

ultraView Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit

REF	760-501
	05269814001
IVD	Σ 250

TILSIGTET ANVENDELSE

ultraView Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit (ultraView AP Red detection kit) er et indirekte biotinfrit system til påvisning af primære muse-IgG-, muse-IgM- og kanin-antistoffer ved anvendelse af lysmikroskopi. Kittet er beregnet til laboratoriebrug til identifikation af mål ved hjælp af immunhistokemi (IHC) i snit af formalinfikseret, paraffinindstøbt væv, der er farvet på BenchMark IHC/ISH-instrumenter.

Dette produkt skal fortolkes af en kvalificeret patolog og sammenholdes med histologisk undersøgelse, relevante kliniske oplysninger og egnede kontroller.

Dette produkt er beregnet til in vitro diagnostisk (IVD) brug.

RESUMÉ OG FORKLARING

Immunhistokemi er en teknik, der anvendes i laboratorier til diagnostiske formål. Ved IHC anvendes specifikke primære antistoffer til at lokalisere og binde til antigener i fikserede eller frosne vævssnit. Bindingen af antistoffet til antigenet visualiseres med en indirekte detektionsmetode. De mest almindelige teknikker til indirekte metoder gør brug af et sekundært antistof rettet mod arten af primært antistof og et enzym med et tilsvarende substrat-kromogensystem. Denne kombination resulterer i en farvet udfældning på stedet med specifik antistofbinding. ultraView AP Red -detection kit bruger en indirekte metode til at visualisere specifikke antistoffer, der er bundet til antigener, ved at afsætte en rødlig udfældning.

PROCEDURENS PRINCIP

ultraView AP Red detection kit detekterer specifikke muse- og kanin-antistoffer, der er bundet til et antigen i formalinfikseret og paraffinindstøbt (FFPE) vævssnit. Det specifikke antistof er lokaliseret ved en cocktail af enzymmærkede sekundære antistoffer, der lokaliserer det bundne primære antistof. Komplekset visualiseres derefter med Naphthol-substrat og Fast Red-kromogen, der producerer rød udfældning, som let observeres ved lysmikroskopi.

Farvningsprotokollen består af adskillige trin, hvor reagenser inkuberes i forudbestemte tidsrum ved specifikke temperaturer. Ved afslutningen af hvert inkubationstrin vasker BenchMark IHC/ISH-instrumentet snittene for at fjerne ubundet materiale og anvender et flydende dækglass, der minimerer fordampningen af de vandige reagenser fra objektglasset. Resultaterne fortolkes ved hjælp af et lysmikroskop og bruges som hjælp ved differentieret diagnostisering af patofysiologiske processer, som måske er eller ikke er forbundet med et bestemt antigen.

Du kan få yderligere oplysninger om brug af instrumentet i den tilhørende brugervejledning.

Figur 1 viser den indirekte detektionsmetode.

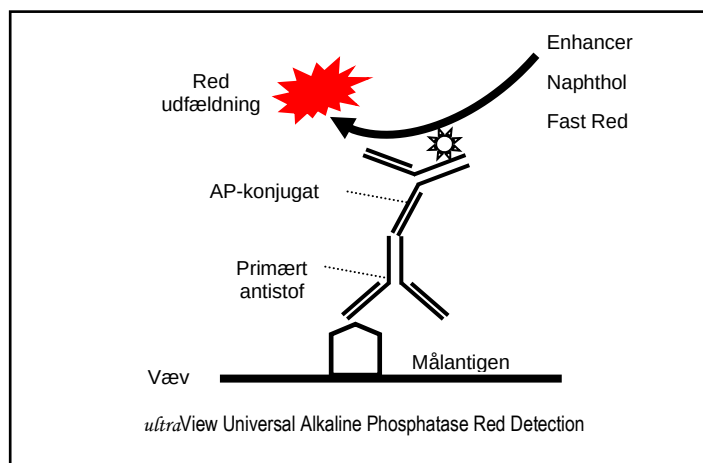


Fig. 1. Reaktion med ultraView Universal Alkaline Phosphatase Red Detection.

MATERIALE OG METODER

Leveret materiale

ultraView AP Red detection kit indeholder tilstrækkeligt med reagens til 250 tests.

En 25 mL-dispenser	ultraView Universal AP Red Enhancer indeholder ca. 3 % (v/v) MgCl ₂ i en tris-buffer med 0.05 % ProClin 300-opløsning, som er et konserveringsmiddel.
En 25 mL-dispenser	ultraView Universal AP Red Multimer indeholder en cocktail af Alkaline Phosphatase (AP)-mærkede antistoffer (ca. 50 µg/mL) i en buffer med 0.05 % ProClin 300-opløsning, som er et konserveringsmiddel.
En 25 mL-dispenser	ultraView Universal AP Red Naphthol indeholder ca. 1.0 % (w/v) Naphthol i tris-buffer med 0.10 % ProClin 300-opløsning, som er et konserveringsmiddel.
En 25 mL-dispenser	ultraView Universal AP Red Fast Red A indeholder ca. 1.0 % (w/v) Fast Red i acetatbuffer med 0.05 % ProClin 300-opløsning, som er et konserveringsmiddel.
En 25 mL-dispenser	ultraView Universal AP Red Fast Red B indeholder ca. 1.0 % (w/v) Fast Red i acetatbuffer med 0.05 % ProClin 300-opløsning, som er et konserveringsmiddel.

Rekonstitution, blanding, fortynding, titrering

ultraView AP Red detection kit er optimeret til brug på BenchMark IHC/ISH-instrumenter. Ingen rekonstitution, blanding, fortynding eller titrering af kitreagenser er nødvendig.

Nødvendige materialer, som ikke medfølger

Farvningsreagenser såsom VENTANA-detektionskits og tilbehør, herunder objektglas til negative og positive vævskontroller, medfølger ikke.

Det er ikke alle produkter, der er nævnt i metodearket, som kan fås i alle geografiske områder. Indhent oplysninger hos den lokale supportrepræsentant.

Nedenstående reagenser og materialer kan være påkrævet ved farvning, men medfølger ikke i detektionskittet:

1. Primært antistof
2. Reagens til negativ kontrol
3. Positive og negative vævskontroller (se metodearkene til antistofferne for at se de anbefalede typer)
4. Amplification Kit (kat.nr. 760-080 / 05266114001)
5. OptiView DAB IHC Detection Kit (kat.nr. 760-700 / 06396500001)
6. OptiView Amplification Kit (kat.nr. 760-099 / 06396518001 (50 tests) eller 860-099 / 06718663001 (250 tests))
7. ultraView Universal DAB Detection Kit (kat.nr. 760-500 / 05269806001)
8. Protease 1 (kat.nr. 760-2018 / 05266688001)

9. Protease 2 (kat.nr. 760-2019 / 05266696001)
10. Protease 3 (kat.nr. 760-2020 / 05266718001)
11. Hematoxylin (kat.nr. 760-2021 / 05266726001)
12. Hematoxylin II (kat.nr. 790-2208 / 05277965001)
13. Bluing Reagent (kat.nr. 760-2037 / 05266769001)
14. Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat.nr. 950-300 / 05353955001)
15. Cell Conditioning Solution (CC1) (kat.nr. 950-124 / 05279801001)
16. Cell Conditioning Solution (CC2) (kat.nr. 950-123 / 05279798001)
17. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (kat.nr. 950-224 / 05424569001)
18. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (kat.nr. 950-223 / 05424542001)
19. Antibody Diluent (kat.nr. 251-018 / 05261899001)
20. EZ Prep Concentrate (10X) (kat.nr. 950-102 / 05279771001)
21. LCS (Predilute) (kat.nr. 650-010 / 05264839001)
22. ULTRA LCS (Predilute) (kat.nr. 650-210 / 05424534001)
23. BenchMark IHC/ISH-instrument
24. Objektglas, positivt ladede
25. Dækglas og dækglassmetode, der er tilstrækkeligt til at dække vævet
26. Generelt laboratorieudstyr

Opbevaring og stabilitet

Opbevares ved 2-8 °C efter modtagelsen, og når de ikke anvendes. Må ikke nedfryses. Brugeren skal validere eventuelle andre opbevaringsbetingelser end dem, der er specificeret på metodearket. Dette detektionskit kan anvendes umiddelbart efter udtagning fra køleskab.

For at sikre korrekt reagenstilførsel og stabilitet af hvert reagens skal kapslen sættes på dispenseren igen efter hver brug, og dispenseren skal omgæende anbringes i køleskab i opret position.

Alle detektionskit er mærket med udløbsdato. Ved korrekt opbevaring er produktet stabilt indtil den dato, der er angivet på etiketten. Brug ikke produktet efter udløbsdatoen for den anviste opbevaringsmetode. Der er ingen endegyldige tegn, der indikerer ustabilitet af dette produkt; Derfor bør positive og negative kontroller køres samtidigt med ukendte præparater. Kontakt straks din lokale supportrepræsentant, hvis der er tegn på reagensustabilitet.

Prøvetagning og forberedelse til analyse

FFPE-væv er egnet til brug med *ultraView* AP Red detection kit og et BenchMark IHC/ISH-instrument (se afsnittet Nødvendige materialer, som ikke medfølger). Det anbefalede vævsfiksativ er 10 % neutral buffer-formalin (NBF).² Varierende resultater kan forekomme som resultat af vævssnittekyllig, fikseringstype, ufuldstændig forlænget fiksering eller specielle processer, f.eks. dekalifikation af knoglemarvspræparater.

Hvert snit skal skæres til den passende tykkelse til det primære antistof, der anvendes, og placeres på et positivt ladet objektglas til mikroskop. Objektglassene med vævssnittene skal tørre stående i mindst 15 minutter ved stuetemperatur for at fjerne overskydende vand fra under snittet før bagning. Objektglassene med vævssnittene kan bages/varmes i mindst 1 time i en ovn ved 60 °C ± 5 °C eller lufttørres ved 37 °C i op til 24 timer. Tørring og opvarmning af objektglas bruges til at tørre vævet efter objektglasmontering og for at forbedre vævets vedhæftning til glasset. Se metodearket til det primære antistof for at identificere begrænsningerne for opvarmning. Længerevarende opvarmning af vævet kan resultere i mindsket antigen-tilgængelighed.

Korrekt fikserede og indstøbte væv, der udtrykker antigenet, forbliver stabile, hvis de opbevares et køligt sted (15–25 °C). Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) af 1988, 42CFR493.1259 (b) kræver, at »Laboratoriet skal opbevare objektglas mindst ti år fra undersøgelsesdatoen og opbevare præparatblokke mindst to år fra undersøgelsesdatoen«. Det enkelte laboratorium skal validere stabiliteten af objektglasset med vævssnittet ud fra deres egne procedurer og opbevaringsbetingelser.

ADVARSLER OG FORSİGTİGHEDSREGLER

1. Til in vitro diagnostisk (IVD) brug.
2. Kun til faglig anvendelse.
3. Brug ikke efter det angivne antal tests.
4. ProClin 300 er brugt som konserveringsmiddel i denne opløsning. Det er klassificeret som lokalirriterende og kan forårsage overfølsomhed ved hudkontakt. Der skal tages rimelige forholdsregler ved håndtering. Undgå, at reagenset kommer i berøring med øjne, hud og slimhinder. Bær beskyttelsestøj og handsker.
5. Materialer af human eller animalsk oprindelse skal håndteres som potentielt biologisk farligt materiale og bortskaffes i henhold til gældende forholdsregler. I tilfælde af eksponering skal de ansvarlige myndigheders sundhedsdirektiver følges.^{3,4}
6. Der skal tages rimelige forholdsregler ved håndtering af reagenser. Undgå, at reagenset kommer i berøring med øjne, hud og slimhinder. Brug engangshandsker og brug passende beskyttelsestøj, når du håndterer mistænkt kræftfremkaldende stoffer eller toksiske materialer.
7. Vask med rigelige mængder vand, hvis reagenserne kommer i kontakt med følsomme områder. Undgå indånding af reagenser.
8. Sørg for, at affaldsbeholderen er tom, før du starter en kørsel på instrumentet. Hvis denne forholdsregel ikke træffes, kan affaldsbeholderen blive overfyldt, så brugeren risikerer at glide og falde.
9. Undgå mikrobiel kontamination af reagenserne da dette kan fremkalde fejlbehæftede resultater.
10. For yderligere information om brugen af denne enhed henvises til BenchMark IHC/ISH-instrumentets brugervejledning og metodearkene til alle nødvendige komponenter.
11. Indhent oplysninger hos lokale og/eller statslige myndigheder med henblik på den anbefalede metode til bortskaffelse.
12. Mærkning af produktsikkerhed følger primært EU's GHS-vejledning. Sikkerhedsdatablade er tilgængelige efter anmodning for faglige brugere.
13. For at rapportere mistanke om alvorlige hændelser i forbindelse med denne enhed, skal du kontakte den lokale Roche-repræsentant og den kompetente myndighed i den medlemsstat eller det land, hvor brugeren har etableret sig.

Dette detektionskit indeholder komponenter klassificeret som følger i henhold til Forordning (EU) nr. 1272/2008:

Tab. 1. Fareoplysninger.

Fare	Kode	Sætning
	H317	Kan forårsage allergisk hudreaktion.
	P261	Undgå indånding af støv/røg/gas/tåge/damp/spray.
	P272	Tilsmudset arbejdstøj bør ikke fjernes fra arbejdspladsen.
	P280	Bær beskyttelseshandsker.
	P333 + P313	Ved hudirritation eller udslet: Søg læge.
	P362 + P364	Alt tilsmudset tøj tages af og vaskes inden genanvendelse.
	P501	Indholdet/beholderen bortskaffes i et godkendt affaldsbehandlingsanlæg.

Dette produkt indeholder CAS 55965-84-9, reaktionsmasse 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one og 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1).

PROCEDURE

UltraView AP Red detection kit er udviklet til brug på BenchMark IHC/ISH-instrumenter i kombination med primære VENTANA-antistoffer og tilbehør. Parametrene for de automatiserede procedurer kan vises, udskrives og redigeres i henhold til den procedure, der er beskrevet i instrumentets brugervejledning. Andre driftsparametre for instrumentet er forudindstillet fra fabrikken.

Procedurerne for farvning på BenchMark IHC/ISH-instrumenter er som følger. Du kan se mere detaljeret vejledning og yderligere protokolindstillinger i brugervejledningen. Det afhænger af antistoffet, om en prøve kræver Cell Conditioning. Se vejledningen på metodearket til antistoffet.

BenchMark IHC/ISH-instrumenter

1. Forsyn objektglasset med stregkodeetiket, der svarer til den protokol, der skal udføres.
2. Sæt det primære antistof, passende detektionskitdispensere og nødvendigt hjælpereagens i reagensbakken, og placer dem på instrumentet.
3. Kontrollér bulkvæsker, og tøm affaldsbeholdere.
4. Sæt objektglassene på instrumentet.
5. Start farvekørslen.
6. Når kørslen er fuldført, tages objektglassene ud af instrumentet.
7. Fortsæt til procedurerne Anbefalede procedurer til efterbehandling, efter kørsel på instrumentet.

Dual-tfarvningsfunktion

Konfigurationen med dobbeltfarvning består af en sekventiel farvning, hvor det første primære antistof farves med DAB-detektion ved hjælp af enten *UltraView Universal DAB Detection Kit* (*UltraView DAB detection kit*) eller *OptiView DAB IHC Detection Kit* (*OptiView DAB detection kit*) efterfulgt af detektion af det sekundære primære antistof ved anvendelse af *UltraView AP Red detection kit*. I dobbeltfarvningskonfigurationen blev *UltraView DAB detektionskit* og *OptiView DAB detektionskit* optimeret til bestemte inkubationstider ved brug af CONFIRM anti-CD20 (L26) Primary Antibody (CONFIRM anti-CD20 (L26) antistof). *UltraView AP Red detection kit* blev optimeret til specifikke inkubationstider ved brug af CONFIRM anti-CD3 (2GV6) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (CONFIRM anti-CD3 (2GV6) antistof). Brugeren skal validere de resultater, der opnås med anvendelse af dette reagens. Se nedenstående tabeller vedrørende anbefalede dobbeltfarvningsprotokoller.

Tab. 2. Anbefalet farvningsprotokol for *UltraView DAB detektionskit* (ved brug af CONFIRM anti-CD20 (L26)-antistof) og *UltraView AP Red detection kit* (ved brug af CONFIRM anti-CD3 (2GV6) antistof) på et BenchMark IHC/ISH-instrument.

Proceduretype	Metode		
	GX	XT	ULTRA eller ULTRA PLUS*
Afparaffinerings	Valgt	Valgt	Valgt
Cell Conditioning (Antigenafmaskning)	CC1 Mild	CC1 Mild	ULTRA CC1 36 minutter, 95 °C
Antistof (DAB)	6 minutter, 37 °C	16 minutter, 37 °C	16 minutter, 36 °C
DS-antistof (Red)	20 minutter, 37 °C	20 minutter, 37 °C	20 minutter, 36 °C
Kontrastfarve	Hematoxylin II, 4 minutter		
Efterfølgende kontrastfarve	Bling, 4 minutter		

* Der blev demonstreret overensstemmelse mellem BenchMark ULTRA- og BenchMark ULTRA PLUS-instrumenterne ved brug af repræsentative analyser.

Tab. 3. Anbefalet farvningsprotokol for *OptiView DAB detektionskit* (ved brug af CONFIRM anti-CD20 (L26)-antistof) og *UltraView AP Red detection kit* (ved brug af CONFIRM anti-CD3 (2GV6) antistof) på et BenchMark IHC/ISH-instrument.

Proceduretype	Metode		
	GX	XT	ULTRA eller ULTRA PLUS*
Afparaffinerings	Valgt	Valgt	Standard
Cell Conditioning (Antigenafmaskning)	CC1, 32 minutter	CC1, 32 minutter	ULTRA CC1, 32 minutter, 100 °C
Præ-primær peroxidaseinhibitor	Valgt	Valgt	Valgt
Antistof (DAB)	6 minutter, 37 °C	8 minutter, 37 °C	16 minutter, 36 °C
OptiView HQ Linker	8 minutter (standard)	8 minutter (standard)	8 minutter (standard)
OptiView HRP Multimer	8 minutter (standard)	8 minutter (standard)	8 minutter (standard)
DS-antistof (Red)	20 minutter, 37 °C	20 minutter, 37 °C	20 minutter, 36 °C
Kontrastfarve	Hematoxylin II, 4 minutter		
Efterfølgende kontrastfarve	Bling, 4 minutter		

* Der blev demonstreret overensstemmelse mellem BenchMark ULTRA- og BenchMark ULTRA PLUS-instrumenterne ved brug af repræsentative analyser.

På grund af variationer i vævsfiksering og -behandling samt generelle forhold vedrørende laboratorieinstrumenter og -miljø kan det være nødvendigt at øge eller mindske inkubationstiden for det primære antistof eller celleforbehandlingen baseret på individuelle præparater, den anvendte detektion og læserpræferencer. For yderligere information om fikseringsvariabler henvises til "Immunohistochemistry Principles and Advances".⁵

Anbefalede procedurer til efterbehandling, efter kørsel på instrumentet

Bemærk: Fast Red-kromogen er opløseligt i alkohol og acetone. Der må ikke anvendes alkohol- eller acetonebade eller længerevarende xylenskyllinger til at dehydrere og klare objektglas.

1. Liquid Coverslip-opløsningen fjernes ved at vaske objektglassene i 2 på hinanden følgende opløsninger af mildt opvaskemiddel (brug ikke rengøringsmiddel, der er beregnet til opvaskemaskiner).
2. Skyl objektglassene grundigt med deioniseret vand i cirka 1 minut. Ryst overskydende vand fra.
3. Tør objektglassene i en ovn (i mindst 15–30 minutter ved 45–60 °C), eller lad dem lufttørre ved omgivelsestemperatur. Tørretid og temperatur afhænger af omgivelsesforholdene. Sørg for, at objektglassene er helt tørre, før der monteres dækglass.
4. Overfør objektglas til xylenebad, og giv dem en hurtig vask i cirka 30 sekunder.
5. Sæt dækglass på objektglasset. De bedste resultater opnås ved at bruge et monteringsmedie, der er kompatibelt med substrater af alkalisk fosfatase.

Metoder til kvalitetskontrol

Positiv vævskontrol

Der skal køres en positiv vævskontrol med hver udført farvningsprocedure. Bedst mulig laboratoriepraksis skal omfatte et positivt kontrolsnit på samme objektglas som patientvævet. Denne praksis gør det lettere at konstatere eventuel manglende påføring af primært antistof eller andet vigtigt reagens på patientens testobjektglas. Et væv med svag positiv farvning er bedre egnet til optimal kvalitetskontrol. Vævskomponenterne i positiv farvning bruges til at bekræfte, at antistoffet blev påført, og at instrumentet fungerede korrekt. Dette væv kan indeholde både positive og negative farvningsselementer eller

vævsbestanddele og kan benyttes både som positivt og negativt kontrolvæv. Kontrolvæv skal være nye obduktions-, biopsi- eller kirurgipræparater, der er klargjort eller fikseret så hurtigt som muligt på en måde, der er identisk med testsnittene. Sådanne væv kan overvåge alle trin i proceduren fra vævsklæring til farvning. Brug af et vævssnit, der er fikseret eller behandlet på en anden måde end testpræparatet, kan bruges som kontrol for alle reagenser og metodetrim udtagen fiksering og vævsbehandling.

Kendte positive kontroller må udelukkende benyttes til overvågning af, at behandlede væv og testreagenser fungerer korrekt, ikke som hjælp til at formulere en specifik diagnose for patientprøver. Hvis de positive vævskontroller ikke udviser positiv farvning, skal resultaterne med testprøverne anses for ugyldige.

Negativ vævskontrol

Det samme væv, der anvendes til den positive vævskontrol, kan anvendes som negativ vævskontrol. De mange celletyper, der er til stede i de fleste vævssnit, kan bruges som interne negative kontrolsteder, men dette skal verificeres af brugeren. Komponenterne, der ikke farves, skal udvise fravær af specifik farvning og give en indikation af specifik baggrundsfarvning (dvs. små pletter eller sløret farvning). Hvis der opstår specifik farvning på de negative vævskontrolsteder, skal patientpræparaternes resultater anses som ugyldige.

Uforklarede uoverensstemmelser

Uforklarede uoverensstemmelser i kontroller skal straks rapporteres til den lokale supportrepræsentant. Hvis resultaterne af kvalitetskontrol ikke overholder specifikationerne, er patientresultaterne ugyldige. Se afsnittet Fejlfinding på dette metodeark. Find og korrigér problemet, og gentag derefter patientprøverne.

Negativ reagenskontrol

Der skal køres en negativ reagenskontrol for hvert præparat som en hjælp til fortolkning af resultaterne. En negativ reagenskontrol anvendes i stedet for det primære antistof til at evaluere uspecifik farvning (dvs. små pletter eller sløret farvning). Objektglasset skal farves med det relevante reagens til negativ kontrol. Diluenten alene kan anvendes som et alternativ til de tidligere beskrevne negative reagenskontroller. Inkubationstiden for den negative reagenskontrol skal være den samme som inkubationstid for primært antistof.

Når der anvendes paneler med flere antistoffer på serielle snit, kan en negativ reagenskontrol på et objektglas fungere som en baggrundskontrol for negativ eller uspecifik binding for andre antistoffer.

Analyseverifikation

Før den første anvendelse af et primært antistof eller farvningssystem i en diagnostisk procedure bør det primære antistofs specificitet verificeres ved at teste det på en række væv med kendte immunhistokemiske præstationskarakteristika, der repræsenterer kendt positivt og negativt væv (se afsnittet Positiv vævskontrol på metodearket til det primære antistof og kvalitetskontrolanbefalingerne fra College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist,⁶ eller CLSI Approved Guideline⁷ eller begge dokumenter). Disse kvalitetskontrolprocedurer skal gentages for hvert nyt antistof-lot, eller hver gang analyseparametrene ændres. Væv, der er anført i afsnittet med præstationskarakteristika for det primære antistof, er egnede til analyseverifikation.

Fortolkning af resultater

UltraView AP Red detection kit får et rødt reaktionsprodukt til at udfældes på de antigensteder, der lokaliseres af det primære antistof. En kvalificeret patolog, som har erfaring med immunhistokemiske procedurer, skal evaluere kontroller og kvalificere det farvede produkt, før resultaterne fortolkes. Farvning af negative kontroller skal først noteres, og disse resultater sammenlignes med det farvede materiale for at kontrollere, at det genererede signal ikke er resultatet af uspecifikke interaktioner.

Positiv vævskontrol

Den farvede positive vævskontrol skal først undersøges for at sikre, at alle reagenser fungerer korrekt. Tilstedeværelsen af et relevant farvet reaktionsprodukt i målcellernes kerner er tegn på positiv reaktivitet. Afhængigt af inkubationstiden og styrken af det anvendte hematoxylin vil kontrastfarvningen resultere i en lys- til mørkeblå farvning af cellekernerne. For kraftig eller ufuldstændig modfarvning kan bringe korrekt fortolkning af resultater i fare.

Hvis den positive vævskontrol ikke fremviser positiv farvning, skal alle resultater med testpræparaterne anses for ugyldige.

Negativ vævskontrol

Den negative vævskontrol skal undersøges efter den positive vævskontrol for at verificere den specifikke mærkning af målantigenet med det primære antistof. Fraværet af specifik farvning i den negative vævskontrol bekræfter manglen på antistofkrydsreaktivitet over for

celler eller cellebestanddele. Hvis der opstår specifik farvning på den negative vævskontrol, skal patientpræparatets resultater anses som ugyldige.

Uspecifik farvning vil, hvis den er til stede, have et diffust udseende. Sporadisk let farvning af bindevæv kan også observeres i snit fra væv, der er formalinfikseret for kraftigt. Intakte celler skal bruges til fortolkning af farvningsresultater. Nekrotiske eller degenererede celler farves ofte uspecifikt.

Patientvæv

Patientpræparater skal undersøges sidst. Positiv farvningsintensitet bør vurderes inden for rammerne af uspecifik baggrundsfarvning (dvs. små pletter eller sløret farvning) af den negative reagenskontrol. Som ved enhver immunhistokemitest betyder et negativt resultat, at det pågældende antigen ikke blev detekteret, og ikke, at antigenet er fraværende i de analyserede celler eller væv. Brug om nødvendigt et panel af antistoffer til at identificere falsk negative reaktioner. Når ethvert immunhistokemisk resultat fortolkes, bør morfologien for hver vævsprøve også undersøges ved brug af et hematoxylin- og eosinfarvet snit. Patientens morfologiske fund og relevante kliniske data skal fortolkes af en kvalificeret patolog.

BEGRÆNSNINGER

Generelle begrænsninger

1. IHC er en diagnosticeringsproces i flere trin, der kræver specialuddannelse i udvælgelsen af de passende reagenser, vævsvalg, fiksering, behandling, klæring af immunhistokemiske objektglas og fortolkning af farvningsresultaterne.
2. Vævsfarvning er afhængig af håndtering og behandling af vævet før farvning. Forkert fiksering, nedfrysning, optøning, vask, tørring, opvarmning, udsækning eller kontamination med andet væv eller væsker kan fremkalde artefakter, antistofbinding eller falsk negative resultater. Uoverensstemmende resultater kan være et resultat af forskelle i fikserings- og indstøbningsmetoder eller naturlige uregelmæssigheder i selve vævet.
3. For kraftig eller ufuldstændig modfarvning kan bringe korrekt fortolkning af resultater i fare.
4. Den kliniske fortolkning af en positiv farvning, eller dens fravær, skal evalueres på baggrund af anamnese, morfologi og andre histopatologiske kriterier. Den kliniske fortolkning af enhver farvning, eller dens fravær, skal suppleres af morfologiske undersøgelser med korrekte kontroller samt andre diagnostiske tests. Det er en kvalificeret patologs ansvar at være fortrolig med antistoffer, reagenser og metoder, der anvendes til fortolkning af det farvede præparat. Farvning skal udføres i et certificeret, licenseret laboratorium under tilsyn af en patolog, der er ansvarlig for at gennemgå de farvede objektglas og sikre tilstrækkeligheden af positive og negative kontroller.
5. VENTANA-antistoffer og -reagenser leveres med optimal fortynding til brug, når de medfølgende instruktioner følges. Enhver afvigelse fra anbefalede testprocedurer kan ugyldiggøre forventede resultater. Passende kontroller skal anvendes og dokumenteres. Brugere, der afviger fra anbefalede testprocedurer, vil være ansvarlige for fortolkningen af patientresultater.
6. Reagenserne kan fremvise uventede reaktioner i tidligere utestet væv. Muligheden for uventede reaktioner selv i testede vævsgrupper kan ikke helt udelukkes på grund af den biologiske variabilitet i antigenekspressionen i neoplasmer eller andre patologiske væv.⁸ Kontakt din lokale supportrepræsentant med dokumenterede uventede reaktioner.
7. Når det anvendes i blokeringstrin, kan normal sera fra samme dyrekilde som de sekundære antisera forårsage falsk negative eller falsk positive resultater på grund af autoantistoffer eller naturlige antistoffer.
8. Falsk positive resultater kan ses på grund af ikke-immunologisk binding af proteiner eller substratreaktionsprodukter. De kan også være forårsaget af pseudoperoxidaseaktivitet (erythrocytter), endogen peroxidase,⁹ eller endogen alkalisk fosfatase.
9. Som ved enhver immunhistokemitest betyder et negativt resultat, at antigenet ikke blev detekteret, og ikke, at antigenet var fraværende i de analyserede celler eller væv.

Specifikke begrænsninger

1. Hvert trin i dette detektionskit er blevet optimeret på BenchMark IHC/ISH-instrumenter og er forudindstillet. På grund af variation i vævsfiksering og -behandling kan det være nødvendigt at fjerne eller forminske inkubationstid for primært antistof for individuelle præparater. For yderligere information om

- fikseringsvariabler henvises til "Immunohistochemistry Principles and Advances"⁵ eller "Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist."¹⁰
- I kombination med VENTANA primære antistoffer og tilhører detekterer dette detektionskit antigen, der overlever rutinemæssig formalinfiksering, vævsbehandling og -udskæring.
 - Dette detektionskit er blevet optimeret til brug med Reaction Buffer-vaskeopløsning, primære antistoffer, tilhører og BenchMark IHC/ISH-instrumenter. Det er vigtigt at bruge Reaction Buffer-vaskeopløsning for at opnå den rette funktion med dette detektionskit. Brugere, der afviger fra anbefalede testprocedurer, er ansvarlige for fortolkning af patientresultater under disse omstændigheder.
 - Dette detektionskit er blevet optimeret til brug med LCS (Predilute) eller ULTRA LCS (Predilute). LCS-barrieren reducerer fordampning og tilvejebringer et stabilt vandigt miljø til IHC-reaktionerne udført på BenchMark IHC/ISH-instrumenter.
 - Når du bruger dobbeltfarvning, kan der observeres små farvenuanceudsving inden for de enkelte kromogener kan observeres på grund af krydsreaktivitet mellem kromogenreaktionerne.
 - Alle analyser er ikke nødvendigvis registreret på alle instrumenter. Kontakt den lokale supportrepræsentant for yderligere oplysninger.

YDEEVNEKARAKTERISTIKA

Ydeevnen af *ultraView* AP Red detection kit blev evalueret ved hjælp af undersøgelser af præcision og andre relevante undersøgelser. Al farvning blev udført ved hjælp af protokollen som beskrevet på metodearket til *ultraView* AP Red detection kit på BenchMark IHC/ISH-instrumenter, medmindre andet er angivet.

Undersøgelser af præcision – enkeltfarvning

Undersøgelse af præcision blev udført ved farvning af serielle snit af FFPE-tonsil med neutral buffer og primært anti-Ki67-antistof på BenchMark IHC/ISH-instrumenter, medmindre andet er angivet.

Inkubationstiden for det primære antistof var 16 minutter, og alle objektglas blev kontrastfarvet ved hjælp af Hematoxylin II efterfulgt af Bluing Reagent. Alle objektglas, der var farvet med et primært antistof, blev sammenlignet med hinanden for korrekt farvning af intensitet og scoret af en kvalificeret objektglaslæser.

- Præcision inden for samme farvekørsel (samme primære antistof farvet på en platform) sammenlignede objektglas farvet på samme dag inden for en kørsel på én platform. Med dette kriterie blev objektglas farvet på et BenchMark XT-instrument, og resultaterne blev sammenlignet. Præcision inden for samme kørsel var 100 % for BenchMark XT-instrumentet.
- Præcision mellem kørsler blev beregnet ud fra antallet af objektglas, der blev farvet i 3 kørsler pr. farvningsinstrumenttype. Farvningskørslerne blev udført med én pr. dag på 3 separate dage ved brug af ét BenchMark XT-instrument. Præcision mellem kørsler for BenchMark XT-instrumentet var 100 % (30 ud af 30 objektglas, 10 objektglas farvet pr. primært antistof fordelt på 3 separate kørsler).
- Præcision mellem instrumenter blev beregnet ud fra antallet af objektglas, der blev farvet i 9 kørsler fordelt på alle instrumenter. Farvningskørslerne blev udført med 1 pr. dag på 3 separate dage ved brug af 3 forskellige instrumenter: BenchMark GX, BenchMark XT og BenchMark ULTRA instrumenter til IHC. Præcision mellem instrumenter for *ultraView* AP Red detection kit var 100 % (90 ud af 90 farvede objektglas).

Der er udviklet en række primære VENTANA-antistoffer med *ultraView* AP Red detection kit. I forbindelse med testningen ved hjælp af de analyser blev følgende præstationskarakteristika påvist for *ultraView* AP Red detectionkit:

- Præcision mellem kørsler, dage, instrumenter og platforme på BenchMark GX-, BenchMark XT- og BenchMark ULTRA-instrumenter.
- Sensitivitet og specificitet for farvning på tværs af en række normale og neoplastiske vævstyper og analysespecifikke målvævstyper.

Alle undersøgelser opfyldte deres godkendelseskriterier.

Præcisionen på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet blev demonstreret ved hjælp af repræsentative analyser. Undersøgelserne omfattede reproducerbarhed inden for samme kørsel, dag til dag-præcision og mellemprecision mellem kørsler. Alle undersøgelser opfyldte deres godkendelseskriterier.

Undersøgelser af præcision – Dual-farvning

Der blev gennemført undersøgelser af præcision for *ultraView* AP Red detection kit (ved brug af CONFIRM anti-CD3 (2GV6)-antistof) med *ultraView* DAB detection kit (ved brug af CONFIRM anti-CD20 (L26)-antistof) med henblik på at demonstrere:

- Præcision inden for samme kørsel og præcision mellem kørsler på BenchMark IHC/ISH-instrumenter.
- Præcision inden for samme platform på BenchMark IHC/ISH-instrumenter.
- Præcision mellem platforme for BenchMark GX-, BenchMark XT- og BenchMark ULTRA-instrumenter.

Alle undersøgelser opfyldte deres godkendelseskriterier.

Der blev gennemført undersøgelser af præcision for *ultraView* AP Red detection kit (ved brug af CONFIRM anti-CD3 (2GV6)-antistof) med OptiView DAB IHC detection kit (ved brug af CONFIRM anti-CD20 (L26)-antistof) med henblik på at demonstrere:

- Præcision inden for samme kørsel og præcision mellem kørsler på BenchMark IHC/ISH-instrumenter.
- Præcision inden for samme platform på BenchMark IHC/ISH-instrumenter.
- Præcision mellem platforme for BenchMark GX-, BenchMark XT- og BenchMark ULTRA-instrumenter.

Alle undersøgelser opfyldte deres godkendelseskriterier.

Undersøgelser af overensstemmelse – Dual-farvning

Der blev gennemført en undersøgelse på BenchMark GX-, BenchMark XT- og BenchMark ULTRA-instrumenter for at demonstrere overensstemmelsen mellem dobbeltfarvet objektglas ved hjælp af *ultraView* DAB detektionskit (ved brug af CONFIRM anti-CD20 (L26)-antistof) med *ultraView* AP Red detection kit (ved brug af CONFIRM anti-CD3 (2GV6)-antistof) og det enkeltfarvede CONFIRM anti-CD3 (2GV6)-antistof- og CONFIRM anti-CD20 (L26)-antistofobjektglas. De enkeltfarvede objektglas blev kørt ved hjælp af *ultraView* DAB detektionskit med de betingelser, der er anført i metodearket.

Der blev gennemført en undersøgelse på BenchMark GX-, BenchMark XT- og BenchMark ULTRA-instrumenter for at demonstrere overensstemmelsen mellem dobbeltfarvet objektglas ved hjælp af OptiView DAB detektionskit (ved brug af CONFIRM anti-CD20 (L26)-antistof) med *ultraView* AP Red detection kit (ved brug af CONFIRM anti-CD3 (2GV6)-antistof) og det enkeltfarvede CONFIRM anti-CD3 (2GV6)-antistof- og CONFIRM anti-CD20 (L26)-antistofobjektglas. De enkeltfarvede objektglas blev kørt ved hjælp af *ultraView* DAB detektionskit med de betingelser, der er anført i metodearket.

Alle undersøgelser opfyldte deres godkendelseskriterier.

FEJLFINDING

- Hvis den positive kontrol udviser svagere farvning end forventet, skal de andre positive kontroller, der blev kørt under samme instrumentkørsel, kontrolleres for at afgøre, om det skyldes det primære antistof eller et af de fælles sekundære reagenser.
- Hvis den positive kontrol er negativ, skal det kontrolleres, om objektglasset har den rigtige stregkodeetiket. Hvis objektglasset er mærket korrekt, skal du kontrollere de andre positive kontroller, der blev kørt på det samme instrument, for at afgøre, om det skyldes det primære antistof eller et af de fælles sekundære reagenser. Vævene kan være forkert indsamlet, fikseret eller afparaffineret. Den korrekte procedure for indsamling, opbevaring og fiksering skal følges.
- Ufuldstændig fjernelse af paraffin kan resultere i farvningsartefakter eller ingen farvning.
 - Hvis al paraffin ikke er blevet fjernet fra objektglasset, skal farvekørslen gentages ved hjælp af den udvidede afparaffineringsfunktion, hvis den er tilgængelig.
 - Alternativt kan der udføres manuel afparaffinering uden for instrumentet. Hvis den manuelle mulighed anvendes, skal du fravælge online afparaffinering fra farvningsprotokollen, inden objektglassene sættes på instrumentet. Der skal udvises ekstra omhyggelighed for at sikre, at objektglas ikke tørrer ud inden farvekørslen.
- Hvis specifik antistoffarvning er for intens, skal kørslen gentages med antistofinkubationstiden forkortet med 4 minutters intervaller, indtil den ønskede farvningsintensitet er opnået.
- Hvis vævssnit vaskes af objektglasset, skal objektglassene kontrolleres for at sikre, at de er positivt ladede.
- For afhjælpende handlinger henvises til afsnittet Procedure i instrumentets brugervejledning, eller du kan kontakte din lokale supportrepræsentant.
- Hvis en reagensdispenser ikke dispenserer væske, skal du kontrollere spædningskammeret eller menisken for fremmedlegemer eller partikler som fibre eller udfældning. Hvis dispenseren er blokeret, må du ikke anvende dispenseren, og

du skal kontakte den lokale supportrepræsentant. Ellers skal du prime dispenserens igen ved at rette dispenserens hen over en affaldsbeholder, fjerne dysehætten og trykke ned på toppen af dispenserens. Se inline-dispenserens metodeark for at få yderligere information om korrekt brug.

8. Der kan forekomme periodisk krystallisering fra Naphthol-fosfatdispenserens. Ingen undersøgelser tyder på, at krystallerne forstyrrer fortolkningen af resultater. Hvis der observeres krystaller på objektglassene, rengøres dysespidsen, og dispenserens primes for at sikre, at eventuelle krystalrester fjernes. Hvis der stadig er krystaller, kasseres dispenserens, og din lokale supportrepræsentant kontaktes med henblik på udskiftning af dispenserens.
9. Fast Red-kromogen er opløseligt i alkohol og acetone. Farvede objektglas, der udsættes for alkohol og/eller acetone, kan resultere i et tab af specifikt signal.

REFERENCER

1. Elias JM, Gown AM, Nakamura RM, Wilbur DC, Herman GE, Jaffe ES, Battifora H, Brigati DJ. Quality control in immunohistochemistry. Report of a workshop sponsored by the Biological Stain Commission. Am J Clin Pathol. 1989;92(6):836-843.
2. Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. 2nd edition. St. Louis, MO: The C.V. Mosby Company; 1980.
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. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry: Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
6. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2009.
7. (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.
8. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem. 1991;66(4):194-199.
9. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. Lab Med. 1983;14:767.
10. Taylor C, Cote RJ. Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist. 2nd Edition. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company; 1986.

BEMÆRK: Der anvendes altid et punktum i dette dokument som decimaltegn til markering af grænsen mellem det hele tal og de efterfølgende decimaler. Der anvendes ikke tusindtalsseparatorer.

Symboler

Ventana bruger følgende symboler og tegn ud over dem, der er anført i ISO 15223-1-standard (for USA: se [dialog.roche.com](https://www.roche.com/dialog) for definition af anvendte symboler):

GTIN GTIN (Global Trade Item Number (globalt vareidentifikationsnummer))

Rx only For USA: Forsigtig: Ifølge amerikansk føderal lovgivning må dette udstyr kun sælges af eller efter ordination fra en læge.

REVISIONSHISTORIK

Rev	Opdateringer
L	Afsnittet Advarsler og forholdsregler er blevet opdateret. Opdatering af den aktuelle skabelon.

OPHAVSRET

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM, OPTIVIEW og ULTRAVIEW er varemærker tilhørende Roche. Alle andre produktnavne og varemærker tilhører deres respektive ejere.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

KONTAKTOPLYSNINGER



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

