

ultraView Universal DAB Detection Kit

REF

760-500

05269806001

IVD

250

KULLANIM AMACI

ultraView Universal DAB Detection Kit fare IgG, fare IgM ve tavşan primer antikorlarının saptanmasına yönelik olarak indirekt, biyotinsiz bir sistemdir. Kit BenchMark IHC/ISH cihazında boyanan formalinle sabitlenmiş, parafine gömülü doku veya dondurulmuş doku kesitlerinde immünohistokimya yoluyla hedeflerin tespit edilmesine yöneliktir.

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

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

ÖZET VE AÇIKLAMA

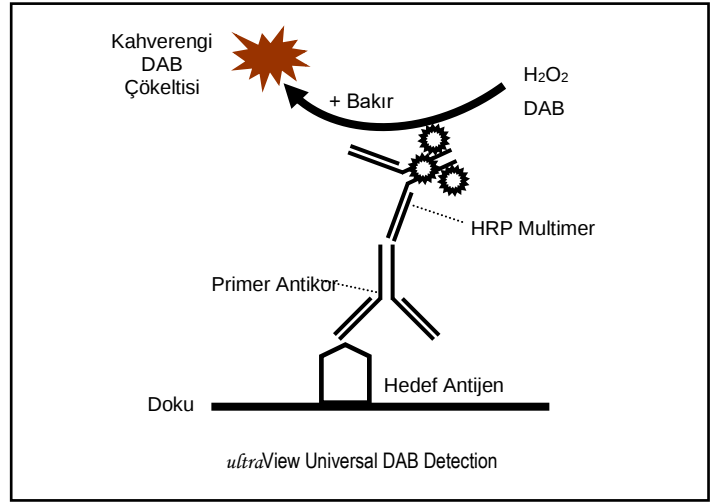
İmmünohistokimya (IHC) laboratuvarlarda teşhis amaçlarıyla kullanılan bir tekniktir. IHC, sabitlenmiş veya dondurulmuş doku kesitlerinde antijenleri lokalize etmeleri ve bunlara bağlanmaları için belirli primer antikorlardan yararlanır. Antikorum antijene bağlanması bir indirekt saptama yöntemiyle görselleştirilir.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

PROSEDÜR PRENSİBİ

ultraView Universal DAB Detection Kit formalinle sabitlenmiş, parafine gömülü (FFPE) doku kesitlerinde veya dondurulmuş doku kesitlerinde bir antijene bağlı olan belirli fare ve tavşan primer antikorlarını saptar. İlgili antikor enzim etiketli ikincil antikorlardan oluşan bir kokteyl tarafından bulunur. Ardından kompleks ışık mikroskobu ile kolayca gözlemlenebilen kahverengi bir çökelti oluşturan hidrojen peroksit substratı ve 3,3'-diaminobenzidin tetrahidroklorür (DAB) kromojeni ile görselleştirilir.

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

Cihaz çalıştırmaya dair ayrıntılı bilgiler için ilgili Kullanıcı Kılavuzuna bakın. Şekil 1, indirekt saptama yöntemini göstermektedir.



Şekil 1. ultraView Universal DAB Detection Kit Reaksiyonu

MATERYAL VE METOTLAR

Ürünle Birlikte Verilen Malzemeler

ultraView Universal DAB Detection Kit, 250 test için yeterli miktarda reaktif içerir.

Bir adet 25 mL dağıtıcı	ultraView Universal DAB Inhibitor, %3 hidrojen peroksit çözeltisi içerir.
Bir adet 25 mL dağıtıcı	ultraView Universal HRP Multimer bir koruyucu olan ProClin 300 ile birlikte protein içeren bir tamponda HRP etiketli antikorlardan (keçi anti-fare IgG, keçi anti-fare IgM ve keçi anti-tavşan) (yaklaşık 55 µg/mL) oluşan bir kokteyl içerir.
Bir adet 25 mL dağıtıcı	ultraView Universal DAB Chromogen tescilli bir koruyucu ile birlikte tescilli bir stabilize edici çözelti içinde %0.2 a/h 3,3'-diaminobenzidin tetrahidroklorür içerir.
Bir adet 25 mL dağıtıcı	ultraView Universal DAB H ₂ O ₂ bir fosfat tampon çözeltisi içinde %0.04 hidrojen peroksit içerir.
Bir adet 25 mL dağıtıcı	ultraView Universal DAB Copper tescilli koruyucu ile birlikte bir asetat tamponunda bakır sülfat (5 g/L) içerir.

Sulandırma, Karıştırma, Seyreltme, Titrasyon

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

Gerekli Olan Fakat Ürünle Birlikte Verilmeyen Malzemeler

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

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

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

1. Primer antikor
2. Negatif kontrol reaktif
3. Pozitif ve negatif doku kontrolleri (önerilen tipler için antikor yöntem tablolarına başvurun)
4. Amplification Kit (Kat. No. 760-080 / 05266114001)
5. Protease 1 (Kat. No. 760-2018 / 05266688001)
6. Protease 2 (Kat. No. 760-2019 / 05266696001)
7. Protease 3 (Kat. No. 760-2020 / 05266718001)
8. Hematoxylin (Kat. No. 760-2021 / 05266726001)
9. Hematoxylin II (Kat. No. 790-2208 / 05277965001)
10. Bluing Reagent (Kat. No. 760-2037 / 05266769001)

11. Reaction Buffer Concentrate (10X) (Kat. No. 950-300 / 05353955001)
12. Cell Conditioning Solution 1 (CC1) (Kat. No. 950-124 / 05279801001)
13. Cell Conditioning Solution 2 (CC2) (Kat. No. 950-123 / 05279798001)
14. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (Kat. No. 950-224 / 05424569001)
15. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (Kat. No. 950-223 / 05424542001)
16. Antibody Diluent (Kat. No. 251-018 / 05261899001)
17. EZ Prep Concentrate (10X) (Kat. No. 950-102 / 05279771001)
18. LCS (Predilute) (Kat. No. 650-010 / 05264839001)
19. ULTRA LCS (Predilute) (Kat. No. 650-210 / 05424534001)
20. BenchMark IHC/ISH cihazı
21. Mikroskop slaytları, pozitif yüklü
22. Dokuyu örtmek için yeterli lamel ve lamel yöntemi
23. Genel amaçlı laboratuvar ekipmanı

Saklama ve Stabilite

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

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

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

Numune Toplama ve Analiz için Hazırlama

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

Her bir kesit kullanılmakta olan primer antikor (ilgili antikorun Yöntem Tablosuna bakın) için uygun kalınlıkta kesilmeli ve pozitif yüklü cam bir mikroskop slaydı üzerine yerleştirilmelidir. Doku kesitinin bulunduğu slaytlar, fırınlamadan önce kesit altındaki fazla suyu gidermek için oda sıcaklığında en az 15 dakika boyunca dikey konumda kurutulmalıdır. Slaytlar, 60 °C ± 5 °C sıcaklığında bir fırında 1 saat boyunca fırınlanabilir/ısıtılabilir veya 37 °C'de 24 saate kadar havayla kurutulabilir. Slayt kurutma ve ısıtma, slayda sabitleme sonrasında dokuyu kurutmak ve dokunun cama daha iyi yapışmasını sağlamak için kullanılır. Isıtma kısıtlamalarını belirlemek için primer antikor yöntem tablosuna başvurun. Dokunun uzun süreli ısıtılması antijen kullanılabilirliğinin azalmasıyla sonuçlanabilir.

Antijeni ekspresye eden, uygun şekilde sabitlenmiş ve gömülmüş dokular serin bir yerde (15-25 °C) saklanmaları durumunda stabil kalırlar. 1988 tarihli Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA), 42CFR493.1259 (b) "Laboratuvar, slaytları tetkik tarihinden itibaren en az on yıl, numune bloklarını ise tetkik tarihinden itibaren en az iki yıl saklamalıdır" gerekliliğini şart koşar. Her bir laboratuvar kendi prosedürlerine ve çevresel saklama koşullarına yönelik olarak kesilmiş slayt stabilitesini doğrulamalıdır.

Rutin olarak işlenen dondurulmuş dokular da *ultraView* Universal DAB Detection Kit ve BenchMark IHC/ISH cihazları ile kullanıma uygundur. Önerilen doku fiksasyonu, soğuk asetonda 10 dakikadır. Uzun süreli fiksasyonlar veya kemik iliği hazırlıklarında dekalsifikasyon gibi özel süreçler nedeniyle farklı sonuçlar çıkabilir.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

1. İn vitro diagnostik (IVD) kullanıma yöneliktir.
2. Sadece profesyonel kullanım içindir.
3. **DİKKAT:** Amerika Birleşik Devletleri'nde, Federal yasa bu cihazın satışını bir doktora veya doktor siparişiyle yapılacak şekilde sınırlamaktadır. (Rx Only)
4. **Uyarı: Karsinogen olasılığı.** International Agency for Research on Cancer (IARC) ve US National Toxicology Program (NTP), 3, 3'-diaminobenzidin tetrahidroklorür (DAB) ile yakından ilişkili bir bileşik olan benzinin bilinen bir insan karsinogeni olarak listelemiştir.
5. Belirtilen test sayısının üzerinde kullanmayın.

6. ProCin 300 çözeltisi, bu çözeltide koruyucu olarak kullanılmıştır. Tahriş edici olarak sınıflandırılmıştır ve deriyle temas ettiğinde hassasiyete yol açabilir. Kullanırken uygun önlemleri alın. Reaktiflerin göz, deri ve mukoz membranlarla temas etmesini önleyin. Koruyucu giysi ve eldiven kullanın.
7. İnsan veya hayvan kaynaklı materyaller, potansiyel açıdan biyotehlikeli oldukları varsayılarak kullanılmalı ve uygun önlemler alınarak atılmalıdır. Maruz kalma durumunda, sorumlu otoritelerin sağlık direktifleri izlenmelidir.^{3,4}
8. Reaktifleri kullanırken uygun önlemleri alın. Reaktiflerin göz, deri ve mukoz membranlarla temas etmesini önleyin. Kuşkuyla kararsız olanları veya toksik malzemeleri kullanırken tek kullanımlık eldivenlerden yararlanın ve uygun koruyucu kıyafetler giyin.
9. Reaktifler hassas bölgelerle temas ederse bu bölgeleri bol suyla yıkayın. Reaktiflerin solunmasından kaçının.
10. Cihazda bir işlem başlatmadan önce atık kabının boş olduğundan emin olun. Bu önlemin alınmaması durumunda atık kabı taşınabilir ve kullanıcı kayıp düşme riski altında olur.
11. Yanlış sonuçlar üretebileceği için reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonundan kaçının.
12. Bu cihazın kullanımı hakkında daha fazla bilgi için BenchMark IHC/ISH cihazı Kullanıcı Kılavuzuna ve tüm gerekli bileşenlerin navifyportal.roche.com adresinde bulunan yöntem tablolarına bakın.
13. Önerilen bertaraf yöntemini belirlemek için yerel ve/veya resmi kurumlara danışın.
14. Ürün güvenliği etiketi, öncelikli olarak EU GHS yönergelerini izler. Güvenlik bilgi formu profesyonel kullanıcı için talep üzerine temin edilir.
15. Bu cihazla ilgili şüphelenilen ciddi olayları raporlamak için yerel Roche temsilcisi ve kullanıcının bulunduğu Üye Devlet veya Ülkenin yetkili makamıyla iletişime geçin.

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

Tablo 1. Tehlike bilgileri.

Tehlike	Kod	Beyan
	H317	Alerjik deri reaksiyonuna yol açabilir.
	H319	Ciddi göz tahrişine neden olur.
	H350	Kansere yol açabilir.
	H412	Uzun süreli etkilere su yaşamı için zararlıdır.
	P201	Kullanımdan önce özel talimatları edinin.
	P261	Sis veya buharı solumaktan kaçının.
	P273	Çevreye salınımından kaçının.
	P280	Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/koruyucu gözlük/yüz koruması/işitme koruması kullanın.
	P308 + P313	Maruz kalmışsanız veya endişe duyarsanız: Tıbbi tavsiye/yardım alın.
	P333 + P313	Deride tahriş veya kızarıklık meydana gelirse tıbbi tavsiye/yardım alın.

PROSEDÜR

ultraView Universal DAB Detection Kit, BenchMark IHC/ISH cihazları üzerinde VENTANA primer antikorları ve yardımcı bileşenleri ile birlikte kullanılmak için geliştirilmiştir. Otomatik prosedürlere ilişkin parametreler, cihazın Kullanıcı Kılavuzundaki prosedüre göre görüntülenebilir, yazdırılabilir ve düzenlenebilir. Cihaza yönelik diğer çalışma parametreleri fabrikada önceden ayarlanmıştır.

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

BenchMark IHC/ISH Cihazları

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

Önerilen Cihaz İşleme Sonrası Prosedürler

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

KALİTE KONTROL PROSEDÜRÜ

Pozitif Doku Kontrolü

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

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

Negatif Doku Kontrolü

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

Açıklanamayan Uyuşmazlıklar

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

Negatif Reaktif Kontrolü

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

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

Tayin Doğrulaması

Diagnostik bir prosedürde bir primer antikorun veya boyama sisteminin ilk kullanımından önce, primer antikorun spesifikitesi bunun bilinen pozitif ve negatif dokuları temsil eden bilinen immünohistokimya performans özellikleri ile bir dizi doku üzerinde test edilmesi yoluyla doğrulanmalıdır (primer antikor yöntem tablosundaki Pozitif Doku Kontrolü kısmına ve College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program Kalite Kontrol tavsiyelerine, Anatomic Pathology Checklist'e⁵ veya CLSI Approved Guideline'a⁶ ya da her iki belgeye birden bakın). Bu kalite kontrol prosedürleri her yeni antikor lotu için veya

tayin parametrelerinde her değişiklik olduğunda tekrarlanmalıdır. Primer antikorun Performans Özellikleri kısmında listelenen dokular tayin doğrulaması için uygundur.

Sonuçların Yorumlanması

ultraView Universal DAB Detection Kit primer antikor tarafından lokalize edilen antijen bölgelerinde kahverengi bir reaksiyon ürününün çökmesine yol açar. Immünohistokimya prosedürlerinde deneyimli bir uzman patoloj, sonuçların yorumlanmasından önce kontrolleri değerlendirmeli ve boyanmış ürünü nitelendirmelidir. Önce negatif kontrollerin boyanması dikkate alınmalı ve bu sonuçlar, oluşturulan sinyalin nonspesifik etkileşimlerin sonucu olmadığını doğrulamak üzere boyanan materyalle karşılaştırılmalıdır.

Pozitif Doku Kontrolü

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

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

Negatif Doku Kontrolü

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

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

Hasta Dokusu

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

KISITLAMALAR

Genel Kısıtlamalar

1. IHC; uygun reaktiflerin seçimi, doku seçimleri, fiksasyon, işleme, immünohistokimya slaydının hazırlanması ve boyama sonuçlarının yorumlanması konusunda özel eğitim gerektiren çok adımlı bir diagnostik işlemdir.
2. Doku boyaması, dokunun boyanmadan önceki kullanımı ve işlenmesine bağlıdır. Uygun olmayan fiksasyon, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit çıkarma veya başka doku ya da sıvılarla kontaminasyon, artefaktlara, antikor hapsolmesine veya yanlış negatif sonuçlara yol açabilir. Tutarsız sonuçlar, fiksasyon ve gömme yöntemlerindeki farklılıklardan veya doku içindeki yapısal düzensizliklerden kaynaklanabilir.
3. Aşırı veya eksik karşıt boyama, sonuçların uygun şekilde yorumlanmasına engel olabilir.
4. Herhangi bir pozitif boyamanın veya pozitif boyama bulunmamasının klinik yorumlaması, klinik geçmiş, morfoloji ve diğer histopatolojik kriterler bağlamında değerlendirilmelidir. Her türlü boyamanın veya boyama bulunmamasının klinik yorumlaması, morfolojik çalışmalar ve uygun kontrollerin yanı sıra başka diagnostik testler ile tamamlanmalıdır. Boyalı preparatı yorumlamak için kullanılan antikorlar, reaktifler ve yöntemlere aşina olmak, uzman patoloğun sorumluluğundadır. Boyama, sertifikalı ve ruhsatlı bir laboratuvar, boyalı slaytların incelenmesinden ve pozitif ve negatif kontrollerin yeterliliğini sağlamaktan sorumlu bir patoloj gözetiminde gerçekleştirilmelidir.

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

Özel Kısıtlamalar

1. Saptama kiti prosedürünün her bir adımı BenchMark IHC/ISH cihazlarında optimize edilmiş ve önceden ayarlanmıştır. Doku fiksasyonu ve işlemindeki değişkenlik nedeniyle ayrı numuneler üzerinde primer antikor inkübasyon süresinin artırılması veya azaltılması gerekebilir. Primer antikor inkübasyon süresi doku fiksasyonu derecesine bağlıdır ve 8 ile 32 dakika arasında olabilir. Fiksasyon değişkenleri hakkında daha fazla bilgi için, bkz. "Immunohistochemistry Principles and Advances"⁹ veya "Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist."¹⁰
2. Saptama kiti, VENTANA primer antikorları ve aksesuarları ile birlikte, rutin formalin fiksasyonu, doku işleme ve kesit çıkarma sonrasında kalan antijeni saptar.
3. Bu saptama kiti Reaction Buffer yıkama çözeltisi, primer antikorlar, aksesuarlar ve BenchMark IHC/ISH cihazlarıyla kullanım için optimize edilmiştir. Saptama kitinin uygun şekilde işlev görmesi için Reaction Buffer yıkama çözeltisi kullanımı önem taşır. Önerilen test prosedürlerinden sapan kullanıcılar, söz konusu koşullar altında hasta sonuçlarının yorumlanmasından sorumludur.
4. Bu saptama kiti, LCS (Predilute) veya ULTRA LCS (Predilute) ile birlikte kullanılmak üzere optimize edilmiştir. LCS, hem aköz reaktifler ile hava arasında bir bariyer, hem de deparafinizasyon işlemi esnasında doku örneklerinden parafinin giderilmesine yönelik bir reaktif olarak kullanılan, önceden seyreltilmiş bir lamel çözeltisidir. LCS bariyeri buharlaşmayı azaltır ve VENTANA cihazlarında gerçekleştirilen IHC veya in situ hibridizasyon (ISH) reaksiyonu için stabil bir aköz ortam sağlar.
5. Belirtilenlerin dışındaki inkübasyon süreleri ve sıcaklıkları hatalı sonuçlar verebilir. Kullanıcı bu tür bir değişikliği doğrulamalıdır.
6. Tüm saptama kitleri her cihaz üzerinde kayıtlı olmayabilir. Daha fazla bilgi için lütfen yerel Roche temsilcinizle iletişime geçin.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

ANALİTİK PERFORMANS

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

Kesinlik Çalışmaları

ultraView Universal DAB Detection Kit kesinlik testleri 3 nötr tamponlu FFPE dokulardan seri kesitlerin boyanması yoluyla, 3 primer antikor, meme kanserinde boyanmış bir fare IgG (anti-Ki67), bir Hodgkin Lenfoma ksenogreftinde boyanmış bir fare IgM (anti-CD15) ve bir melanom üzerinde bir tavşan IgG (anti-S100) kullanımıyla BenchMark ve BenchMark XT cihazlarından yararlanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm primer antikorlar 16 dakika inkübe edilmiş ve slaytlar Hematoxylin II kullanılarak karşıt boyanmış, bunu Bluing Reagent takip etmiştir. Primer antikorla boyanan tüm slaytlar boyama uygunluğu ve yoğunluğu açısından birbirleriyle karşılaştırılmıştır:

1. İşlem içi kesinlik (bir platform üzerinde boyanan aynı primer antikor karşılaştırılmıştır) boyama işlemleri 2 farklı cihaz kullanılarak 3 ayrı günde gün başına bir kez olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Toplam 6 boyama işlemi için

BenchMark ve BenchMark XT cihazları. İşlem içi kesinlik BenchMark XT cihazı için %100 (her bir işlemde primer antikor başına 30 slayttan 30'u, 3 işlemde antikor başına toplam 90 boyanan slayt) ve BenchMark cihazı için %100 (her bir işlemde primer antikor başına 20 slayttan 20'si, 3 işlemde antikor başına toplam 60 slayt) olmuştur.

2. İşlemler arası kesinlik, cihaz türü başına 3 işlemde boyanan slayt sayısı esas alınarak hesaplanmıştır. Boyama işlemleri 2 farklı cihaz kullanılarak 3 ayrı günde gün başına bir kez olacak şekilde gerçekleştirilmiştir: BenchMark ve BenchMark XT cihazları. İşlemler arası kesinlik BenchMark XT cihazı için %100 (90 slayttan 90'ı, 3 ayrı işlemde her bir primer antikor için 30 slayt) ve BenchMark cihazı için %100 (60 slayttan 60'ı, her bir platforma yönelik olarak 3 ayrı işlemde her bir primer antikor için 20 slayt) olmuştur.
3. Cihazlar arası kesinlik, tüm cihaz türlerinde 6 işlemde boyanan slayt sayısı esas alınarak hesaplanmıştır. Boyama işlemleri 2 farklı cihaz kullanılarak 3 ayrı günde gün başına 1 kez olacak şekilde gerçekleştirilmiştir: BenchMark ve BenchMark XT cihazları. *ultraView* Universal DAB Detection Kit cihazlar arası kesinliği %100'dür (150 boyanan slayttan 150'si, değerlendirilen slaytlar 3 primer antikorun tamamını içermiştir).

ultraView Universal DAB Detection Kit ile birden fazla VENTANA primer antikor geliştirilmiştir. Bu tayinlerin test edilmesinin bir parçası olarak, *ultraView* Universal DAB Detection Kit için aşağıdaki performans özellikleri gösterilmiştir:

1. BenchMark GX, BenchMark XT ve BenchMark ULTRA cihazlarında İşlem içi, Günler arası, Cihazlar arası ve Platformlar arası kesinlik.
2. Bir dizi normal ve neoplastik doku tipinde ve tayine özgü hedef dokularda boyamanın hassasiyeti ve spesifitesi
3. BenchMark ULTRA PLUS cihazında kesinlik, temsili nitelikte tayinler kullanılarak gösterilmiştir. Çalışmalara işlem içi, günler arası ve cihazlar arası kesinlik dahil olmuştur. Tüm çalışmalar kabul kriterlerini karşılamıştır

SORUN GİDERME

1. Pozitif kontrol beklenenden daha zayıf boyama sergilerse, aynı cihaz işlemi esnasında çalıştırılan diğer pozitif kontroller sorunun primer antikordan mı yoksa ortak ikincil reaktiflerin birinden mi kaynaklandığını belirlemek üzere kontrol edilmelidir.
2. Pozitif kontrol negatifse, slaytın uygun barkod etiketine sahip olduğundan emin olmak üzere kontrol edilmelidir. Slayt uygun şekilde etiketlenmişse, aynı cihaz üzerinde çalıştırılan diğer pozitif kontroller sorunun primer antikordan mı yoksa ortak ikincil reaktiflerin birinden mi kaynaklandığını belirlemek üzere kontrol edilmelidir. Dokular uygun olmayan şekilde toplanmış, sabitlenmiş veya deparafinizasyona tabi tutulmuş olabilir. Toplama, saklama ve fiksasyon için uygun prosedür izlenmelidir.
3. Eksik parafin giderme, boyama artefaktlarıyla veya boyama olmamasıyla sonuçlanabilir.
 - Slayttan tüm parafinin giderilmemesi durumunda, boyama işlemi mevcutsa uzatılmış deparafinizasyon seçeneği kullanılarak tekrarlanmalıdır.
 - Alternatif olarak manuel bir cihaz dışı deparafinizasyon gerçekleştirilebilir. Manuel seçeneğin kullanılması durumunda slaytları cihaza yüklemekten önce boyama protokolünden hat içi deparafinizasyonu seçimini kaldırın. Slaytların boyama işleminden önce kurumaması için ekstra özen gösterilmelidir.
4. Spesifik antikor boyaması çok yoğunsa, işlem istenen boyama yoğunluğu elde edilene kadar inkübasyon süresi 4 dakikalık aralıklarla kısaltılacak şekilde tekrarlanmalıdır.
5. Doku kesitleri slayttan çıkarsa pozitif yüklü olduklarından emin olmak için slaytlar kontrol edilmelidir.
6. Düzeltici eylem için Prosedür kısmına, cihazın Kullanıcı Kılavuzuna bakın veya yerel destek temsilcinizle iletişime geçin.
7. Bir reaktif dağıtıcısının sıvı dağıtmaması durumunda, hazırlama haznesini veya menisküsü lif ya da çökelti gibi yabancı maddeler veya partiküller açısından kontrol edin. Dağıtıcı tıkanmışsa dağıtıcıyı kullanmayın ve yerel destek temsilcinizle iribat kurun. Aksi takdirde dağıtıcıyı bir atık kabı üzerine getirerek, nozül kapağını çıkararak ve dağıtıcının üst kısmına bastırarak tekrar hazırlayın. Uygun kullanım hakkında bilgiler için P/N 760-500 ile ilişkili olan ilgili iç hat dağıtıcı yöntem tablosuna bakın.

REFERANSLAR

1. Elias JM, Gown AM, Nakamura RM, et al. Quality control in immunohistochemistry. Report of a workshop sponsored by the Biological Stain Commission. Am J Clin Pathol. 1989;92(6):836-843.
2. 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 June 2000 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. 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.
9. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
10. Taylor C, Cote RJ. Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist. 2nd Edition. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company; 1986.

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

Semboller

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



Küresel Ticari Ürün Numarası



Benzersiz Cihaz Tanımlayıcı



Tıbbi cihazı Avrupa Birliği'ne ithal eden kuruluşu belirtir

REVİZYON GEÇMİŞİ

Rev	Güncellemeler
K	Uyarılar ve Önlemler kısmındaki ve Sembol kısmındaki Uyarılar ve Önlemler, kullanım talimatı ve sembol referans bağlantılarında güncellemeler. Geçerli Referanslarda güncellemeler

FİKRİ MÜLKİYET

VENTANA, BENCHMARK, *ultra*View ve VENTANA logosu Roche şirketinin ticari markalarıdır. Tüm diğer ticari markalar, ilgili sahiplerinin mülkiyetindedir.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

İLETİŞİM BİLGİLERİ

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

