

ultraView Universal DAB Detection Kit

REF 760-500

05269806001

IVD  250

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

ultraView Universal DAB Detection Kit é um sistema indireto e isento de biotina para a deteção de IgG de rato, IgM de rato e de anticorpos primários de coelho. O kit destina-se a ser utilizado para identificar alvos através de imuno-histoquímica em secções de tecido fixado em formol e impregnado em parafina, ou de tecido congelado, que tenham sido coradas no instrumento BenchMark IHC/ISH.

Este produto deverá ser interpretado por um patologista qualificado, em conjunto com um exame histológico, a informação clínica relevante e os controlos adequados.

Este produto destina-se a utilização em diagnóstico *in vitro* (IVD).

RESUMO E EXPLICAÇÃO

A imuno-histoquímica (IHC) é uma técnica utilizada em laboratório para fins de diagnóstico. A IHC utiliza anticorpos primários específicos que localizam e se ligam aos antígenos em secções de tecido fixadas ou congeladas. A ligação do anticorpo ao antígeno é visualizada utilizando um método de deteção indireta. As técnicas mais comuns dos métodos indiretos utilizam um anticorpo secundário direcionado contra a espécie de anticorpo primário e uma enzima com um sistema de substrato-cromogénio correspondente. Desta combinação resulta um precipitado corado no local de ligação específico do anticorpo. ultraView Universal DAB Detection Kit utiliza um método indireto para visualizar anticorpos específicos ligados a antígenos depositando um precipitado de cor castanha.

PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

ultraView Universal DAB Detection Kit deteta anticorpos primários de rato e de coelho específicos ligados a um antígeno em secções de tecido fixado em formol e impregnado em parafina (FFPE) ou em secções de tecido congelado. O anticorpo específico é localizado por um cocktail de anticorpos secundários marcados com enzimas. O complexo é depois visualizado com um substrato de peróxido de hidrogénio e cromogénio tetra-hidrocloreto de 3,3'-diaminobenzidina (DAB), que produz um precipitado castanho que é prontamente observado através de microscopia ótica.

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 IHC/ISH lava as secções para remover material não ligado e aplica uma solução coverslip que minimiza a evaporação dos reagentes aquosos da lâmina.¹ Os resultados são interpretados utilizando um microscópio ótico e ajudam a fazer o diagnóstico diferencial de processos patofisiológicos que podem, ou não, estar associados a um antígeno particular.

Para obter informações mais pormenorizadas sobre o funcionamento do instrumento, consulte o Manual do utilizador apropriado. A Figura 1 ilustra o método de deteção indireta.

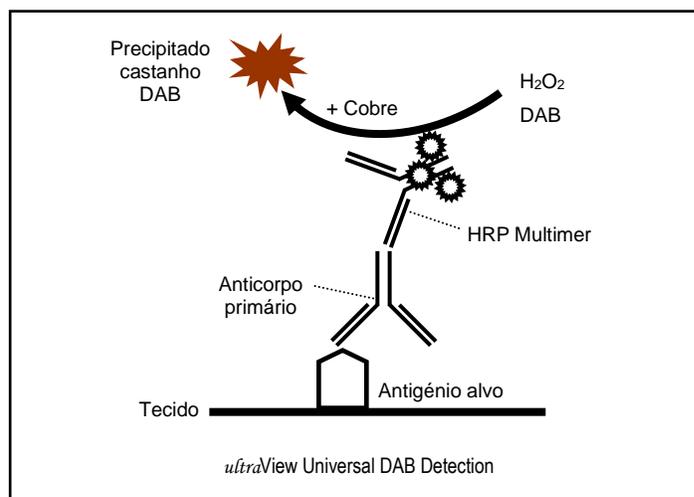


Figure 1. Reação de ultraView Universal DAB Detection Kit

MATERIAL E MÉTODOS

Materiais fornecidos

ultraView Universal DAB Detection Kit contém reagente suficiente para 250 testes.

Um dispensador de 25 mL	ultraView Universal DAB Inhibitor contém solução de peróxido de hidrogénio a 3%.
Um dispensador de 25 mL	ultraView Universal HRP Multimer contém um cocktail de anticorpos marcados com HRP (IgG de cabra anti-ratinho, IgM de cabra anti-ratinho e de cabra anti-coelho) (aproximadamente 55 µg/mL) num tampão contendo proteína com ProClin 300, um conservante.
Um dispensador de 25 mL	ultraView Universal DAB Chromogen contém 0.2% p/v de tetra-hidrocloreto de 3,3'-diaminobenzidina numa solução estabilizadora proprietária com um conservante proprietário.
Um dispensador de 25 mL	ultraView Universal DAB H ₂ O ₂ contém peróxido de hidrogénio a 0.04% numa solução de tampão fosfato.
Um dispensador de 25 mL	ultraView Universal DAB Copper contém sulfato de cobre (5 g/L) num tampão acetato com um conservante proprietário.

Reconstituição, homogeneização, diluição, titulação

O kit de deteção 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 resultar na perda de coloração.

Materiais necessários, mas não fornecidos

Os reagentes de coloração, como os anticorpos primários e os componentes auxiliares VENTANA, incluindo lâminas de controlo tecidual positivo e negativo, 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 no kit de deteção:

1. Anticorpo primário
2. Reagente de controlo negativo
3. Controlos tecidulares positivo e negativo (consulte as folhas de métodos do anticorpo para saber quais são os tipos recomendados)
4. Amplification Kit (Ref. 760-080 / 05266114001)
5. Protease 1 (Ref. 760-2018 / 05266688001)
6. Protease 2 (Ref. 760-2019 / 05266696001)
7. Protease 3 (Ref. 760-2020 / 05266718001)
8. Hematoxylin (Ref. 760-2021 / 05266726001)

9. Hematoxylin II (Ref. 790-2208 / 05277965001)
10. Bluing Reagent (Ref. 760-2037 / 05266769001)
11. Reaction Buffer Concentrate (10X) (Ref. 950-300 / 05353955001)
12. Cell Conditioning Solution 1 (CC1) (Ref. 950-124 / 05279801001)
13. Cell Conditioning Solution 2 (CC2) (Ref. 950-123 / 05279798001)
14. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (Ref. 950-224 / 05424569001)
15. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (Ref. 950-223 / 05424542001)
16. Antibody Diluent (Ref. 251-018 / 05261899001)
17. EZ Prep Concentrate (10X) (Ref. 950-102 / 05279771001)
18. LCS (Predilute) (Ref. 650-010 / 05264839001)
19. ULTRA LCS (Predilute) (Ref. 650-210 / 05424534001)
20. Instrumento BenchMark IHC/ISH
21. Lâminas de microscópio carregadas positivamente
22. Coverslip e método coverslip suficiente para cobrir o tecido
23. 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 utilizador deverá validar quaisquer outras condições de conservação que não sejam especificadas na folha de métodos. O kit de deteção pode ser utilizado imediatamente depois de retirado do frigorífico.

Para garantir uma correta distribuição do reagente e a estabilidade de cada reagente, volte a colocar a tampa no dispensador após cada utilização e coloque o dispensador imediatamente no frigorífico na posição vertical.

Cada kit de deteção tem indicada a respetiva data de validade. Quando corretamente conservado, o produto permanece estável até à data indicada na etiqueta. Não utilizar o produto depois de ultrapassada a data de validade para o método de conservação indicado. Não existem quaisquer sinais concretos que indiquem a instabilidade deste produto; como tal, os controlos positivo e negativo deverão ser executados simultaneamente no caso de amostras desconhecidas. Deverá ser contactado imediatamente o representante de assistência local se houver qualquer indício de instabilidade do reagente.

Colheita das amostras e preparação para análise

Os tecidos FFPE processados regularmente são adequados para utilização com *ultraView* Universal DAB Detection Kit e instrumentos BenchMark IHC/ISH (consulte a secção Materiais necessários, mas não fornecidos). O fixador de tecido recomendado é formol neutro tamponado (NBF) a 10%.² Poderão ocorrer resultados variáveis em resultado da espessura da secção de tecido, do tipo de fixação, de uma fixação prolongada incompleta ou de processos especiais, como a descalcificação de preparações de medula óssea.

Cada secção deve ser cortada com a espessura apropriada para o anticorpo primário que está a ser utilizado (consulte a Folha de métodos do anticorpo em questão), devendo depois ser colocada numa lâmina de vidro carregada positivamente. As lâminas que contêm a secção de tecido devem secar na posição vertical durante pelo menos 15 minutos à temperatura ambiente para escorrer o excesso de água que possa estar debaixo da secção antes da cozedura. As lâminas podem ser cozidas/aquecidas durante 1 hora numa estufa a 60 °C ± 5 °C, ou secas ao ar a 37 °C durante um máximo de 24 horas. A secação e aquecimento das lâminas são utilizados para secar o tecido após a montagem da lâmina e para melhorar a aderência do tecido ao vidro. Consulte a folha de métodos do anticorpo primário para identificar as limitações do aquecimento. O aquecimento prolongado do tecido pode ter como resultado uma diminuição da disponibilidade do antigénio.

Os tecidos devidamente fixados e impregnados que expressem o antigénio manter-se-ão estáveis se conservados num local fresco (15-25 °C). A Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) de 1988, 42CFR493.1259 (b) diz que "O laboratório tem de guardar as lâminas durante no mínimo dez anos a contar da data em que foi realizado o exame e preservar os blocos de amostras durante no mínimo dois anos a contar da data do exame". Cada laboratório deve validar a estabilidade da lâmina com o corte de acordo com os seus próprios procedimentos e com as suas próprias condições de conservação ambiental.

Os tecidos congelados processados regularmente são também adequados para utilização com *ultraView* Universal DAB Detection Kit e instrumentos BenchMark IHC/ISH. O tempo recomendado para fixação de tecidos são 10 minutos em acetona fria. Poderão ocorrer resultados variáveis em consequência de fixação prolongada ou de processos especiais, tais como a descalcificação de preparações de medula óssea.

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Para utilização em diagnóstico in vitro (IVD).
2. Apenas para utilização profissional.
3. **ADVERTÊNCIA:** Nos Estados Unidos, a Lei Federal restringe a venda deste dispositivo a um médico ou mediante receita médica. (Rx Only)
4. **Aviso: possível carcinogénico.** A International Agency for Research on Cancer (IARC) e o US National Toxicology Program (NTP) incluíram a benzidina, um composto intimamente relacionado com o tetra-hidrocloro de 3,3'-diaminobenzidina (DAB), na lista de carcinogénicos humanos conhecidos.
5. Não utilizar num número de testes superior ao especificado.
6. 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.
7. 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.^{3,4}
8. 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.
9. Se os reagentes entrarem em contacto com áreas sensíveis, lave com água em abundância. Evite a inalação dos reagentes.
10. 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.
11. Evite a contaminação microbiana dos reagentes pois ela pode produzir resultados incorretos.
12. 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.
13. Consulte as autoridades locais e/ou estatais para determinar o método de eliminação recomendado.
14. 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.
15. 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 produto contém componentes classificados da seguinte forma, nos termos do disposto no Regulamento (CE) N.º 1272/2008:

Table 1. Informações sobre os perigos.

Perigo	Código	Advertência
	H317	Pode provocar uma reação alérgica cutânea.
	H319	Provoca irritação ocular grave.
	H350	Pode provocar cancro.
	H412	Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.
	P201	Pedir instruções específicas antes da utilização.
	P261	Evitar respirar névoas ou vapores.
	P273	Evitar a libertação para o ambiente.
	P280	Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial/proteção auditiva.
	P308 + P313	EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico.
P333 + P313	Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.	

PROCEDIMENTO

ultraView Universal DAB Detection Kit foi desenvolvido para utilização em instrumentos BenchMark IHC/ISH em combinação com anticorpos primários e produtos auxiliares VENTANA. Os parâmetros para os procedimentos automáticos podem ser apresentados, impressos e editados de acordo com o procedimento contido 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 apresentados abaixo. Para obter instruções mais detalhadas, bem como outras opções de protocolo, consulte o Manual do utilizador. O facto de uma amostra necessitar ou não de Cell Conditioning depende do anticorpo. Consulte a folha de métodos do anticorpo para obter instruções.

Instrumentos BenchMark IHC/ISH

1. Cole na lâmina a etiqueta de código de barras que corresponde ao protocolo a ser realizado.
2. Carregue o anticorpo primário, 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 Procedimentos de processamento pós-instrumento recomendados.

Procedimentos de processamento pós-instrumento recomendados

1. Lave as lâminas com um detergente de loiça suave para remover a solução coverslip.
2. Enxágue bem as lâminas em água destilada para remover todo o detergente.
3. Desidrate, limpe e aplique solução coverslip com meios de montagem permanentes.

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. Esta prática ajuda a identificar uma falha na aplicação do anticorpo primário ou de outro reagente importante na lâmina de teste do paciente. Um tecido que apresente uma coloração positiva fraca é mais adequado para um controlo de qualidade ótimo. Os componentes tecidulares de coloração positiva são utilizados para confirmar a aplicação do anticorpo 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 tecidos de controlo deverão ser amostras recém-colhidas de autópsia, biópsia ou cirurgia, preparadas ou fixadas o mais cedo possível e de forma idêntica às secções de teste. Este tipo de tecidos pode servir para monitorizar todas as etapas do procedimento, desde a preparação do tecido até à coloração. A utilização de uma secção de tecido fixado ou processado de forma diferente da amostra do teste facultará um controlo apropriado de todos os reagentes e etapas do método, excetuando a fixação e o 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 das amostras de teste deverão ser considerados inválidos.

Controlo tecidular negativo

O mesmo tecido utilizado como controlo tecidular positivo pode ser utilizado como controlo tecidular negativo. A variedade de tipos de células presente na maioria das secções de tecido disponibiliza locais de controlo negativo interno, mas isto deve ser verificado pelo utilizador. Os componentes que não ficarem corados devem demonstrar a ausência de coloração específica e fornecer uma indicação de coloração de fundo. Se ocorrer coloração específica nos locais de controlo tecidular negativo, os resultados obtidos com as amostras de pacientes devem ser considerados inválidos.

Discrepâncias inexplicáveis

Quaisquer discrepâncias inexplicáveis nos controlos deverão ser imediatamente comunicadas ao representante de assistência local. Se os resultados do controlo de qualidade não estiverem em conformidade com as especificações, os resultados dos pacientes são inválidos. Consulte a secção de Resolução de problemas desta folha de métodos. Identifique e corrija o problema e, em seguida, repita a análise das amostras dos pacientes.

Controlo de reagente negativo

Deverá ser executado um controlo de reagente negativo para cada amostra, para auxiliar na interpretação dos resultados. Para avaliar coloração não específica é utilizado um controlo de reagente negativo em vez do anticorpo primário. A lâmina deve ser corada com Negative Control Mouse ou Negative Control Rabbit, conforme apropriado. Pode ser utilizado apenas o diluente como alternativa aos controlos de reagente negativos anteriormente descritos. O período de incubação do controlo de reagente negativo deve ser igual ao período de incubação do anticorpo primário.

Quando são utilizados painéis de vários anticorpos em séries de secções, um controlo de reagente negativo numa lâmina pode funcionar como controlo de fundo de ligação não específico ou negativo para outros anticorpos.

Verificação do ensaio

Antes de utilizar pela primeira vez um anticorpo primário ou um sistema de coloração num procedimento de diagnóstico, a especificidade do anticorpo primário deverá ser verificada testando esse anticorpo numa série de tecidos com características do desempenho imuno-histoquímico conhecidas representativas de tecidos negativos e positivos conhecidos (consulte a secção Controlo tecidular positivo da folha de métodos do anticorpo primário e as recomendações de Controlo de qualidade do College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist,⁵ da CLSI Approved Guideline⁶ ou de ambos os documentos). Estes procedimentos de controlo de qualidade deverão ser repetidos para cada novo lote de anticorpos, ou sempre que ocorrer uma alteração nos parâmetros do ensaio. Os tecidos referidos na secção Características do desempenho do anticorpo primário são adequados para verificação do ensaio.

Interpretação dos resultados

ultraView Universal DAB Detection Kit provoca a precipitação de um produto de reação de cor castanha nos locais de antígeno localizados pelo anticorpo primário. Um patologista qualificado, que tenha experiência em procedimentos de imuno-histoquímica, deverá avaliar os controlos e qualificar o produto corado antes de interpretar os resultados. A coloração de controlos negativos tem de ser observada em primeiro lugar, devendo estes resultados ser comparados com o material corado para verificar se o sinal gerado não é o resultado de interações não específicas.

Controlo tecidular positivo

O controlo tecidular positivo corado deve ser examinado primeiro para ter a certeza de que todos os reagentes estão a funcionar corretamente. A presença de um produto de reação com a coloração apropriada no interior das células alvo é um indicador de reatividade positiva. Dependendo da duração da incubação e da potência da hematoxilina utilizada, a sujeição a coloração contrastante terá como resultado uma coloração dos núcleos da célula que vai do azul-pálido ao azul-escuro. A sujeição a coloração contrastante excessiva ou insuficiente pode comprometer a correta interpretação dos resultados.

Se o controlo tecidular positivo não permitir demonstrar coloração positiva apropriada, quaisquer resultados obtidos com as amostras de teste devem ser considerados inválidos.

Controlo tecidular negativo

O controlo tecidular negativo deverá ser examinado a seguir ao controlo tecidular positivo, para verificar a marcação específica do antígeno alvo pelo anticorpo primário. A ausência de coloração específica no controlo tecidular negativo confirma a ausência de reatividade cruzada do anticorpo com as células ou os componentes celulares. Se ocorrer coloração específica no controlo tecidular negativo, os resultados obtidos com a amostra de paciente devem ser considerados inválidos.

A coloração não específica, caso esteja presente, terá um aspeto difuso. Também é possível observar uma coloração ligeira esporádica de tecido conjuntivo em secções de tecidos que tenham sido fixadas com excesso de formol. Devem ser utilizadas células intactas para interpretação dos resultados da coloração. As células necróticas ou degeneradas muitas vezes coram de forma não específica.

Tecido do paciente

As amostras de pacientes deverão ser examinadas em último lugar. A intensidade da coloração positiva deve ser avaliada dentro do contexto de qualquer coloração de fundo não específica do controlo de reagente negativo. A semelhança do que acontece com qualquer teste de imuno-histoquímica, um resultado negativo significa que o antígeno em questão não foi detetado e não que o antígeno esteja ausente das células ou do tecido analisado. Se necessário, utilize um painel de anticorpos para ajudar na identificação de reações falsas negativas. A morfologia de cada amostra de tecido deverá ser examinada utilizando uma secção corada com hematoxilina e eosina aquando da interpretação de qualquer resultado imuno-histoquímico. Os resultados morfológicos e os dados clínicos pertinentes do paciente devem ser interpretados por um patologista qualificado.

LIMITAÇÕES

Limitações gerais

1. A IHC é um processo de diagnóstico em várias etapas que exige uma formação especializada na seleção dos reagentes apropriados, na seleção dos tecidos, fixação, processamento, preparação da lâmina de imuno-histoquímica e interpretação dos resultados da coloração.
2. A coloração do tecido depende do manuseamento e do 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 anticorpos ou resultados falsos negativos. Os resultados inconsistentes podem ser resultantes de variações nos métodos de fixação e impregnação ou de irregularidades inerentes no tecido.
3. A sujeição a coloração contrastante excessiva ou insuficiente pode comprometer a correta interpretação dos resultados.
4. A interpretação clínica de qualquer tipo de coloração positiva, ou da sua ausência, tem de ser avaliada dentro do contexto da história clínica, da morfologia e de outros critérios histopatológicos. A interpretação clínica de qualquer tipo de coloração, ou da sua ausência, tem de ser complementada por estudos morfológicos e por controlos apropriados, bem como através de outros testes de diagnóstico. É da responsabilidade de um patologista qualificado estar familiarizado com os anticorpos, os reagentes e os métodos utilizados para interpretar a preparação corada. A coloração tem de ser realizada num laboratório certificado e licenciado, sob supervisão de um patologista que seja responsável pela revisão das lâminas coradas e que assegure a adequação dos controlos positivos e negativos.
5. Os anticorpos e 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.
6. 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 da expressão de antígenos em neoplasias ou noutros tecidos patológicos.⁷ Contacte o seu representante de assistência local e apresente-lhe quaisquer reações inesperadas documentadas.
7. Os tecidos de pessoas infetadas pelo vírus da hepatite B e que contêm o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) podem apresentar coloração não específica com peroxidase de rábano.⁸
8. Quando utilizados em etapas de bloqueio, os soros normais com a mesma origem animal que os antissoros secundários podem causar resultados falsos negativos ou falsos positivos, devido aos autoanticorpos ou aos anticorpos naturais.
9. À semelhança do que acontece com qualquer teste de imuno-histoquímica, um resultado negativo significa que o antígeno não foi detetado, e não que o antígeno esteja ausente das células ou do tecido analisado.

Limitações específicas

1. Cada etapa do procedimento do kit de deteção foi otimizada nos instrumentos BenchMark IHC/ISH e encontra-se predefinida. Devido à variação na fixação e no processamento de tecidos, poderá ser necessário aumentar ou diminuir o tempo de incubação do anticorpo primário em amostras individuais. O tempo de incubação do anticorpo primário depende do grau de fixação de tecidos, podendo variar entre 8 e 32 minutos. Para mais informações sobre as variáveis de fixação, consulte

"Immunohistochemistry Principles and Advances"⁹ ou "Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist".¹⁰

2. O kit de deteção, em combinação com anticorpos primários e acessórios VENTANA, deteta o antígeno que sobrevive à rotina de fixação com formol, processamento e seccionamento de tecidos.
3. Este kit de deteção foi otimizado para utilização com solução de lavagem Reaction Buffer, anticorpos primários, acessórios e instrumentos BenchMark IHC/ISH. A utilização da solução de lavagem Reaction Buffer é importante para o funcionamento correto do kit de deteção. Os utilizadores que se desviarem dos procedimentos de teste recomendados são responsáveis pela interpretação dos resultados dos pacientes nessas circunstâncias.
4. Este kit de deteção foi otimizado para utilização com LCS (Predilute) ou ULTRA LCS (Predilute). LCS é uma solução coverslip pré-diluída utilizada tanto enquanto barreira entre os reagentes aquosos e o ar, como enquanto reagente para remover parafina de amostras de tecido durante o processo de desparafinação. A barreira LCS reduz a evaporação e proporciona um ambiente aquoso estável para a reação de IHC ou de hibridação in situ (ISH) levada a cabo em instrumentos VENTANA.
5. Tempos de incubação e temperaturas diferentes dos especificados podem produzir resultados erróneos. O utilizador deverá validar qualquer alteração desse tipo.
6. Os kits de deteção podem não estar todos registados em todos os instrumentos. Contacte o seu representante local da Roche para obter mais informações.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

DESEMPENHO ANALÍTICO

O desempenho de *ultraView* Universal DAB Detection Kit foi avaliado através de estudos de precisão e de outros estudos relevantes. Todas as colorações foram realizadas utilizando o protocolo, tal como indicado na folha de métodos do anticorpo, em instrumentos BenchMark IHC/ISH, salvo especificação em contrário.

Estudos de precisão

O teste de precisão de *ultraView* Universal DAB Detection Kit foi realizado efetuando a coloração de secções em série de 3 tecidos FFPE neutros tamponados utilizando 3 anticorpos primários, uma IgG de rato (anti-Ki67) corada em carcinoma da mama, uma IgM de rato (anti-CD15) corada num xenoinxerto de Linfoma de Hodgkin e uma IgG de coelho (anti-S100) num melanoma, utilizando instrumentos BenchMark e BenchMark XT. Todos os anticorpos primários foram incubados durante 16 minutos e as lâminas foram sujeitas a coloração contrastante utilizando Hematoxylin II seguida de Bluing Reagent. Todas as lâminas coradas com um anticorpo primário foram comparadas umas com as outras para verificar se a coloração e a intensidade eram as apropriadas:

1. Foram realizados processos de coloração para verificação da precisão intraensaio (mesmo anticorpo primário corado numa plataforma comparável) uma vez por dia em 3 dias diferentes, utilizando 2 instrumentos diferentes: instrumentos BenchMark e BenchMark XT num total de 6 processos de coloração. A precisão intraensaio do instrumento BenchMark XT foi de 100% (30 de 30 lâminas por anticorpo primário por ensaio, num total de 90 lâminas coradas por anticorpo nos 3 ensaios) e de 100% (20 de 20 lâminas por anticorpo primário por ensaio, num total de 60 lâminas por anticorpo em 3 ensaios) para cada instrumento BenchMark.
2. A precisão entre ensaios foi calculada com base no número de lâminas coradas em 3 ensaios por cada tipo de instrumento. Os processos de coloração foram realizados uma vez por dia em 3 dias diferentes, utilizando 2 instrumentos diferentes: instrumentos BenchMark e BenchMark XT. A precisão entre ensaios do instrumento BenchMark XT foi de 100% (90 de 90 lâminas, 30 lâminas para cada anticorpo primário em 3 ensaios diferentes), e de 100% (60 de 60 lâminas, 20 lâminas para cada anticorpo primário em 3 ensaios diferentes para cada plataforma) para o instrumento BenchMark.
3. A precisão entre instrumentos foi calculada com base no número de lâminas coradas em 6 ensaios em todos os tipos de instrumentos. Foram realizados processos de coloração 1 vez por dia em 3 dias diferentes, utilizando 2 instrumentos diferentes: instrumentos BenchMark e BenchMark XT. A precisão entre instrumentos de *ultraView* Universal DAB Detection Kit é de 100% (150 das 150 lâminas coradas; as lâminas avaliadas incluíam os 3 anticorpos primários).

Foram desenvolvidos vários anticorpos primários VENTANA com *ultraView* Universal DAB Detection Kit. Nos testes destes ensaios, foram demonstradas as seguintes características do desempenho de *ultraView* Universal DAB Detection Kit:

1. Precisão intraensaio, entre dias, entre instrumentos e entre plataformas nos instrumentos BenchMark GX, BenchMark XT e BenchMark ULTRA.

- Sensibilidade e especificidade da coloração numa série de tipos de tecidos normais e neoplásicos e tecidos alvo específicos do ensaio
- A precisão no instrumento BenchMark ULTRA PLUS foi demonstrada utilizando ensaios representativos. Os estudos incluíram a precisão intraensaio, entre dias e entre instrumentos. Todos os estudos cumpriram os respetivos critérios de aceitação

RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

- Se o controlo positivo apresentar uma coloração mais fraca do que a esperada, outros controlos positivos executados durante o mesmo ensaio no instrumento deverão ser verificados para determinar se isso se deve ao anticorpo primário ou a um dos reagentes secundários comuns.
- Se o controlo positivo apresentar um resultado negativo, deve verificar-se se a lâmina tem a etiqueta de código de barras correta. Se a lâmina tiver a etiqueta correta, outros controlos positivos executados no mesmo ensaio no instrumento deverão ser verificados para determinar se isso se deve ao anticorpo primário ou a um dos reagentes secundários comuns. Os tecidos podem ter sido colhidos, fixados ou desparafinados de forma incorreta. Deve ser seguido o procedimento correto de colheita, conservação e fixação.
- A remoção incompleta da parafina pode resultar em artefactos de coloração ou ausência de coloração.
 - Se a parafina não for toda removida da lâmina, o processo de coloração deve ser repetido utilizando a opção de desparafinação alargada, caso esteja disponível.
 - Como alternativa, pode ser realizada uma desparafinação manual fora do instrumento. Se for utilizada a opção manual, desselecione a desparafinação online no protocolo de coloração antes de carregar as lâminas no instrumento. Deve ter-se um cuidado especial para garantir que as lâminas não secam antes do processo de coloração.
- Se a coloração específica do anticorpo for demasiado intensa, o ensaio deve ser repetido com um tempo de incubação reduzido em intervalos de 4 minutos, até ser obtida a intensidade da coloração pretendida.
- Se as secções tecidulares saírem da lâmina, as lâminas devem ser verificadas para garantir que têm carga positiva.
- Para qualquer ação corretiva, consulte a secção Procedimento, o Manual do utilizador do instrumento ou contacte o representante de assistência local.
- Se um dispensador de reagente não dispensar fluido, verifique se existem materiais ou partículas estranhos na câmara de preparação ou no menisco, como, por exemplo, fibras ou precipitados. Se o dispensador estiver bloqueado, não o utilize e contacte o seu representante de assistência local. Ou então prepare novamente o dispensador colocando o dispensador sobre um recipiente de resíduos, removendo a tampa do bico e pressionando a parte de cima do dispensador. Consulte a folha de métodos do dispensador em linha associado com o P/N 760-500 para obter mais informações sobre a utilização correta.

REFERÊNCIAS

- Elias JM, Gown AM, Nakamura RM, et al. Quality control in immunohistochemistry. Report of a workshop sponsored by the Biological Stain Commission. Am J Clin Pathol. 1989;92(6):836-843.
- Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. 2nd edition. St. Louis, MO: The C.V. Mosby Company; 1980.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 June 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.
- Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen. A possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Pathol. 1980;73(5):626-32.

- Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
- Taylor C, Cote RJ. Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist. 2nd Edition. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company; 1986.

NOTA: 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 EUA: consultar elabdoc.roche.com/symbols para obter mais informações).



Número Global de Item Comercial



Identificador único de dispositivo



Indica a entidade que importa o dispositivo médico para a União Europeia

HISTÓRICO DE REVISÕES

Rev	Atualizações
K	Foram realizadas atualizações nas secções Avisos e precauções, Instruções de utilização e nas ligações de referência de símbolos das secções Avisos e precauções e Símbolos. Foram realizadas atualizações nas Referências aplicáveis

PROPRIEDADE INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK, *ultraView* e o logótipo VENTANA são marcas comerciais da Roche. Todas as restantes marcas comerciais são propriedade dos respetivos titulares.
© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

INFORMAÇÕES DE CONTACTO



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

www.roche.com



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

