir non-spesifik arkaplan boyaması bağlamında değerlendirilmelidir. Her immünohistokimya testinde olduğu gibi negatif bir sonuç, ilgili antijenin test edilen hücrelerde veya dokularda bulunmadığı değil, saptanmadığı anlamına gelir. Gerekmesi durumunda yanlış negatif reaksiyonların tespitine yardımcı olması için bir antikor paneli kullanın. Herhangi bir immünohistokimya sonucu yorumlanırken her bir doku örneğinin morfolojisi aynı zamanda hematoksilin ve eozin boyalı bir kesitten de yararlanılarak incelenmelidir. Hastanın morfolojik bulguları ve ilgili klinik verileri uzman bir patolog tarafından yorumlanmalıdır.

KISITLAMALAR

Genel Kısıtlamalar

1. IHC; uygun reaktiflerin seçimi, doku seçimleri, fiksasyon, işleme, immünohistokimya slaydının hazırlanması ve boyama sonuçlarının yorumlanması konusunda özel eğitim gerektiren çok adımlı bir diagnostik işlemdir.
2. Doku boyaması, dokunun boyanmadan önceki kullanımı ve işlenmesine bağlıdır. Uygun olmayan fiksasyon, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit çıkarma veya başka doku ya da sıvılarla kontaminasyon, artefaktlara, antikor hapsolmesine veya yanlış negatif sonuçlara yol açabilir. Tutsarız sonuçlar, fiksasyon ve gömme yöntemlerindeki farklılıklardan veya doku içindeki yapısal düzensizliklerden kaynaklanabilir.
3. Aşırı veya eksik karşıt boyama, sonuçların uygun şekilde yorumlanmasını engelleyebilir.
4. Herhangi bir pozitif boyamanın veya pozitif boyama bulunmamasının klinik yorumlaması, klinik geçmiş, morfoloji ve diğer histopatolojik kriterler bağlamında değerlendirilmelidir. Her türlü boyamanın veya boyama bulunmamasının klinik

yorumlaması, morfolojik çalışmalar ve uygun kontrollerin yanı sıra başka diagnostik testler ile tamamlanmalıdır. Boyalı preparatı yorumlamak için kullanılan antikorlar, reaktifler ve yöntemlere aşina olmak, uzman patoloğun sorumluluğundadır. Boyama, sertifikalı ve ruhsatlı bir laboratuvar, boyalı slaytların incelenmesinden ve pozitif ve negatif kontrollerin yeterliliğini sağlamaktan sorumlu bir patolog gözetiminde gerçekleştirilmelidir.

5. VENTANA antikorları ve reaktifleri, verilen talimatlar izlendiğinde, kullanım için en uygun seyreltme oranında sağlanır. Önerilen test prosedürlerinden her türlü sapma, beklenen sonuçları geçersiz kılabilir. Uygun kontroller kullanılmalı ve belgelenmelidir. Önerilen test prosedürlerinden sapan kullanıcılar, hasta sonuçlarının yorumlanmasına ilişkin sorumluluğu kabul etmelidir.
6. Reaktifler, önceden test edilmemiş dokularda beklenmedik reaksiyonlar sergileyebilir. Neoplazmalardaki antijen ekspresyonunun veya diğer patolojik dokuların biyolojik değişkenliği nedeniyle, test edilmiş doku gruplarında dahi, beklenmeyen reaksiyon görülmeye olasıdır; tamamen elimine edilemez.^{7,8} Beklenmeyen reaksiyonları belgeleyerek yerel destek temsilciniz ile iletişime geçin.
7. Hepatit B virüsü ile enfekte olan kişilerden alınan ve hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) içeren dokular, yaban turpu peroksidazı ile non-spesifik boyama sergileyebilir.⁹
8. Blokama adımlarında kullanıldığında, ikincil antiserum ile aynı hayvansal kaynaktan elde edilen normal serum, otoantikorlar veya doğal antikorlar nedeniyle yanlış negatif veya yanlış pozitif sonuçlara neden olabilir.
9. Her immünohistokimya testinde olduğu gibi negatif bir sonuç, antijenin test edilen hücrelerde veya dokularda bulunmadığı değil, saptanamadığı anlamına gelir.

Özel Kısıtlamalar

1. Saptama kiti prosedürünün her bir adımı BenchMark IHC/ISH cihazlarında optimize edilmiş ve önceden ayarlanmıştır. Doku fiksasyonu ve işlemindeki değişkenlik nedeniyle ayrı numuneler üzerinde primer antikor inkübasyon süresinin artırılması veya azaltılması gerekebilir. Primer antikor inkübasyon süresi doku fiksasyonu derecesine bağlıdır ve 4 ile 120 dakika arasında olabilir. Fiksasyon değişkenleri hakkında daha fazla bilgi için, bkz. "Immunohistochemistry Principles and Advances"¹⁰ veya "Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist".¹¹
2. Saptama kiti, VENTANA primer antikorları ve aksesuarları ile birlikte, rutin doku işleme ve kesit çıkarma sonrasında kalan antijeni saptar.
3. Bu saptama kiti Reaction Buffer yıkama çözeltisi, primer antikorlar, aksesuarlar ve BenchMark IHC/ISH cihazlarıyla kullanım için optimize edilmiştir. Saptama kitinin uygun şekilde işlev görmesi için Reaction Buffer yıkama çözeltisi kullanımı önem taşır. Önerilen test prosedürlerinden sapan kullanıcılar, söz konusu koşullar altında hasta sonuçlarının yorumlanmasından sorumludur.
4. Bu saptama kiti, LCS (Predilute) veya ULTRA LCS (Predilute) ile birlikte kullanılmak üzere optimize edilmiştir. LCS, hem aköz reaktifler ile hava arasında bir bariyer, hem de deparafinizasyon işlemi esnasında doku örneklerinden parafinin giderilmesine yönelik bir reaktif olarak kullanılan, önceden seyreltilmiş bir lamel çözeltisidir. LCS bariyeri buharlaşmayı azaltır ve BenchMark IHC/ISH cihazlarında gerçekleştirilen IHC veya in situ hibridizasyon (ISH) reaksiyonları için stabil bir aköz ortam sağlar.
5. Belirtilenler dışında inkübasyon süreleri ve sıcaklıkları hatalı sonuçlar verebilir. Kullanıcı bu tür bir değişikliği doğrulamalıdır.
6. Tüm saptama kitleri her cihaz üzerinde kayıtlı olmayabilir. Daha fazla bilgi için lütfen yerel destek temsilcinizle iletişime geçin.
7. OptiView saptama sistemi ile kullanılması önerilen sabitleyici %10 Neutral Buffered Formalin (NBF) ürünüdür. Modified Davidson sabitleyicinin kullanılması, kabul edilemez boyama sonuçlarına yol açabilir.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

ANALİTİK PERFORMANS

OptiView DAB IHC Detection Kit performansı tekrarlanabilirlik ve diğer ilgili çalışmalar üzerinden değerlendirilmiştir. Tüm boyama, aksi belirtilmedikçe, antikor yöntem tablosunda belirtilen protokol kullanılarak, BenchMark IHC/ISH cihazlarında gerçekleştirilmiştir.

Test çalışmaları aşağıdakileri içermiştir:

Hassasiyet ve Spesifite

Pozitif ve negatif sonuçların yorumlanmasının olumsuz yönde etkilenmediğinden emin olmak için fare ve tavşan primer antikorlarının spesifik saptamasını ve non-spesifik arka plan boyamasının kabul edilebilir seviyelerini gösterme amaçlı spesifite testi.

Uygun boyama modelleriyle, düşük seviyede antijenlere bağlanan primer antikorları saptama kabiliyetini gösterme amaçlı hassasiyet testi.

Kesinlik

- İşlem içi ve işlemler arası kesinlik
- Platform içi ve platformlar arası kesinlik

Tüm vakalarda doku örnekleri okunmuş ve boyama uygunluğu ile morfolojik selüler boyama kalitesi bakımından kabul edilebilir olduğu tespit edilmiştir. Tüm çalışmalar kabul kriterlerini karşılamıştır.

SORUN GİDERME

1. Pozitif kontrol beklenenden daha zayıf boyama sergilerse, aynı cihaz işlemi esnasında çalıştırılan diğer pozitif kontroller sorunun primer antikordan mı yoksa ortak ikincil reaktiflerin birinden mi kaynaklandığını belirlemek üzere kontrol edilmelidir.
2. Pozitif kontrol negatifse, slaytın uygun barkod etiketine sahip olduğundan emin olmak üzere kontrol edilmelidir. Slayt uygun şekilde etiketlenmişse, aynı cihaz üzerinde çalıştırılan diğer pozitif kontroller sorunun primer antikordan mı yoksa ortak ikincil reaktiflerin birinden mi kaynaklandığını belirlemek üzere kontrol edilmelidir. Dokular uygun olmayan şekilde toplanmış, sabitlenmiş veya deparafinizasyona tabi tutulmuş olabilir. Toplama, saklama ve fiksasyon için uygun prosedür izlenmelidir.
3. Eksik parafin giderme, boyama artefaktlarıyla veya boyama olmamasıyla sonuçlanabilir.
 - Slayttan tüm parafinin giderilmemesi durumunda, boyama işlemi mevcutsa uzatılmış deparafinizasyon seçeneği kullanılarak tekrarlanmalıdır.
 - Alternatif olarak manuel bir cihaz dışı deparafinizasyon gerçekleştirilebilir. Manuel seçeneğin kullanılması durumunda slaytları cihaza yüklemeye önce boyama protokolünden hat içi deparafinizasyonu seçimini kaldırın. Slaytların boyama işleminden önce kurumaması için ekstra özen gösterilmelidir.
4. Spesifik antikor boyaması çok yoğunsa, işlem istenen boyama yoğunluğu elde edilene kadar inkübasyon süresi 4 dakikalık aralıklarla kısaltılacak şekilde tekrarlanmalıdır.
5. Doku kesitleri slayttan çıkarsa pozitif yüklü olduklarından emin olmak için slaytlar kontrol edilmelidir.
6. Düzeltici eylem için Prosedür kısmına, cihazın Kullanıcı Kılavuzuna bakın veya yerel destek temsilcinizle iletişime geçin.
7. Bir reaktif dağıtıcısının sıvı dağıtmaması durumunda, hazırlama haznesini veya menisküsü lif ya da çökelti gibi yabancı maddeler veya partiküller açısından kontrol edin. Dağıtıcı tıkanmışsa dağıtıcıyı kullanmayın ve yerel destek temsilcinizle irtibat kurun. Aksi takdirde dağıtıcıyı bir atık kabı üzerine getirerek, nozul kapağını çıkararak ve dağıtıcının üst kısmına bastırarak tekrar hazırlayın. Uygun kullanım hakkında bilgiler için P/N 760-700 ile ilişkili olan ilgili iç hat dağıtıcı yöntem tablosuna bakın.
8. Peroksidaz İnhibitörü, primer antikor öncesi veya sonrasında seçilmezse endojen peroksidaz aktivitesi görülebilir. Varsayılan tarif ayarı uygulama yapılmamasına yöneliktir. Operatör, gerekirse bir protokol belirlenirken Peroksidaz İnhibitörünün ne zaman uygulanacağını seçmelidir.
9. Proteaz sindirimi sonucunda plazma ve mast hücrelerinde istenmeyen boyama görülebilir. Negatif doku kontrolü, pozitif boyanan sonuca kıyasla arka plan boyamasının seviyesini göstermek üzere değerlendirilmelidir.⁸

REFERANSLAR

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.

- 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.
- Hautzer NW, Wittkuhn JF, Elliott-McCaughey WT. Trypsin Digestion in Immunoperoxidase Staining. Jour of Histochem and Cytochem. 1980;28:52-53.
- 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.

NOT: Bu belgede, ondalık bir sayının tam sayı ve kesir kısımlarını ayırmak için ondalık ayırıcı olarak her zaman nokta kullanılmıştır. Binlik basamaklar için ayırıcı kullanılmamıştır.

Semboller

Ventana, ISO 15223-1 standardında listelenenlere ek olarak aşağıdaki sembol ve işaretleri kullanmaktadır (USA için: daha fazla bilgi için elabdoc.roche.com/symbols adresine bakın).

GTIN

Küresel Ticari Ürün Numarası

Rx only

USA için: Dikkat: Federal yasa bu cihazın satışını bir doktora veya doktor siparişiyle yapılacak şekilde sınırlamaktadır.

REVİZYON GEÇMİŞİ

Rev	Güncellemeler
F	Uyarılar ve Önlemler bölümlerinde güncellemeler yapıldı ve mevcut şablon güncellendi.

FİKRİ MÜLKİYET

VENTANA, BENCHMARK ve OPTIVIEW, Roche şirketinin ticari markalarıdır.

Tüm diğer ürün adları ve ticari markalar, ilgili sahiplerinin mülkiyetindedir.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

İLETİŞİM BİLGİLERİ



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

EC REP

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

