

VENTANA Silver ISH BF Detection Kit

REF 760-513

08507031001

IVD 60

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

VENTANA Silver ISH BF Detection Kit é um sistema de detecção indireta de alvos marcados com BF. O kit destina-se a identificar alvos através de hibridação in situ (ISH) com prata em secções de tecido fixado em formol e impregnado em parafina coradas num instrumento BenchMark IHC/ISH.

Os resultados da coloração devem ser interpretados por um patologista qualificado, em conjunto com o exame histológico, a informação clínica relevante e os controlos adequados.

O reagente destina-se a utilização em diagnóstico in vitro (IVD).

RESUMO E EXPLICAÇÃO

Em geral, a ISH utiliza sondas marcadas para detetar sequências alvo de DNA ou RNA específicas em secções de tecido fixadas. As sequências de ácidos nucleicos alvo são expostas através da desnaturação dos ácidos nucleicos por ação do calor. A reação é depois arrefecida para permitir que as sondas de ácidos nucleicos marcadas hibridem com sequências de ácidos nucleicos complementares.

A técnica de detecção indireta usada por este kit utiliza um anticorpo direcionado contra uma sonda marcada com hapteno, uma etapa de amplificação de tiramida baseada em HRP e um sistema substrato-cromogénio mediado por HRP (consulte a Figura 1).

PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

Após hibridação da sonda e lavagens adstringentes, a sonda marcada com benzofurazano (BF) ligada ao alvo é detetada com anticorpo anti-BF marcado com HRP. A amplificação do sinal é efetuada através da oxidação catalisada por HRP do BF ligado à tiramida por H₂O₂. A forma reativa oxidada da tiramida liga-se covalentemente a resíduos de tirosina, aumentando a concentração local do hapteno de BF. Este BF adicional ligado é detetado através de uma segunda aplicação do anticorpo anti-BF marcado com HRP. O sinal é visualizado através da redução de Ag⁺ solúvel para Ag⁰ insolúvel pela hidroquinona, numa reação catalisada por HRP e H₂O₂.

O protocolo de coloração é constituído por várias etapas nas quais os reagentes são incubados por períodos de tempo predeterminados a temperaturas específicas. No final de cada etapa de incubação, o instrumento BenchMark lava as secções para remover material não ligado e aplica uma coverslip líquida para minimizar a evaporação dos reagentes aquosos na lâmina. Os resultados são interpretados utilizando um microscópio ótico e ajudam a fazer o diagnóstico diferencial de processos patofisiológicos que podem, ou não, estar associados à coloração positiva da sonda.

Para obter informações mais pormenorizadas sobre o funcionamento do instrumento, consulte o Manual do utilizador apropriado.

MATERIAL E MÉTODOS

Materiais fornecidos

VENTANA Silver ISH BF Detection Kit (VENTANA BF Detection Kit) contém reagente suficiente para 60 testes.

Um dispensador de 24 mL VENTANA Silver ISH BF HRP contém um anticorpo monoclonal de rato anti-BF marcado com HRP (~1.25 µg/mL) numa solução de proteína tamponada MOPS com conservante ProClin.

Um dispensador de 12 mL VENTANA Silver ISH BF Tyramide Amplifier contém tiramida marcada com BF (~17.7 µg/mL) num tampão aquoso com conservante ProClin (~10% C₂H₆O₈).

Um dispensador de 12 mL VENTANA Silver ISH BF Chromogen A contém aproximadamente 0.4% de CH₃COOAg em solução aquosa.

Um dispensador de 6 mL VENTANA Silver ISH BF Chromogen B contém aproximadamente 0.2% de C₆H₆O₂ em tampão aquoso.

Um dispensador de 6 mL

VENTANA Silver ISH BF Chromogen C contém aproximadamente 0.1% de H₂O₂ em solução aquosa.

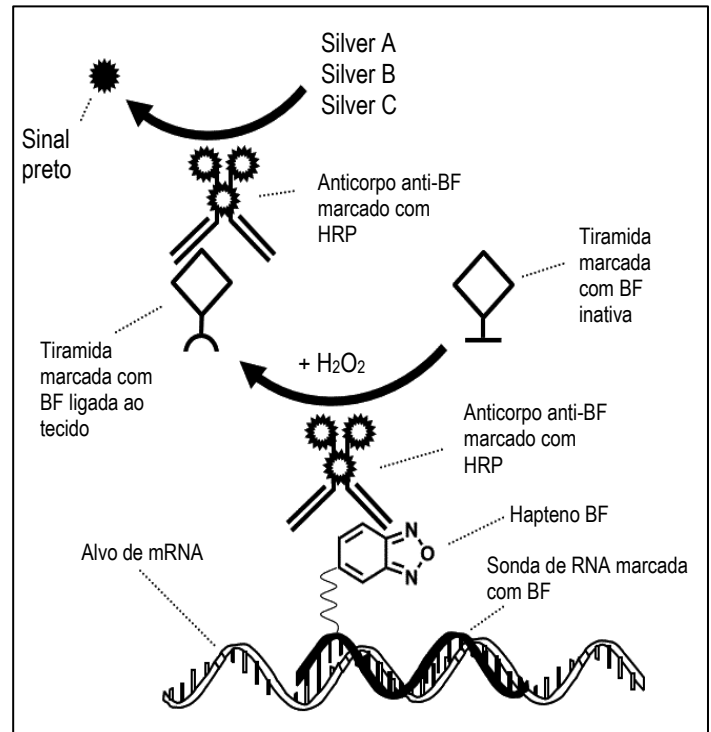


Figura 1. VENTANA Silver ISH BF Detection Kit

Reconstituição, homogeneização, diluição, titulação

O kit de detecção é otimizado para utilização em instrumentos BenchMark IHC/ISH. Não é necessária qualquer reconstituição, homogeneização, diluição ou titulação dos reagentes do kit. A diluição adicional poderá ter como resultado uma redução da qualidade de coloração.

Materiais necessários, mas não fornecidos

Os reagentes de coloração, como a sonda e os componentes auxiliares, não são fornecidos. Os produtos indicados na folha de métodos podem não estar todos disponíveis em todas as regiões. Consulte o seu representante de assistência local.

Os seguintes reagentes e materiais podem ser necessários para a coloração, mas não são fornecidos:

1. Sonda marcada com BF ISH
2. VENTANA Magenta ISH DIG Detection Kit (Ref. 760-514 / 08507201001)
3. ISH TSA Ancillary Kit (Ref. 760-515 / 08507082001)
4. ISH Peroxidase Inhibitor (Ref. 780-5061 / 07729014001)
5. HybReady Solution (Ref. 780-4409 / 05917557001)
6. ISH Protease 3 (Ref. 780-4149 / 05273331001)
7. Hematoxylin II (Ref. 790-2208 / 05277965001)
8. Bluing Reagent (Ref. 760-2037 / 05266769001)
9. Reaction Buffer Concentrate (10X) (Ref. 950-300 / 05353955001)
10. SSC (10X) (Ref. 950-110 / 05353947001)
11. EZ Prep Concentrate (10X) (Ref. 950-102 / 05279771001)
12. ULTRA CC1 (Ref. 950-224 / 05424569001)
13. ULTRA CC2 (Ref. 950-223 / 05424542001)
14. ULTRA LCS (Ref. 650-210 / 05424534001)
15. ultraView Silver Wash II (Ref. 780-003 / 05446724001)
16. Lâminas de microscópio, Superfrost™ Plus
17. Instrumento BenchMark IHC/ISH

18. Equipamento de laboratório de uso genérico

Conservação e estabilidade

Após a receção e quando não estiver a ser utilizado, conservar entre 2-8 °C. Não congelar. O kit pode ser utilizado imediatamente depois de retirado do frigorífico.

Para garantir uma correta distribuição do reagente e a estabilidade dos componentes do kit, volte a colocar as tampas do dispensador após cada utilização e coloque os dispensadores imediatamente no frigorífico na posição vertical.

Todos os kits têm indicada a respetiva data de validade. Quando corretamente conservado, o reagente permanece estável até à data indicada na etiqueta. Não utilizar o reagente depois de ultrapassada a data de validade.

Colheita das amostras e preparação para análise

Os tecidos fixados em formol e impregnados em parafina processados regularmente são adequados para utilização com VENTANA BF Detection Kit. O fixador de tecido recomendado é formol neutro tamponado a 10% (NBF) durante 6-72 horas.¹

As amostras devem ser cortadas em secções de 4 µm e colocadas em lâminas de microscópio carregadas positivamente (Superfrost™ Plus). As lâminas devem ser escurridas ou secas para remover o excesso de água que possa ficar entre a lâmina e o tecido antes da coloração no instrumento BenchMark IHC/ISH. Poderão ocorrer resultados variáveis em consequência da espessura da secção de tecido, do tipo de fixação, de fixação incompleta/prolongada ou de processos especiais, tais como a descalcificação de preparações de medula óssea.

As lâminas carregadas positivamente podem ser suscetíveis a tensões ambientais, resultando na coloração inadequada num qualquer ensaio ISH (por exemplo, ausência de coloração ou coloração de contraste no tecido). Solicite ao seu representante da Roche uma cópia do documento "Impact of environmental stress on various histology slide types" para compreender melhor como utilizar estes tipos de lâminas.

Recomenda-se que todas as lâminas de controlo sejam executadas em simultâneo com amostras desconhecidas. De notar que o sinal de prata poder desvanecer-se lentamente ao longo do tempo com a exposição prolongada à luz. Isto não deve ter impacto nas práticas clínicas normais, mas as lâminas devem ser armazenadas ao abrigo de luz direta quando não estiverem a ser utilizadas.


AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Para utilização em diagnóstico in vitro (IVD).
2. Apenas para utilização profissional.
3. Não utilizar num número de testes superior ao especificado.
4. A solução ProClin 300 é utilizada como conservante nesta solução. Está classificada como irritante e pode causar sensibilização através do contacto com a pele. Tome as precauções razoáveis ao manusear a mesma. Evite o contacto dos reagentes com os olhos, a pele e as membranas mucosas. Utilize luvas e vestuário de proteção.
5. Os materiais de origem humana ou animal devem ser manuseados como materiais que envolvem potencial risco de contaminação e eliminados adotando as devidas precauções. Em caso de exposição, devem ser seguidas as diretivas de saúde das autoridades responsáveis.^{2,3}
6. Tome as precauções razoáveis ao manusear reagentes. Evite o contacto dos reagentes com os olhos, a pele e as membranas mucosas. Use luvas descartáveis e vestuário de proteção adequado quando manusear substâncias cancerígenas suspeitas ou materiais tóxicos.
7. Se os reagentes entrarem em contacto com áreas sensíveis, lave com água em abundância. Evite a inalação dos reagentes.
8. Certifique-se de que o recipiente de resíduos está vazio antes de iniciar uma análise no instrumento. Se esta precaução não for respeitada, o recipiente de resíduos pode transbordar e o utilizador arrisca-se a escorregar e cair.
9. Evite a contaminação microbiana dos reagentes pois ela pode produzir resultados incorretos.
10. Para mais informações acerca da utilização deste dispositivo, consulte o Manual do utilizador do instrumento BenchMark IHC/ISH, bem como as folhas de métodos de todos os componentes necessários em navifyportal.roche.com.
11. Consulte as autoridades locais e/ou estatais para determinar qual é o método de eliminação recomendado.
12. A etiquetagem de segurança do produto segue principalmente as diretrizes do GHS da UE. Ficha de dados de segurança disponível para utilizadores profissionais a pedido.

13. Para reportar situações graves suspeitas relacionadas com este dispositivo, contacte o representante local da Roche e a autoridade competente do Estado-Membro ou do País onde o utilizador está estabelecido.

Este kit de deteção contém componentes classificados da seguinte forma, nos termos do disposto no Regulamento (CE) N.º 1272/2008:

Tabela 1. Informações sobre os perigos.

Perigo	Código	Advertência
	H317	Pode provocar uma reação alérgica cutânea.
	P261	Evitar respirar névoas ou vapores.
	P272	A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho.
	P280	Usar luvas de proteção.
	P333 + P313	Em caso de irritação ou erupção cutânea: Consulte um médico.
	P362 + P364	Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.
	P501	Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de tratamento de resíduos apropriado.

EUH208: Contém hidroquinona, mistura de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1). Pode provocar uma reação alérgica.

PROCEDIMENTO DE COLORAÇÃO

VENTANA BF Detection Kit foi desenvolvido para utilização em instrumentos BenchMark IHC/ISH em combinação com reagentes auxiliares VENTANA. Os protocolos de coloração podem ser apresentados, impressos e editados de acordo com o procedimento descrito no Manual do utilizador do instrumento. Foram predefinidos na fábrica outros parâmetros de funcionamento do instrumento.

Os procedimentos de coloração nos instrumentos BenchMark IHC/ISH são os seguintes. Para obter instruções mais detalhadas, bem como outras opções de protocolo, consulte a folha de métodos da sonda apropriada ou o seu Manual do utilizador.

Instrumentos BenchMark IHC/ISH

1. Cole na lâmina a etiqueta de código de barras que corresponde ao protocolo a ser realizado.
2. Carregue a sonda, os dispensadores do kit de deteção apropriados e o reagente acessório necessário no tabuleiro de reagentes e coloque tudo no instrumento.
3. Verifique os fluidos volumosos e esvazie os resíduos.
4. Carregue as lâminas no instrumento.
5. Inicie o processo de coloração.
6. Quando estiver concluído, remova as lâminas do instrumento.
7. Avance para os Procedimentos de processamento pós-instrumento recomendados.

Procedimentos de processamento pós-instrumento recomendados

Nota: Para garantir uma desidratação completa, os banhos de etanol têm de ser mudados frequentemente e pode ser adicionado um terceiro banho de etanol a 100%.

1. Para remover a solução Liquid Coverslip, lave as lâminas em duas soluções sequenciais de detergente de loiça suave (não utilize detergente concebido para máquinas de lavar louça).
2. Enxague bem as lâminas com água destilada durante aproximadamente cerca de 1 minuto. Retire o excesso de água sacudindo.
3. Transfira as lâminas para um banho de etanol a 90% durante aproximadamente 1 minuto.
4. Transfira as lâminas para um banho de etanol a 100% durante aproximadamente 1 minuto.
5. Transfira as lâminas para um segundo banho de etanol a 100% durante aproximadamente 1 minuto.
6. Transfira as lâminas para um banho de xileno durante aproximadamente 1 minuto.
7. Transfira as lâminas para um segundo banho de xileno durante aproximadamente 1 minuto.

- Coloque a coverslip na lâmina. De notar que alguns meios de montagem não são compatíveis com VENTANA BF Detection Kit (consulte a secção Limitações).

PROCEDIMENTO DE CONTROLO DE QUALIDADE

Controlo tecidular positivo

Com cada procedimento de coloração efetuado, tem de ser processado um controlo tecidular positivo. A prática laboratorial ideal deve incluir uma secção de controlo positivo na mesma lâmina que contém o tecido do paciente. Os componentes tecidulares de coloração positiva são utilizados para confirmar a aplicação dos reagentes e o correto funcionamento do instrumento. Este tecido poderá conter células de coloração ou componentes tecidulares positivos e negativos e servir como tecido de controlo positivo e negativo. Os controlos tecidulares internos são utilizados de acordo com o critério do investigador principal e do patologista. Os tecidos de controlo deverão ser amostras de autópsia, biópsia ou cirurgia, preparadas ou fixadas de forma idêntica às secções de teste. As secções de tecido fixadas ou processadas de forma diferente da amostra do teste facultarão controlos de comparação para todos os reagentes e etapas do método afetados pela fixação e pelo processamento de tecidos.

Os controlos tecidulares positivos conhecidos devem ser utilizados apenas para monitorizar o correto desempenho de tecidos processados e de reagentes de teste e não para auxiliar na determinação de um diagnóstico específico de amostras de doentes. Se os controlos tecidulares positivos não demonstrarem uma coloração positiva, os resultados da amostra de teste deverão ser considerados inválidos.

Consulte a folha de métodos da sonda apropriada para saber quais são as recomendações específicas de controlo tecidular positivo.

Controlo tecidular negativo

Se aplicável, consulte a folha de métodos da sonda apropriada.

Controlo de reagente positivo

Se aplicável, consulte a folha de métodos da sonda apropriada.

Discrepâncias inexplicáveis

Quaisquer discrepâncias inexplicáveis nos controlos deverão ser imediatamente comunicadas ao representante de assistência local. Os resultados dos pacientes são inválidos se os resultados do controlo de qualidade não cumprirem as especificações. Identifique e corrija o problema e, em seguida, repita a amostra do paciente (consulte a secção Resolução de problemas).

Verificação do ensaio

Antes de utilizar pela primeira vez um reagente num procedimento de diagnóstico, o desempenho do reagente deve ser verificado testando esse reagente numa série de amostras com características do desempenho de ISH conhecidas (consulte a folha de métodos da sonda e as recomendações de controlo de qualidade de *College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program Anatomic Pathology Checklist*⁴ e as *CLSI Approved Guideline*⁵). Estes procedimentos de controlo de qualidade devem ser repetidos em cada novo lote de reagente sempre que houver uma alteração nos parâmetros do ensaio ou sempre que houver uma alteração na preparação das amostras.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

VENTANA BF Detection Kit provoca a precipitação de um produto de reação de cor preta na sequência de ácidos nucleicos hibridada com a sonda. Um patologista qualificado, que tenha experiência em procedimentos de ISH, deverá avaliar os controlos e qualificar o produto corado antes de interpretar os resultados.

LIMITAÇÕES

Limitações gerais

- A ISH é uma metodologia de diagnóstico em várias etapas que exige uma formação especializada na seleção dos reagentes apropriados, preparação das amostras, processamento, preparação da lâmina e interpretação dos resultados.
- A coloração de tecidos depende do manuseamento e processamento do tecido antes da coloração. Uma incorreta fixação, congelação, descongelação, lavagem, secagem, aquecimento, seccionamento ou contaminação com outros tecidos ou fluidos pode produzir artefactos, aprisionamento de reagente e resultados falsos negativos ou falsos positivos. Os resultados inconsistentes podem ser consequência de variações nos métodos de fixação e impregnação ou de irregularidades inerentes no tecido.
- Uma sujeição a coloração contrastante excessiva ou incompleta pode comprometer a interpretação correta dos resultados.

- A interpretação clínica de qualquer tipo de coloração positiva tem de ser avaliada dentro do contexto da história clínica, da morfologia e de outros critérios histopatológicos. É da responsabilidade de um patologista qualificado estar familiarizado com os reagentes e os métodos utilizados para produzir a preparação corada. A coloração tem de ser realizada num laboratório certificado e licenciado, com supervisão de um patologista responsável pela revisão das lâminas coradas que assegure a adequação dos controlos.
- Os reagentes VENTANA disponibilizados têm a diluição ótima para ser utilizada desde que sejam seguidas as instruções fornecidas. Qualquer desvio dos procedimentos de teste recomendados pode invalidar os resultados previstos. Devem ser utilizados e documentados controlos apropriados. Os utilizadores que se desviem dos procedimentos de teste recomendados terão de aceitar a responsabilidade da interpretação dos resultados dos pacientes.
- Os reagentes podem demonstrar reações inesperadas em tecidos não testados anteriormente. A possibilidade de ocorrerem reações inesperadas, mesmo em grupos de tecidos testados, não pode ser eliminada completamente devido à variabilidade biológica dos tecidos. Contacte o seu representante de assistência local e apresente-lhe quaisquer reações inesperadas documentadas.

Limitações específicas

- VENTANA BF Detection Kit foi desenvolvido para ser utilizado com tecidos cortados com 4 µm de espessura. As secções com uma espessura inferior/superior a este valor podem apresentar coloração inadequada e/ou perda de tecido.
- Os meios de montagem podem não ser todos compatíveis com o cromogénio de prata. Consulte a Tabela 2 para saber quais foram os meios de montagem testados.
- As lâminas coradas devem ser armazenadas em local escuro quando não estiverem a ser utilizadas, para prevenir o esbatimento do cromogénio de prata.
- O kit de deteção, em combinação com sondas e acessórios VENTANA, deteta uma sequência de ácidos nucleicos que sobrevive à rotina de fixação com formol, ao processamento de tecidos e ao seccionamento. À semelhança do que acontece com qualquer teste, um resultado negativo significa que o alvo específico não foi detetado na amostra de tecido, e não que o alvo esteja ausente no tecido original não fixado.
- Este kit de deteção foi otimizado para utilização com reagentes VENTANA em instrumentos BenchMark IHC/ISH. Os utilizadores que se desviarem dos procedimentos de teste recomendados são responsáveis pela interpretação dos resultados dos pacientes nessas circunstâncias.
- Os kits de deteção podem não estar todos registados em todos os instrumentos. Contacte o seu representante de assistência local para obter mais informações.

Tabela 2. Compatibilidade dos meios de montagem.

Meios de montagem	Fabricante	Compatível?
Acrytol	Electron Microscopy Sciences	Sim
Consul-Mount	Epredia	Sim
Cytoseal XYL	Richard Allan Scientific	Sim
Cytoseal 60	Richard Allan Scientific	Sim
Dako Mounting Medium	Dako	Sim
Diamount	Diapath	Sim
DPX Mountant	CDH	Sim
Entellan	Merck	Sim
Glycergel	Dako	Sim
HE600	Roche	Sim
HistoCore Spectra CV X1	Leica	Sim
Histomount	National Diagnostics	Sim
MicroMount	Leica	Sim
Canada Balsam	Elabscience	Sim
Permunt	Electron Microscopy Sciences	Sim
Pertex	Histolab	Sim

Meios de montagem	Fabricante	Compatível?
Epredia Synthetic Mountant	Epredia	Sim
Sub-X Mounting	Leica	Sim
Tissue-Tek Film	Sakura	Sim
Entellan New	Merck	Não
Eukitt	Merck	Não

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Para mais informações sobre as características do desempenho, consulte a folha de métodos da sonda apropriada.

RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

1. Certifique-se de que a secção foi cortada com uma espessura de 4 µm e de que foi utilizado um meio de montagem compatível.
2. Certifique-se de que os dispensadores de reagente não estão obstruídos ou vazios. Teste o funcionamento do dispensador apontando-o para um recipiente de resíduos e pressionando firmemente a parte superior do cilindro, assegurando que é dispensada apenas uma gota. Se o dispensador estiver obstruído ou a dispensa não estiver a funcionar corretamente, contacte o representante da assistência e não utilize o dispensador.
3. Se as secções de tecido saírem da lâmina, as lâminas devem ser verificadas para garantir que têm carga positiva.
4. Consulte a secção Resolução de problemas da folha de métodos da sonda apropriada para saber quais são as soluções de resolução de problemas específicas do ensaio.
5. Para qualquer ação corretiva, consulte a secção Procedimento de coloração, o Manual do utilizador do instrumento ou contacte o seu representante de assistência local.

REFERÊNCIAS

1. Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
2. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
3. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 June 2020 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
4. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2007.
5. CLSI (formerly NCCLS). Quality Assurance for Design Control and Implementation of Immunocytochemistry Assays: Approved Guideline-Second Edition. CLSI document I/LA28-A2 (ISBN 1-56238-745-6). CLSI, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2011.

NOTA: Neste documento, é sempre utilizado o ponto como separador decimal para marcar o limite entre a parte inteira e as partes fracionais de um número decimal. Não são utilizados separadores de milhares.

Símbolos

Ventana utiliza os seguintes símbolos e sinais, além dos listados na norma ISO 15223-1 (para os USA: consultar elabdoc.roche.com/symbols para mais informações).



Número Global de Item Comercial

Rx only

Para os USA: Advertência: A Lei Federal dos EUA restringe a venda deste dispositivo a um médico ou mediante receita médica.

HISTÓRICO DE REVISÕES

Rev	Atualizações
B	Foram realizadas atualizações na secção Avisos e precauções. Foi atualizado o modelo atual.

PROPRIEDADE INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK, HYBREADY e ULTRAVIEW são marcas comerciais de Roche. Todos os restantes nomes de produtos e marcas comerciais são propriedade dos respetivos titulares.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

INFORMAÇÕES DE CONTACTO



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

