

OptiView DAB IHC Detection Kit

REF

760-700

06396500001

IVD

Σ 250

TILTENKT BRUK

OptiView DAB IHC Detection Kit (OptiView) er et indirekte, biotinfritt system for å påvise IgG fra mus, IgM fra mus og primære antistoffer fra kanin. Kitet er ment å identifisere mål ved hjelp av immunhistokjemi (IHC) i snitt av formalinfiksert, parafinnstøpt og fryst vev som farges på VENTANA automatiske objektglassfargemaskiner og visualiseres via lysmikroskop. Klinisk tolkning av eventuell farging eller fravær av farging skal suppleres med morfologiske undersøkelser og evaluering av egnede kontroller.

Dette produktet skal tolkes av en kvalifisert patolog i sammenheng med en histologisk undersøkelse, relevant klinisk informasjon og egnede kontroller.

Dette produktet er beregnet på *in vitro*-diagnostisk bruk (IVD).

SAMMENDRAG OG FORKLARING

Immunhistokjemi (IHC) er en teknikk som brukes i laboratorier for diagnostiske formål. IHC bruker spesifikke primære antistoffer til å lokalisere og binde seg til antigener i fiksert eller fryst vevssnitt. Bindingen av antistoffet til antigenet visualiseres med en indirekte påvisningsmetode. De vanligste teknikkene for indirekte metoder bruker et sekundært antistoff rettet mot arten av primært antistoff og et enzym med et tilsvarende substrat-kromogen-system. Denne kombinasjonen resulterer i et farget presipitat på stedet for spesifikk antistoffbinding. OptiView DAB IHC Detection Kit bruker en indirekte metode til å visualisere spesifikke antistoffer bundet til antigener ved å avsette et brunfarget presipitat.

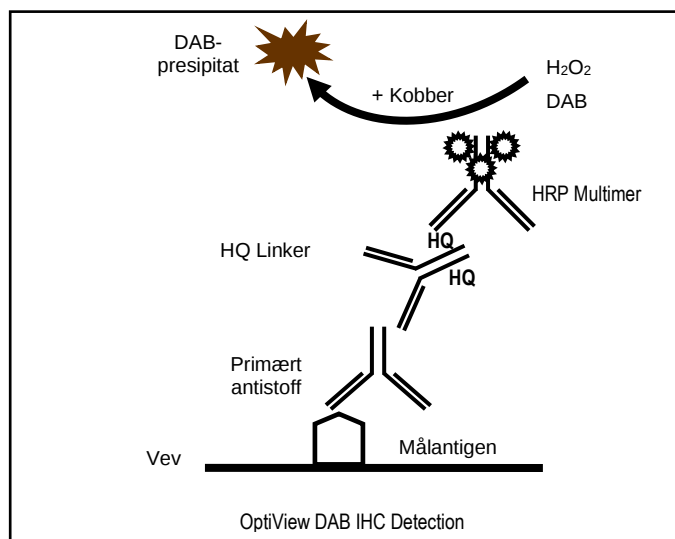
PROSEDYREPRINSIPP

OptiView DAB IHC Detection Kit påviser spesifikke primære antistoffer fra mus og kanin bundet til et antigen i formalinfikserte, parafinnstøpte (FFPE) eller fryste vevssnitt. Det spesifikke antistoffet lokaliseres av et spesifikt sekundært antistoff som er bundet av et enzymmerket tertiært antistoff. Komplekset visualiseres deretter med hydrogenperoksidsubstrat og 3, 3'-diaminobenzidintetrahydroklorid (DAB)-kromogen, og dette gir et brunt presipitat som enkelt observeres med lysmikroskop.

Fargeprotokollen består av en rekke trinn der reagenser inkuberes i forhåndsbestemte perioder ved spesifikke temperaturer. På slutten av hvert inkubasjonstrinn vasker BenchMark IHC/ISH-instrumentet snittene for å fjerne ubundet materiale og påfører et flytende dekkglass som begrenser fordampingen av de vandige reagensene fra objektglasset.¹ Resultatene tolkes ved hjelp av et lysmikroskop og hjelper til med differensialdiagnostisering av patofysiologiske prosesser som kan være assosiert med et bestemt antigen.

Mer informasjon om bruk av instrumentet finnes i den relevante brukerhåndboken.

Figur 1 illustrerer den indirekte påvisningsmetoden.



Figur 1. OptiView DAB IHC Detection Kit.

MATERIALER OG METODER

Medfølgende materialer

OptiView DAB IHC Detection Kit inneholder tilstrekkelig reagens til 250 tester.

En 25 mL dispenser	OptiView Peroxidase Inhibitor inneholder 3.0 % hydrogenperoksidløsning.
En 25 mL dispenser	OptiView HQ Universal Linker inneholder en cocktail av HQ-merkede (HQ er et egenutviklet hapten som er kovalent bundet til antistoffene fra geit) antistoffer (anti-mus-IgG fra geit, anti-mus-IgM fra geit og anti-kanin fra geit) (ca. 50 µg/mL) i en buffer som inneholder protein med 0.05 % ProClin 300, et konserveringsmiddel.
En 25 mL dispenser	OptiView HRP Multimer inneholder et monoklonalt anti-HQ-merket HRP tertiært antistoff (ca. 40 µg/mL) i en buffer som inneholder protein med 0.05 % ProClin 300, et konserveringsmiddel.
En 25 mL dispenser	OptiView DAB inneholder 0.2 % (vekt/volum) 3,3'-diaminobenzidintetrahydroklorid (DAB) i en egenutviklet stabilisatorløsning med et egenutviklet konserveringsmiddel.
En 25 mL dispenser	OptiView H2O2 inneholder 0,04 % hydrogenperoksid i en fosfatbufferløsning.
En 25 mL dispenser	OptiView Copper inneholder kobbersulfat (5.0 g/L) i en acetatbuffer med et egenutviklet konserveringsmiddel.

Rekonstitusjon, blanding, fortynning, titrering

Deteksjonskitet er optimalisert for bruk på BenchMark IHC/ISH-instrumenter. Ingen rekonstitusjon, blanding, fortynning eller titrering av kitreagenser er nødvendig. Ytterligere fortynning kan føre til tap av farging.

Materialer som er nødvendige, men som ikke medfølger

Fargereagenser som VENTANA primære antistoffer og tilleggskomponenter, inkludert objektglass med negativ og positiv vevskontroll, medfølger ikke.

Ikke alle produkter som er oppgitt i metodearket, er tilgjengelige i alle markeder. Kontakt lokal brukerstøtte.

Følgende reagenser og materialer vil kunne være påkrevd til farging, men følger ikke med deteksjonskitet:

1. Primært antistoff
2. Negative control reagent
3. Anbefalte vevskontroller
4. OptiView Amplification Kit (kat. nr. 760-099 / 06396518001 (50 tester) eller 860-099 / 06718863001 (250 tester))
5. Protease 1 (kat. nr. 760-2018 / 05266688001)
6. Protease 2 (kat. nr. 760-2019 / 05266696001)
7. Protease 3 (kat. nr. 760-2020 / 05266718001)
8. Hematoxylin (kat. nr. 760-2021 / 05266726001)
9. Hematoxylin II (kat. nr. 790-2208 / 05277965001)
10. Bluing Reagent (kat. nr. 760-2037 / 05266769001)
11. Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat. nr. 950-300 / 05353955001)
12. Cell Conditioning Solution (CC1) (kat. nr. 950-124 / 05279801001)
13. Cell Conditioning Solution (CC2) (kat. nr. 950-123 / 05279798001)
14. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (kat. nr. 950-224 / 05424569001)
15. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (kat. nr. 950-223 / 05424542001)
16. Antibody Diluent (kat. nr. 251-018 / 05261899001)
17. EZ Prep Concentrate (10X) (kat. nr. 950-102 / 05279771001)
18. LCS (Predilute) (kat. nr. 650-010 / 05264839001)
19. ULTRA LCS (Predilute) (kat. nr. 650-210 / 05424534001)
20. BenchMark IHC/ISH-instrument
21. Objektglass for mikroskop, positivt ladede
22. Dekkglass og dekkglassmetode tilstrekkelig til å dekke vev
23. Laboratorieutstyr til generelle formål

Oppbevaring og stabilitet

Ved mottak, og når det ikke er i bruk, må det oppbevares ved 2–8 °C. Skal ikke fryses. Brukeren må validere alle andre oppbevaringsforhold enn de som er angitt i metodearket. Dette deteksjonskitet kan brukes umiddelbart etter at det er tatt ut av kjøleskapet.

For å sikre korrekt tilførsel av reagenser og stabilitet av hvert reagens må dispenserlokket settes på igjen og dispenserens umiddelbart settes i kjøleskapet i stående posisjon etter hver kjøring.

Hvert deteksjonskit er merket med utløpsdato. Når produktet oppbevares på riktig måte, er det stabilt frem til datoen som står på etiketten. Produktet skal ikke brukes etter utløpsdatoen for den foreskrevne oppbevaringsmetoden. Det er ingen endelige tegn som angir at dette produktet er ustabil, og derfor skal positive og negative kontroller kjøres samtidig med ukjente prøver. Kontakt lokal brukerstøtte umiddelbart hvis det er en indikasjon på et ustabil reagens.

Prøvetaking og klargjøring for analyse

FFPE-vev er egnet for bruk med OptiView DAB Detection Kit og BenchMark IHC/ISH-instrumenter (se avsnittet Materialer som er nødvendige, men som ikke medfølger).

Anbefalt vevsfiksativ er 10 % nøytralt bufret formalin (NBF).² Det kan oppstå variable resultater som følge av tykkelse på vevssnitt, fikseringstype, ufullstendig forlenget fiksering eller spesielle prosesser, for eksempel avkalking av beinmargpreparater.

Hvert snitt må skjæres til riktig tykkelse (2–5 µm) for det primære antistoffet som brukes, før det plasseres på et positivt ladet objektglass for mikroskop. Objektglass som inneholder vevssnitt skal tørkes i stående posisjon i minst 15 minutter ved romtemperatur for å fjerne overflødig vann fra undersiden av snittet før baking. Objektglassene kan bakes / varmes opp i én time i en ovn på 60 °C ± 5 °C, eller lufttørkes ved 37 °C i opptil 24 timer. Tørring og oppvarming av objektglass utføres for å tørke vevet etter objektglassmontering og for å forbedre vevsadhasjon til glasset. Les det primære antistoffets metodeark for å identifisere eventuelle begrensninger for oppvarming. Utvidet oppvarming av vevet kan føre til redusert antigen tilgjengelighet.

Riktig fiksert og innstøpt vev som uttrykker antigenet, forblir stabilt hvis det oppbevares på et kjølig sted (15–25 °C). Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) fra 1988, 42CFR493.1259 (b) krever at «Laboratoriet må oppbevare objektglass i minst ti år fra

undersøkelsesdatoen og lagre prøveblokker minst to år fra undersøkelsesdato.» Hvert laboratorium skal validere stabiliteten til objektglass med snitt for deres egne prosedyrer og miljømessige oppbevaringsvilkår.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. Til in vitro-diagnostisk bruk (IVD).
2. Kun til profesjonell bruk.
3. **Advarsel: Mulig kreftfremkallende stoff.** Det internasjonale senter for kreftforskning (IARC) og US National Toxicology Program (NTP) har angitt benzidin, en forbindelse nært knyttet til 3,3'-diaminobenzidintetrahydroklorid (DAB), som et kjent kreftfremkallende stoff hos mennesker.
4. Skal ikke brukes utover det spesifiserte antallet tester.
5. ProClin 300-løsning brukes som konserveringsmiddel i denne løsningen. Det er klassifisert som irriterende stoff og kan forårsake sensibilisering ved hudkontakt. Ta rimelige forholdsregler ved håndtering. Unngå at reagenser kommer i kontakt med øyne, hud og slimhinner. Bruk verneklær og -hansker.
6. Materiale som stammer fra mennesker eller dyr, skal håndteres som potensielt biologisk smittefarlig og kastes i henhold til korrekt prosedyre. Dersom en person har vært utsatt for slikt materiale, skal helsedirektivene fra myndighetene følges.^{3,4}
7. Ta rimelige forholdsregler ved håndtering av reagenser. Unngå at reagenser kommer i kontakt med øyne, hud og slimhinner. Bruk engangshansker og egnede verneklær ved håndtering av mulige kreftfremkallende stoffer eller toksisk materiale.
8. Hvis reagenser kommer i kontakt med sensitive områder, må du skylle med rikelige mengder vann. Unngå innånding av reagenser.
9. Kontroller at avfallsbeholderen er tom før du starter en kjøring på instrumentet. Hvis ikke denne forholdsregelen overholdes, kan avfallsbeholderen flomme over, og brukeren risikerer å gli og falle.
10. Unngå mikrobiell kontaminasjon av reagenser, siden dette kan produsere feil resultater.
11. Hvis du vil ha mer informasjon om bruken av dette produktet, kan du se brukerhåndboken for BenchMark IHC/ISH-instrumentet og metodearkene for alle nødvendige komponenter, som finnes på navifyportal.roche.com.
12. Kontakt lokale og/eller nasjonale myndigheter for å fastslå anbefalte metoder for avfallshåndtering.
13. Produktsikkerhetsmerking følger primært EU GHS-veiledningen. Sikkerhetsdataark er tilgjengelige for profesjonelle brukere på anmodning.
14. Hvis du trenger å rapportere mistenkte alvorlige hendelser knyttet til denne enheten, kontakter du den lokale Roche-representanten og ansvarlig myndighet i medlemslandet der brukeren holder til.

Dette produktet inneholder komponenter som er klassifisert som følger, i samsvar med forordning (EF) nr. 1272/2008:

Tabell 1. Informasjon om farer.

Fare	Kode	Setning
	H350	Kan forårsake kreft.
	H412	Skadelig for vannlevende organismer, med langtidsvirkninger.
	P201	Innhent særskilt instruks før bruk.
	P202	Skal ikke håndteres før alle advarsler er lest og oppfattet.
	P273	Unngå utslipp til miljøet.
	P280	Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern/hørselve m.
	P308 + P313	Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søk legehjelp.
	P501	Innhold/beholder leveres til et godkjent avfallsanlegg.

EUH208: Inneholder blanding av: 5-klor-2-metyl-4-isotiazolin-3-one og 2-metyl-2H-isotiazol-3-one (3:1). Kan gi en allergisk reaksjon.

PROSEDYRE

OptiView DAB IHC Detection Kit er utviklet for bruk på BenchMark IHC/ISH-instrumenter sammen med VENTANA primære antistoffer og tilleggskomponenter. Parametrene for de automatiserte prosedyrene kan vises, skrives ut og redigeres i henhold til prosedyren i instrumentets brukerhåndbok. Andre driftsparametere for instrumentet er forhåndsinnstilt fra fabrikk.

Prosedyrerne for farging på BenchMark IHC/ISH-instrumenter er som følger. Mer informasjon og ytterligere protokollalternativer finnes i brukerhåndboken. Hvorvidt en prøve krever Cell Conditioning, er antistoffavhengig. Instruksjoner finnes i antistoffets metodeark.

BenchMark IHC/ISH-instrumenter

1. Påfør strekkodeetikett på objektglass som tilsvarer protokollen som skal utføres.
2. Sett inn det primære antistoffet, relevante dispensere til deteksjonskit og nødvendig tilbehørsreagens på reagensbrettet, og plasser dem på instrumentet.
3. Kontroller bulkvæske, og tøm avfall.
4. Last objektglassene på instrumentet.
5. Start fargekjøringen.
6. Når kjøringen er avsluttet, fjernes objektglassene fra instrumentet.
7. Fortsett til anbefalte prosedyrer etter instrumentprosessering.

Anbefalte prosedyrer etter instrumentprosessering

1. Vask objektglass i et mildt oppvaskmiddel for å fjerne dekkglassløsningen.
2. Skyll objektglass grundig i destillert vann for å fjerne alt rengjøringsmiddel.
3. Dehydrer, fjern og påfør dekkglass med permanent monteringsmedium.

PROSEDYRE FOR KVALITETSKONTROLL

Positiv vevskontroll

En positiv vevskontroll må kjøres med hver fargingsprosedyre som utføres. Optimal laboratoriepraksis er å inkludere et positivt kontrollsnitt på samme objektglass som pasientvevet. Denne praksisen bidrar til å identifisere manglende påføring av primært antistoff eller annet kritisk reagens på pasientens testobjektglass. Et vev med svakt positiv farging er mer egnet for optimal kvalitetskontroll. De positivt fargede vevskomponentene brukes til å bekrefte at antistoffet ble brukt, og at instrumentet fungerte riktig. Dette vevet kan inneholde både positive og negative fargede celler eller vevskomponenter og kan fungere både som det positive og negative kontrollvevet. Kontrollvev bør være fra nylig foretatt obduksjon, biopsi eller kirurgisk prøve som er preparert eller fiksert så snart som mulig på identisk måte som testsnittene. Slikt vev kan overvåke alle trinn i prosedyren, fra vevspreparering til farging. Bruk av et vevssnitt som er fiksert eller prosessert på en annen måte enn testprøven, gir kontroll for alle reagenser og metodetrinn bortsett fra fiksering og vevsprosessering.

Kjente positive vevskontroller bør kun benyttes for å overvåke korrekt ytelse for prosesserte vev og testreagenser, ikke som hjelpemiddel ved bestemmelse av spesifikk diagnostikk av pasientprøver. Hvis de positive vevskontrollene ikke viser positiv farging, skal resultater med testprøvene anses som ugyldige.

Negativ vevskontroll

Det samme vevet som brukes til positiv vevskontroll, kan også brukes som negativ vevskontroll. Variasjonen i celletyper som finnes i de fleste vevssnitt, fungerer som interne negative kontrollsteder, men dette bør bekreftes av brukeren. Komponentene som ikke farges, skal vise fravær av spesifikk farging og gi en indikasjon på bakgrunnsfarging. Hvis spesifikk farging forekommer på de negative vevskontrollene, bør resultater med pasientprøvene anses som ugyldige.

Uforklarlige avvik

Uforklarlige avvik i kontroller skal rapporteres til lokal brukerstøtte umiddelbart. Hvis kvalitetskontrollresultatene ikke oppfyller spesifikasjonene, er pasientresultatene ugyldige. Se avsnittet Feilsøking i dette metodearket. Identifiser og korrigér problemet, og kjør deretter pasientprøvene på nytt.

Negativ reagenskontroll

En negativ reagenskontroll må kjøres for hver prøve som et hjelpemiddel i tolkning av resultatene. En negativ reagenskontroll brukes i stedet for det primære antistoffet for å evaluere ikke-spesifikk farging. Objektglasset bør farges med Negative Control Mouse eller Negative Control Rabbit når det er relevant. Diluenten alene kan brukes som et alternativ til de tidligere beskrevne negative reagenskontrollene. Inkubasjonsperioden for den negative reagenskontrollen skal være lik inkubasjonsperioden for det primære antistoffet.

Når paneler med flere antistoffer brukes på serielle snitt, kan en negativ reagenskontroll på ett objektglass fungere som en negativ eller ikke-spesifikt bindende bakgrunnskontroll for andre antistoffer.

Analyseverifisering

Før første bruk av et primært antistoff eller fargingssystem i en diagnostisk prosedyre skal spesifisiteten til det primære antistoffet kontrolleres ved å teste det på en rekke vev med kjente immunhistokjemitytelsesegenskaper som representerer kjent positivt og negativt vev (se avsnittet Positiv vevskontroll i det primære antistoffets metodeark og anbefalingene for kvalitetskontroll fra College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist,⁵ eller CLSI Approved Guideline⁶ eller begge dokumentene). Disse prosedyrene for kvalitetskontroll bør gjentas for hver ny antistofflot, eller når det er en endring i analyseparametere. Vev som er oppgitt i avsnittet Ytelsesegenskaper for det primære antistoffet, er egnet for analyseverifisering.

Tolkning av resultater

OptiView DAB IHC Detection Kit fører til at et brun- eller rødfarget reaksjonsprodukt danner presipitat ved antigenstedene lokalisert av det primære antistoffet. En kvalifisert patolog som er erfaren innen immunhistokjemiske prosedyrer, må evaluere kontroller og kvalifisere det fargede produktet før tolkning av resultater. Farging av negative kontroller må observeres først, og disse resultatene må sammenlignes med det fargede materialet for å kontrollere at det genererte signalet ikke er årsaken til ikke-spesifikke interaksjoner.

Positiv vevskontroll

Den fargede positive vevskontrollen bør undersøkes først for å sikre at alle reagenser fungerer som de skal. Forekomst av et hensiktsmessig farget reaksjonsprodukt i målcellene tyder på positiv reaktivitet. Avhengig av inkubasjonslengden og styrken til det anvendte hematoksylinet vil kontrastfarge resultere i en blek til mørk blå farging av cellekjerner. For mye eller for lite kontrastfarge kan påvirke korrekt tolkning av resultater. Hvis de positive vevskontrollene ikke viser riktig positiv farging, bør alle resultater med testprøvene anses som ugyldige.

Negativ vevskontroll

Den negative vevskontrollen skal undersøkes etter den positive vevskontrollen for å verifisere det primære antistoffets spesifikke merking av målantigenet. Fravær av spesifikk farging i den negative vevskontrollen bekrefter manglende antistoff-kryssreaktivitet til celler eller cellekomponenter. Hvis det forekommer spesifikk farging i den negative vevskontrollen, skal resultater med pasientprøven betraktes som ugyldige.

Ikke-spesifikk farging, hvis dette forekommer, har diffust utseende. Sporadisk lys farging i bindevæv vil også kunne observeres i vevssnitt som er fiksert i for mye formalin. Intakte celler bør brukes til tolkning av fargingsresultater. Nekrotiske eller degenererte celler gir ofte ikke-spesifikk farging.

Pasientvev

Pasientprøver skal undersøkes sist. Positiv fargingsintensitet bør evalueres i sammenheng med ikke-spesifikk bakgrunnsfarging av den negative reagenskontrollen. Som med alle immunhistokjemiske tester betyr et negativt resultat at det aktuelle antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet er fraværende i cellene eller vevet som ble analysert. Bruk om nødvendig et panel av antistoffer som hjelp til identifisering av falskt negative reaksjoner. Morfologien til hver vevsprøve bør også undersøkes ved å benytte et snitt som er farget med hematoksylin og eosin, ved tolkning av et immunhistokjemisk resultat. Pasientens morfologiske funn og relevante kliniske data må tolkes av en kvalifisert patolog.

BEGRENSNINGER

Generelle begrensninger

1. IHC er en diagnostisk prosess med flere trinn som forutsetter spesialisert opplæring i valg av riktige reagenser, vevsalternativer, fiksering, prosessering, klargjøring av objektglasset til immunhistokjemi og tolkning av fargingsresultatene.
2. Vevsfarging avhenger av håndteringen og behandlingen av vevet før farging. Feil fiksering, frysing, opptining, vasking, tørking, oppvarming, snitting eller kontaminasjon med annet vev eller andre væsker kan frembringe artefakter, antistoffansamling eller falskt negative resultater. Inkonsekvante resultater kan skyldes variasjoner i fikserings- og innstøpingsmetoder, eller fra uregelmessigheter i vevet.
3. For mye eller for lite kontrastfarge kan påvirke korrekt tolkning av resultater.
4. Klinisk tolkning av positiv farging, eller fraværet av dette, må evalueres i lys av sykehistorie, morfologi og andre histopatologiske kriterier. Klinisk tolkning av farging, eller fraværet av dette, må suppleres med morfologiske undersøkelser og

riktige kontroller i tillegg til andre diagnostiske tester. Det er en kvalifisert patologs ansvar å være kjent med antistoffene, reagensene og metodene som brukes til å tolke det fargede preparatet. Farging må utføres i et sertifisert, lisensiert laboratorium under tilsyn av en patolog som er ansvarlig for gjennomgang av de fargede objektglassene, og som kontrollerer at de positive og negative kontrollene er tilstrekkelige.

5. VENTANA-antistoffer og -reagenser leveres optimalt fortynnet til bruk når den medfølgende veiledningen overholdes. Alle avvik fra anbefalte testprosedyrer kan gjøre forventede resultater ugyldige. Egnede kontroller må implementeres og dokumenteres. Brukere som avviker fra anbefalte testprosedyrer, må ta ansvar for tolkning av pasientresultater.
6. Reagenser kan fremvise uventede reaksjoner i vevstyper som ikke har vært testet tidligere. Muligheten for uventede reaksjoner selv i testede vevsgrupper kan ikke elimineres helt på grunn av biologisk variabilitet av antigenekspresjon i neoplasmer, eller andre patologiske vev.^{7,8} Kontakt lokal brukerstøtte med dokumenterte uventede reaksjoner.
7. Vev fra personer som er smittet med hepatitt B-virus, som inneholder hepatitt B-overflateantigen (HBsAg), kan vise ikke-spesifikk farging med pepperrotperoksidase.⁹
8. Ved bruk i blokkerende trinn kan normale sera fra den samme animalske kilden som de sekundære antisera, forårsake falskt negative eller falskt positive resultater på grunn av autoantistoffer eller naturlige antistoffer.
9. Som med alle immunhistokjemiske tester betyr et negativt resultat at antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet er fraværende i cellene eller vevet som ble analysert.

Spesifikke begrensninger

1. Hvert trinn i deteksjonskitprosedyren er optimalisert på BenchMark IHC/ISH-instrumenter og er forhåndsinnstilt. På grunn av variasjonen i vevsfiksering og prosessering kan det være nødvendig å øke eller redusere inkubasjonstiden for primært antistoff på individuelle prøver. Inkubasjonstid for primært antistoff avhenger av graden av vevsfiksering og kan være fra 4 til 120 minutter. Mer informasjon om fikseringsvariabler finnes i «Immunohistochemistry Principles and Advances»¹⁰ eller «Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist».¹¹
2. Når deteksjonskitet brukes i kombinasjon med VENTANA primære antistoffer og tilbehør, påviser det antigenet som overlever rutinemessig vevsprosessering og snitting.
3. Dette deteksjonskitet er optimalisert for bruk med Reaction Buffer-vaskeløsning, primære antistoffer, tilbehør og BenchMark IHC/ISH-instrumenter. Bruken av Reaction Buffer-vaskeløsning er viktig for riktig funksjon av deteksjonskitet. Brukere som avviker fra anbefalte testprosedyrer, er ansvarlige for tolkning av pasientresultater under disse omstendighetene.
4. Dette deteksjonskitet er optimalisert for bruk med LCS (Predilute) eller ULTRA LCS (Predilute). LCS er en forfortynnet dekkglassløsning som brukes både som sperre mellom vandige reagenser og luften, og et reagens til å fjerne parafin fra vevsprøver under avparafiniseringsprosessen. LCS-sperren reduserer fordamping og gir et stabilt vandig miljø for IHC eller in situ-hybridisering (ISH)-reaksjonene utført på BenchMark IHC/ISH-instrumenter.
5. Andre inkubasjonstider og temperaturer enn de angitte kan gi feilaktige resultater. Brukeren må validere alle slike endringer.
6. Alle deteksjonskit er ikke nødvendigvis registrert på alle instrumenter. Kontakt lokal brukerstøtte for mer informasjon.
7. Det anbefalte fiksativet for bruk med OptiView-påvisningssystemet er 10 % Neutral Buffered Formalin (NBF). Bruk av Modified Davidsons fiksativ kan føre til uakseptable fargingsresultater.

YTELSESEGNSKAPER

ANALYTISK YTELSE

Ytelsen til OptiView DAB IHC Detection Kit ble evaluert med reproduktibilitetsstudier og andre relevante studier. All farging ble utført ved bruk av protokollen som beskrevet i metodarket for antistoffet på BenchMark IHC/ISH-instrumenter, når ikke annet er angitt.

Testingen inkluderte:

Sensitivitet og spesifisitet

Spesifisitetstesting for å vise spesifikk påvisning av primære antistoffer fra mus og kanin og akseptable nivåer av ikke-spesifikk bakgrunnsfarging for å sikre at tolkningen av positive og negative resultater ikke er påvirket.

Sensitivitetstesting for å vise evnen til å påvise primære antistoffer bundet til lave nivåer av antigener med relevante fargemønstre.

Presisjon

- Presisjon innenfor kjøring og mellom kjøring
- Presisjon innenfor plattform og mellom plattformer

I alle tilfeller ble vevsprøvene lest og påvist å være akseptable for fargingens egnethet og kvalitet for morfologisk celfarging. Alle studiene oppfylte akseptkriteriene.

FEILSØKING

1. Hvis den positive kontrollen viser svakere farging enn forventet, skal andre positive kontroller kjørt i den samme instrumentkjøringen sjekkes for å finne ut om det skyldes det primære antistoffet eller et av de felles sekundære reagensene.
2. Hvis den positive kontrollen er negativ, skal den sjekkes for å sikre at objektglasset har riktig strekkodeetikett. Hvis objektglasset er riktig merket, skal andre positive kontroller kjørt i den samme instrumentkjøringen sjekkes for å finne ut om det skyldes det primære antistoffet eller et av de felles sekundære reagensene. Vevsprøver kan være tatt, fiksert eller avparafinert på feil måte. Riktig prosedyre må følges ved prøvetaking, oppbevaring og fiksering.
3. Ufullstendig parafinjerning kan føre til fargingsartefakter eller ingen farging.
 - Hvis all parafin ikke er fjernet fra objektglasset, skal fargekjøringen gjentas ved bruk av det utvidede avparafiniseringsalternativet, hvis det er tilgjengelig.
 - Alternativt kan en manuell avparafinering utenfor instrumentet utføres. Hvis det manuelle alternativet brukes, må online avparafinering deaktiveres fra fargeprotokollen før objektglassene settes på instrumentet. Vær ekstra nøye med at objektglass ikke tørker ut før fargekjøringen.
4. Hvis den spesifikke antistofffargingen er for intens, skal kjøringen gjentas med forkortelse av inkubasjonstiden med intervaller på 4 minutter, til ønsket fargingsintensitet oppnås.
5. Hvis vevssnittene vaskes av objektglasset, skal objektglassene sjekkes for å sikre at de er positivt ladet.
6. Du finner korrigerende tiltak i avsnittet Prosedyre, instrumentets brukerhåndbok eller ved å kontakte lokal brukerstøtte.
7. Hvis en reagensdispenser ikke dispenserer væske, må primingskammeret eller menisken kontrolleres for fremmedlegemer eller partikler, f.eks. fibre eller presipitater. Hvis dispensereren blokkeres, må den ikke brukes. Kontakt lokal brukerstøtte. Hvis ikke primer du dispensereren på nytt ved å rette dispensereren over en avfallsbeholder, fjern dysen og trykk ned på toppen av dispensereren. Se det tilknyttede metodarket for inline-dispensereren assosiert med delenummer 760-700 for informasjon om riktig bruk.
8. Endogen peroksidaseaktivitet kan vises hvis peroksidaseinhibitor ikke velges før eller etter primært antistoff. Standardoppskriftsinnstillingen er ingen påføring. Operatøren må velge når peroksidaseinhibitor skal påføres, når det opprettes en protokoll, hvis det er ønskelig.
9. Uønsket farging av plasma og mastceller kan forekomme som følge av proteasefordøyelse. Den negative vevskontrollen bør evalueres for å angi nivået av bakgrunnsfarging sammenlignet med det positivt fargede resultatet.⁸

REFERANSER

1. Elias JM, Gown AM, Nakamura RM, et al. Quality control in immunohistochemistry. Report of a workshop sponsored by the Biological Stain Commission. Am J Clin Pathol. 1989;92(6):836-843.
2. Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
3. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
4. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 Jun 2020 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
5. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2009.

6. CLSI (formerly NCCLS). Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. CLSI document MM4-A (ISBN 1-56238-396-5). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
7. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem. 1991;66(4):194-199.
8. Hautzer NW, Wittkuhn JF, Elliott-McCaughey WT. Trypsin Digestion in Immunoperoxidase Staining. Jour of Histochem and Cytochem. 1980;28:52-53.
9. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen. A possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Pathol. 1980;73(5):626-32.
10. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
11. Taylor C, Cote RJ. Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist. 2nd Edition. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company; 1986.

MERK: Et punktum (punktum/stopp) brukes alltid i dette metodearket som desimalskilletegn for å skille mellom heltalls- og fraksjonsdelen av et desimaltall. Det brukes ikke skilletegn for tusener.

Symboler

Ventana bruker følgende symboler og tegn i tillegg til de som er oppført i ISO 15223-1-standard (for USA: se elabdoc.roche.com/symbols for mer informasjon).



Globalt artikkelnummer

Rx only

For USA: Forsiktig: Føderal lov begrenser denne enheten til å selges av eller på bestilling fra en lege.

REVISJONSHISTORIKK

Rev	Oppdateringer
F	Oppdateringer av avsnittet Advarsler og forholdsregler og oppdatert til gjeldende mal.

OPPHAVSRETT

VENTANA, BENCHMARK og OPTIVIEW er varemerker for Roche.
Alle andre produktnavn og varemerker tilhører sine respektive eiere.
© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

KONTAKTINFORMASJON



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

