

ultraView Universal DAB Detection Kit

REF 760-500

05269806001

IVD  250

AVSEDD ANVÄNDNING

ultraView Universal DAB Detection Kit är ett indirekt, biotinfritt system för att detektera primärantikroppar från mus IgG, mus IgM och kanin. Kittet är avsett att identifiera mål genom immunhistokemi i sektioner av formalinfixerad, paraffinbäddad eller frusen vävnad som färgats på ett BenchMark IHC/ISH-instrument.

Denna produkt bör tolkas av en kvalificerad patolog tillsammans med en histologisk undersökning, relevant klinisk information och lämpliga kontroller.

Denna produkt är avsedd för användning vid in vitro diagnostik (IVD).

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Immunhistokemi (IHC) är en teknik som används i laboratorier för diagnostiska ändamål. IHC använder specifika primärantikroppar för att lokalisera och binda till antigener i fasta eller frysta vävnadssektioner. Bindningen av antikroppen till antigenet visualiseras med en indirekt detektionsmetod. De vanligaste teknikerna för indirekta metoder använder en sekundär antikropp riktad mot arten av primärantikropp och ett enzym med ett motsvarande substratkromogensystem. Denna kombination resulterar i en färgad fällning vid platsen för specifik antikroppsbindning. ultraView Universal DAB Detection Kit använder en metod för att visualisera specifika antikroppar bundna till antigener genom att deponera en brunfärgad fällning.

PRINCIPER FÖR PROCEDUREN

ultraView Universal DAB Detection Kit detekterar specifika mus och kanin primärantikroppar bundna till ett antigen i formalinfixerade, paraffinbäddade (FFPE) vävnadssnitt, eller i frysta vävnadssnitt. Den specifika antikroppen lokaliserar genom en cocktail av enzymmärkta sekundära antikroppar. Komplexet visualiseras sedan med ett substrat innehållande väteperoxid och 3,3'-diaminobensidintetrahydroklorid (DAB) kromogen, vilket ger en brun fällning som lätt observeras genom ett ljusmikroskop.

Färgningsprotokollet består av flera steg där reagenser inkuberas under förutbestämda tider vid specifika temperaturer. Vid slutet av varje inkubationssteg tvättar BenchMark IHC/ISH-instrumentet sektionerna för att ta bort obundet material och applicerar ett flytande täckglas som minimerar avdunstningen av de vattenhaltiga reagenserna från objektglaset.¹ Resultaten tolkas med hjälp av ett ljusmikroskop och hjälper till med differentiell diagnos av patofysiologiska processer, som kanske är eller inte är associerade med ett visst antigen.

För mer detaljerad information om instrumentets användning, se lämplig användarhandbok. Figur 1 illustrerar den indirekta detektionsmetoden.

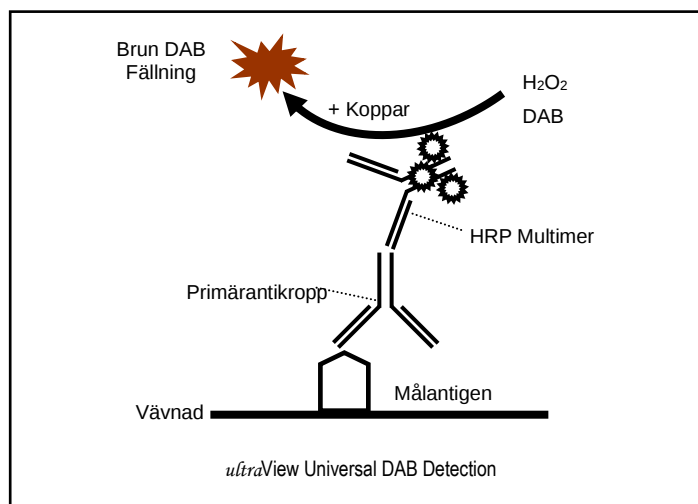


Fig. 1. ultraView Universal DAB Detection Kit-reaktion

MATERIAL OCH METODER

Medföljande material

ultraView Universal DAB Detection Kit innehåller tillräckligt med reagens för 250 tester.

En 25 mL dispenser	ultraView Universal DAB Inhibitor innehåller 3 % väteperoxidlösning.
En 25 mL dispenser	ultraView Universal HRP Multimer innehåller en cocktail av HRP-märkta antikroppar (get anti-mus-IgG, get anti-mus-IgM och get anti-kanin) (ungefär 55 µg/mL) i en buffert innehållande protein med ProClin 300, som är ett konserveringsmedel.
En 25 mL dispenser	ultraView Universal DAB Chromogen innehåller 0.2 % w/v 3,3'-diaminobensidintetrahydroklorid i en patentskyddad stabilisatorlösning med ett patentskyddat konserveringsmedel.
En 25 mL dispenser	ultraView Universal DAB H ₂ O ₂ innehåller 0.04 % väteperoxid i en fosfatbuffertlösning.
En 25 mL dispenser	ultraView Universal DAB Copper innehåller kopparsulfat (5 g/L) i en acetatbuffert med patentskyddat konserveringsmedel.

Rekonstituering, blandning, spädning, titrering

Detektionskittet är optimerat för använing med BenchMark IHC/ISH-instrument. Ingen rekonstituering, blandning, spädning eller titrering av kitreagenser behövs. Ytterligare spädning kan leda till att färgningen går förlorad.

Nödvändigt material som inte medföljer

Färgningsreagens som VENTANA-primärantikroppar och tillhörande komponenter, inklusive objektglas med negativa och positiva vävnadskontroller, medföljer inte.

Eventuellt är inte alla produkter i metodbladet tillgängliga i alla länder. Rådfråga din lokala supportrepresentant.

Följande reagenser och material kan behövas vid färgning men medföljer inte i detektionskittet:

1. Primärantikropp
2. Negativ kontrollreagens
3. Positiva och negativa vävnadskontroller (konsultera antikroppens metodblad för rekommenderade typer)
4. Amplification Kit (kat. nr. 760-080 / 05266114001)
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 1 (CC1) (kat. nr. 950-124 / 05279801001)
13. Cell Conditioning Solution 2 (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. Objektglas för mikroskop, positivt laddade
22. Täckglas och täckglasmetod tillräcklig för att täcka vävnad
23. Laboratorieutrustning för allmänt bruk

Förvaring och stabilitet

Förvaras vid 2–8 °C då den mottages och när den inte används. Får ej frysas. Användaren måste validera alla andra lagringsförhållanden än de som anges i metodbladet. Detektionskitet kan användas omedelbart efter att ha tagits ur kylskåpet. För att garantera korrekt reagensstillförsel och varje reagens stabilitet måste locket på dispensern sättas på igen efter varje användning, och dispensern omedelbart placeras i kylskåp i upprätt läge.

Varje detektionskit är märkt med utgångsdatum. Vid korrekt förvaring är produkten stabil fram till det datum som anges på etiketten. Använd inte produkten efter utgångsdatumet för den föreskrivna lagringsmetoden. Det finns inga definitiva tecken som indikerar instabilitet för denna produkt, därför bör positiva och negativa kontroller köras samtidigt med okända prover. Kontakta den lokala supportrepresentanten omedelbart om det finns indikation på reagensinstabilitet.

Provinsamling och beredning för analys

Rutinmässigt processad FFPE-vävnad är lämplig för användning med *ultraView* Universal DAB Detection Kit och BenchMark IHC/ISH-instrument (se avsnittet Nödvändigt material som inte medföljer). Det rekommenderade medlet för vävnadsfixering är 10 % neutralt buffrat formalin (NBF).² Varierande resultat kan uppstå till följd av vävnadssnittets tjocklek, fixeringstyp, ofullständig långvarig fixering eller speciella processer såsom avkalkning av benmärg-preparationer.

Varje snitt bör skäras till lämplig tjocklek för den primärantikropp som används (se metodblad för den aktuella antikroppen) och placeras på ett positivt laddat mikroskopobjektglas. Objektglaset som innehåller vävnadssnitt ska torka i upprätt position i minst 15 minuter vid rumstemperatur för att få bort överflödigt vatten från sektionen före bakning. Objektglaset kan bakas/värmas i 1 timme i ugn i 60 °C ± 5 °C eller lufttorkas vid 37 °C i upp till 24 timmar. Objektglastorkning och -uppvärmning används för att torka vävnaden efter objektglasmontering och för att förbättra vävnadsvidhäftningen till glaset. Se primärantikroppens metodblad för att identifiera begränsningar för uppvärmning. Förlängd uppvärmning av vävnaden kan leda till minskad antigen tillgänglighet.

Korrekt fixerade och inbäddade vävnader som uttrycker antigenet förblir stabila om de förvaras på en sval plats (15–25 °C). Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) från 1988, 42CFR493.1259 (b) kräver att "Laboratoriet måste behålla objektglas i minst tio år från undersökningsdatumet och behålla provblock i minst två år från undersökningsdatumet". Varje laboratorium bör validera objektglaset för sina egna procedurer och förvaringsförhållanden.

Rutinmässigt processad fryst vävnad är även lämplig för användning med *ultraView* Universal DAB Detection Kit och BenchMark IHC/ISH-instrument. Det rekommenderas att vävnadsfixering i 10 minuter i kall aceton. Varierande resultat kan förekomma vid förlängd fixering eller speciella processer såsom avkalkning av benmärgspreparat.

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. För användning vid in vitro-diagnostik (IVD).
2. Endast för yrkesmässigt bruk.
3. **FÖRSIKTIGHET:** Enligt federal lag i USA får enheten endast säljas av läkare, eller enligt läkares ordination. (Rx Only)
4. **Varning: Möjlig cancerframkallande.** International Agency for Research on Cancer (IARC) och US National Toxicology Program (NTP) har listat bensidin, en förening nära besläktad med 3, 3'-diaminobensidintetrahydroklorid (DAB), som ett känt humant cancerframkallande ämne.
5. Använd inte fler gånger än det angivna antalet tester.

6. ProClin 300-lösning används som konserveringsmedel i denna lösning. Det har klassificerats som ett irriterande ämne och kan orsaka sensibilisering genom hudkontakt. Iaktta rimliga försiktighetsåtgärder vid hantering. Undvik att reagenser kommer i kontakt med ögon, hud och slemhinnor. Använd skyddskläder och handskar.
7. Material av humant eller animaliskt ursprung ska hanteras som potentiellt biologiskt farligt och omhändertas i enlighet med tillämpliga försiktighetsåtgärder. Vid exponering ska de ansvariga myndigheternas hälsodirektiv följas.^{3,4}
8. Vidta rimliga försiktighetsåtgärder vid hantering av reagenser. Undvik att reagenser kommer i kontakt med ögon, hud och slemhinnor. Använd engångshandskar och använd lämpliga skyddskläder när du hanterar misstänkta cancerframkallande ämnen eller toxiskt material.
9. Om reagenser kommer i kontakt med känsliga områden ska dessa sköljas med stora mängder vatten. Undvik inandning av reagenser.
10. Se till att avfallsbehållaren är tom innan du startar en körning på instrumentet. Om denna försiktighetsåtgärd inte vidtas kan avfallsbehållaren bli överfylld och användaren riskerar att halka och ramla.
11. Undvik mikrobiell kontaminering av reagenser eftersom detta kan orsaka felaktiga resultat.
12. För ytterligare information om användningen av den här enheten, se i bruksanvisningen för BenchMark IHC/ISH-instrument och metodbladen för alla nödvändiga komponenter på navifyportal.roche.com.
13. Kontakta lokala och/eller statliga myndigheter för att fastställa rekommenderad metod för avfallshantering.
14. Produktsäkerhetsmärkningsenheten följer främst EU:s GHS-vägledning. Säkerhetsdatablad finns tillgängligt för professionella användare på begäran.
15. För att rapportera misstänkta allvariga händelser relaterade till den här enheten ska man kontakta den lokala Roche-representanten och den behöriga myndigheten i den medlemsstat eller land där användaren är etablerad.

Denna produkt innehåller komponenter som klassificeras enligt följande i enlighet med Förordning (EG) nr. 1272/2008:

Tab. 1. Information om risker.

Risk	Kod	Betydelse
 	H317	Kan orsaka allergisk hudreaktion.
	H319	Orsakar allvarig ögonirritation.
	H350	Kan orsaka cancer.
	H412	Skadligt för vattenlevande organismer med långvariga effekter.
	P201	Följ specialinstruktioner före användning.
	P261	Undvik att andas in dimma eller ångor.
	P273	Undvik utsläpp i miljön.
	P280	Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd/hörselskydd.
	P308 + P313	Vid exponering eller oro: Sök läkarhjälp.
	P333 + P313	Vid hudirritation eller utslag: sök läkarhjälp.

PROCEDUR

ultraView Universal DAB Detection Kit har utvecklats för användning på BenchMark IHC/ISH-instrument i kombination med VENTANA-primärantikroppar och tillbehör. Parametrarna för de automatiserade procedurerna kan visas, skrivas ut och redigeras i enlighet med metoden i instrumentets användarhandbok. Instrumentets övriga driftsparametrar har ställts in i förväg på fabriken.

Procedurerna för färgning på BenchMark IHC/ISH-instrument är de som följer nedan. Mer detaljerade instruktioner och ytterligare protokollalternativ finns i användarhandboken. Huruvida ett prov kräver Cell Conditioning är antikroppens beroende. Se antikroppens metodblad för anvisningar.

BenchMark IHC/ISH-Instrument

1. Applicera en streckkodsetikett för objektglaset som motsvarar det protokoll som ska användas.
2. Ladda primärantikroppen, lämplig dispenserering för detektionskit och nödvändigt tillbehörsreagens på reagensbrickan och placera dem på instrumentet.
3. Kontrollera bulkvätska och töm avfall.
4. Ladda objektglasen på instrumentet.
5. Starta färgningskörningen.
6. När körningen är klar tar du bort objektglasen från instrumentet.
7. Fortsätt till Rekommenderade procedurer för efterbehandling av instrument.

Rekommenderade procedurer för efterbehandling av instrument

1. Tvätta objektglasen med ett mildt diskmedel för att ta bort täckglaslösningen.
2. Skölj objektglasen noggrant i destillerat vatten för att ta bort allt tvättmedel.
3. Torka, rensa och applicera täckglas med permanent monteringsmedia.

PROCEDUR FÖR KVALITETSKONTROLL

Positiv vävnadskontroll

En positiv vävnadskontroll måste köras med varje färgningsprocedur som utförs. Det är optimal laboratoriepraxis att använda ett snitt för positiv kontroll på samma objektglas som patientvävnaden. Denna praxis hjälper till att identifiera ett misslyckande med att applicera primärantikropp eller annan kritiskt reagens på patientens testobjektglas. En vävnad med svag positiv färgning är bäst lämpad för optimal kvalitetskontroll. De positivt färgade vävnadskomponenterna används för att bekräfta att antikroppen applicerades och instrumentet fungerade korrekt. Denna vävnad kan innehålla både positivt och negativt färgade celler eller vävnadskomponenter och fungera som både positiv och negativ kontrollvävnad. Kontrollvävnad bör utgöras av färiska obduktions-, biopsi- eller kirurgiska prover, vilka preparerats eller fixerats så tidigt som möjligt på ett sätt som är identiskt med behandlingen av testsnittet. Sådana vävnader kan kontrollera alla steg i proceduren från vävnadsberedning till färgning. Användning av ett vävnadssnitt som är fixerat eller bearbetat på ett annat sätt än testprovet kommer att ge kontroll för alla reagens- och metodsteg utom fixering och vävnadsbearbetning.

Kända positiva vävnadskontroller bör endast användas för att kontrollera korrekt prestanda för bearbetade vävnader och testreagenser, inte som hjälpmedel vid fastställande av en specifik diagnos för testprov. Om de positiva vävnadskontrollerna inte uppvisar positiv färgning, bör testprovernas resultat anses ogiltiga.

Negativ vävnadskontroll

Samma vävnad som används för den positiva vävnadskontrollen kan användas som den negativa vävnadskontrollen. De många celltyper som finns i de flesta vävnadssnitt erbjuder interna negativa kontrollplatser, men detta bör verifieras av användaren. Komponenterna som inte färgar bör visa frånvaro av specifik färgning och ge en indikation på bakgrundsfärgning. Om specifik färgning inträffar på de negativa vävnadskontrollplatserna, bör resultaten med patientproverna betraktas som ogiltiga.

Oförklarliga avvikelser

Oförklarliga avvikelser i kontrollerna bör omedelbart rapporteras till din lokala supportrepresentant. Om kvalitetskontrollresultaten inte uppfyller specifikationerna är patientresultaten ogiltiga. Se avsnittet Felsökning i detta metodblad. Identifiera och åtgärda problemet och upprepa sedan patientproverna.

Negativ reagenskontroll

En negativ reagenskontroll måste köras för varje prov för att underlätta tolkningen av resultaten. En negativ reagenskontroll används i stället för primärantikroppen för att utvärdera icke-specifik färgning. Objektglaset bör färgas med Negative Control Mouse eller Negative Control Rabbit, såsom lämpligt. Spädningsvätskan kan ensam användas som ett alternativ till de tidigare beskrivna negativa reagenskontrollerna. Inkubationsperioden för den negativa reagenskontrollen bör vara samma som primärantikroppens inkubationsperiod.

När paneler med flera antikroppar används vid seriell snittning kan en negativ reagenskontroll på ett objektglas fungera som en negativ eller ospecifik bindningskontroll för andra antikroppar.

Analysverifiering

Före den första användningen av en primärantikropp eller ett färgningssystem i en diagnostisk procedur bör primärantikroppens specificitet verifieras genom att testa den på en serie vävnader med kända prestandaegenskaper för immunohistokemi som representerar kända positiva och negativa vävnader (se avsnittet Positiv vävnadskontroll i

primärantikroppens metodblad och rekommendationerna för kvalitetskontroll från College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist⁵ eller CLSI Approved Guideline⁶ eller båda dokumenten). Dessa procedurer för kvalitetskontroll bör upprepas för varje ny antikroppslot eller när det finns förändringar i analysparametrarna. Vävnader som är angivna i avsnittet Prestandaegenskaper för primärantikroppen är lämpliga för analysverifiering.

Tolkning av resultaten

ultraView Universal DAB Detection Kit ger en brunfärgad reaktionsprodukt som fälls ut vid antigenställena som lokaliserats av primärantikroppen. En kvalificerad patolog med erfarenhet av immunhistokemiska procedurer måste utvärdera kontroller och kvalificera den färgade produkten innan resultaten tolkas. Färgning av negativa kontroller måste noteras först, och dessa resultat jämförs med färgat material för att verifiera att den genererade signalen inte är resultatet av icke specifika interaktioner.

Positiv vävnadskontroll

Den färgade positiva vävnadskontrollen bör undersökas först för att säkerställa att alla reagenser fungerar korrekt. Förekomst av en lämpligt färgad reaktionsprodukt i målcellen är en indikation på positiv reaktivitet. Beroende på inkubationslängden och styrkan hos det använda hematoxylinet kommer kontrastfärgning att resultera i en blek till mörkblå färgning av cellkärnor. Överdriven eller ofullständig kontrastfärgning kan leda till felaktig tolkning av resultaten.

Om den positiva vävnadskontrollen inte uppvisar positiv färgning, bör alla testprovernas resultat anses ogiltiga.

Negativ vävnadskontroll

Den negativa vävnadskontrollen bör undersökas efter den positiva vävnadskontrollen för att verifiera den specifika märkningen av målantigenet med primärantikroppen. Frånvaron av specifik färgning i den negativa vävnadskontrollen bekräftar avsaknad av korsreaktivitet för antikropp för celler eller cellulära komponenter. Om specifik färgning inträffar på den negativa vävnadskontrollen, bör resultaten med patientproverna betraktas som ogiltiga.

Icke-specifik färgning, om sådan förekommer, kommer att ha ett diffust utseende. Sporadisk ljus färgning av bindväv kan också observeras i snitt från alltför formalinfixerade vävnader. Intakta celler bör användas för tolkning av färgningsresultat. Nekrotiska eller degenererade celler färgar ofta ospecifikt.

Patientvävnad

Patientprover ska undersökas sist. Positiv färgningsintensitet bör bedömas inom ramen för eventuell icke-specifik bakgrundsfärgning av den negativa reagenskontrollen. Som med alla immunhistokemiska test betyder ett negativt resultat att antigenet i fråga inte detekterades, inte att antigenet inte fanns i cellerna eller analyserad vävnad. Använd vid behov en panel av antikroppar för att hjälpa till att identifiera falska negativa reaktioner. Morfologin för varje vävnadsprov bör också undersökas med hjälp av en hematoxylin- och eosinfärgade snitt vid tolkning av eventuella immunhistokemiska resultat. Patientens morfologiska resultat och relevanta kliniska data måste tolkas av en kvalificerad patolog.

BEGRÄNSNINGAR

Allmänna begränsningar

1. IHC är en diagnostisk process i flera steg som kräver specialutbildning i valet av lämpliga reagenser, vävnadssnitt, fixering, bearbetning, beredning av immunhistokemiobjektglaset och tolkning av färgningsresultaten.
2. Vävnadsfärgning är beroende av hantering och bearbetning av vävnaden före färgning. Felaktig fixering, frysning, upptining, tvättning, torkning, uppvärmning, snittning eller kontaminering med andra vävnader eller vätskor kan ge artefakter, bindande antikroppar eller falska negativa resultat. Inkonsekventa resultat kan fås vid variationer i fixerings- och inbäddningsmetoder eller från inneboende oregelbundenheter i vävnaden.
3. Överdriven eller ofullständig kontrastfärgning kan leda till felaktig tolkning av resultaten.
4. Den kliniska tolkningen av positiv färgning eller frånvaro därav, måste utvärderas inom ramen för klinisk historik, morfologi och andra histopatologiska kriterier. Den kliniska tolkningen av eventuell färgning eller frånvaro därav, måste kompletteras med morfologiska studier och korrekta kontroller samt andra diagnostiska tester. Det är en kvalificerad patologs ansvar att känna till antikropparna, reagenserna och metoderna som används för att tolka det färgade preparatet. Färgning måste utföras i ett certifierat licensierat laboratorium under överinseende av en patolog som ansvarar för att granska de färgade objektglasen och säkerställa att de positiva och negativa kontrollerna är tillräckliga.

- Antikroppar och reagenser från VENTANA tillhandahålls med optimal utspädning för användning när de medföljande instruktionerna följs. Avvikelse från rekommenderade testförfaranden kan ogiltigförklara förväntade resultat. Lämpliga kontroller måste användas och dokumenteras. Användare som avviker från rekommenderade testförfaranden måste ta ansvar för tolkningen av patientresultaten.
- Reagenser kan visa oväntade reaktioner i tidigare otestade vävnader. Risken för oväntade reaktioner även i testade vävnadsgrupper kan inte elimineras fullständigt på grund av biologisk variation av antigenuttryck i neoplasmer eller andra patologiska vävnader.⁷ Kontakta din lokala supportrepresentant med dokumenterade oväntade reaktioner.
- Vävnader från personer som är infekterade med hepatit B-virus och som innehåller hepatit B-ytantigen (HBsAg) kan uppvisa icke-specifik färgning med pepparrotsperoxidas.⁸
- Vid användning i blockeringssteg kan normala serum från samma djurkälla som sekundära antiserum orsaka falska negativa eller falska positiva resultat på grund av autoantikroppar eller naturliga antikroppar.
- Som med alla immunhistokemiska test betyder ett negativt resultat att antigenet inte detekterades, inte att antigenet inte fanns i cellerna eller analyserad vävnad.

Specifika begränsningar

- Varje steg i proceduren för detektionskitet har optimerats på BenchMark IHC/ISH-instrument och är förinställt. På grund av variation i vävnadsfixering och bearbetning kan det vara nödvändigt att öka eller minska primärantikroppens inkuberingstid på enskilda prover. Primärantikroppens inkuberingstid beror på graden av vävnadsfixering och kan variera från 8 till 32 minuter. Ytterligare information om fixeringsvariabler finns i "Immunohistochemistry Principles and Advances"⁹ eller "Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist."¹⁰
- Detektionskitet, i kombination med VENTANA-primärantikroppar och tillbehör, detekterar antigen som överlever rutinmässig formalinfixering, vävnadsbearbetning och snittning.
- Detektionskitet har optimerats för användning med Reaction Buffer-tvättlösning, primärantikropp, tillbehör och BenchMark IHC/ISH-instrument. Användning av Reaction Buffer tvättlösning är viktigt för att detektionskitet ska fungera korrekt. Användare som avviker från rekommenderade testförfaranden är ansvariga för tolkningen av patientresultat under dessa omständigheter.
- Det här detektionskitet har optimerats för användning med LCS (Predilute) eller ULTRA LCS (Predilute). LCS är en förspädd täckglaslösning som används både som en barriär mellan vattenhaltiga reagenser och luften samt som ett reagens för att avlägsna paraffin från vävnadsprov under avparaffineringsprocessen. Denna LCS-barriär minskar avdunstning och ger en stabil vattenhaltig miljö för IHC- eller in situ-hybridisering (ISH)-reaktion som utförs på VENTANA-instrument.
- Inkuberingstider och andra temperaturer än de angivna kan ge felaktiga resultat. Användaren måste validera alla sådana ändringar.
- Alla detektionskit kanske inte registreras på varje instrument. Kontakta din lokala Roche-representant för mer information.

PRESTANDAEGENSKAPER

ANALYTISK PRESTANDA

Prestandan för *ultraView* Universal DAB Detection Kit utvärderades genom precision och andra relevanta studier. All färgning utfördes med protokollet som angavs i antikroppens metodblad för BenchMark IHC/ISH-instrument om inget annat anges.

Precisionsstudier

ultraView Universal DAB Detection Kit precisionstestning utfördes genom färgning av seriella snitt från 3 neutralt buffrade FFPE-vävnader med 3 primärantikroppar, en mus IgG (anti-Ki67) färgad på brösttumör, en mus IgM (anti-CD15) färgad på ett Hodgkins lymfom xenograft och en kanin IgG (anti-S100) på ett melanom med hjälp av BenchMark- och BenchMark XT-instrument. Alla primärantikroppar inkuberades under 16 minuter och objektglas kontrastfärgades med hjälp av Hematoxylin II följt av Bluing Reagent. Alla objektglas färgade med en primärantikropp jämfördes mot varandra för färgningslämplighet och -intensitet:

- Precision mellan olika körningar (samma primärantikropp färgad på en jämförd plattform) utfördes en per dag under 3 separata dagar med användning av 2 olika instrument: BenchMark- och BenchMark XT-instrument under totalt 6 färgningskörningar. Precision mellan olika körningar för BenchMark XT-

instrumentet var 100 % (30 av 30 objektglas per primärantikropp per körning, totalt 90 objektglas färgade per antikropp över de 3 körningarna) och 100 % (20 av 20 objektglas per primärantikropp per körning, totalt 60 objektglas per antikropp över 3 körningar) för BenchMark-instrumentet).

- Precision mellan olika körningar beräknades baserat på antalet objektglas som färgats i 3 körningar per instrumenttyp. En färgningskörning per dag utfördes under 3 separata dagar med 2 olika instrument: BenchMark- och BenchMark XT-instrument. Precision mellan olika körningar för BenchMark XT-instrumentet var 100 % (90 av 90 objektglas, 30 objektglas för varje primärantikropp över 3 separata körningar) och 100 % (60 av 60 objektglas, 20 objektglas för varje primärantikropp över 3 separata körningar för varje plattform) för BenchMark-instrumentet.
- Precision mellan olika instrument beräknades baserat på antalet objektglas som färgats i 6 körningar över alla typer av instrument. Färgningskörningar utfördes, 1 per dag under 3 separata dagar med 2 olika instrument: BenchMark- och BenchMark XT-instrument. *ultraView* Universal DAB Detection Kit precision mellan olika instrument är 100 % (150 av 150 färgade objektglas, utvärderade objektglas inkluderade alla 3 primärantikropparna).

Flera VENTANA primärantikroppar har utvecklats med *ultraView* Universal DAB Detection Kit. Som en del av testningen för dessa analyser demonstrerades följande prestandaegenskaper för *ultraView* Universal DAB Detection Kit;

- Precision inom körning, Mellan dag, Mellan instrument och Mellan plattform på BenchMark GX, BenchMark XT och BenchMark ULTRA-instrument.
- Sensitivitet och specificitet av färgning över en rad normala och neoplastiska vävnadstyper och analys-specifika målvävnader
- Precision på BenchMark ULTRA PLUS-instrument visades med hjälp av representativa analyser. Studierna inkluderade precision inom körning, mellan dag och mellan instrument. Alla studier uppfyllde sina acceptanskriterier

FELSÖKNING

- Om den positiva kontrollen uppvisar svagare färgning än väntat, ska andra positiva kontroller som körts i samma instrumentkörning, kontrolleras för att avgöra om det beror på primärantikroppen eller en av de vanliga sekundära reagenserna.
- Kontrollera att objektglaset har rätt streckodsetikett om den positiva kontrollen är negativ. Om objektglaset är märkt ordentligt, ska andra positiva kontroller som körts i samma instrumentkörning kontrolleras för att avgöra om det beror på primärantikroppen eller en av de vanliga sekundära reagenserna. Vävnader kan ha samlats in på fel sätt, fixerats eller avparaffinerats. Rätt procedur för insamling, lagring och fixering ska följas.
- Otillräcklig avparaffinering kan resultera i färgning av artefakter eller ingen färgning.
 - Om allt paraffin inte har tagits bort från objektglaset bör färgningskörningen upprepas med alternativet förlängd avparaffinering, om tillgängligt.
 - Alternativt kan en manuell avparaffinering utanför instrumentet utföras. Om det manuella alternativet används, avmarkera avparaffinering online från färgningsprotokollet innan du laddar objektglaset på instrumentet. Extra försiktighet bör vidtas för att säkerställa att objektglaset inte torkar ut före färgningskörningen.
- Om specifik antikroppsfärgning är för intensiv, bör körningen upprepas med inkuberingstid förkortad med 4 minuters intervall tills önskad färgningsintensitet uppnås.
- Om vävnadssnitt sköljs av objektglaset, bör objektglaset kontrolleras för att säkerställa att de är positivt laddade.
- Korrigerande åtgärder finns i avsnittet för procedurer, instrumentets bruksanvisning eller kan fås av din lokala supportrepresentant.
- Om en reagens-dispenser inte dispenserar vätska, kontrollera priming-kammaren eller menisk för främmande material eller partiklar, såsom fibrer eller fällningar. Om dispensern är blockerad, använd inte dispensern utan kontakta din lokala supportrepresentant. Annars ska du fälla in dispensern igen genom att rikta dispensern över en avfallsbehållare, ta bort munstyckslocket och trycka ner på toppen av dispensern. Se tillhörande metodblad för inline-dispensern kopplat till art.nr 760-500 för information om korrekt användning.

REFERENSER

- 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.

OBS! En punkt (avslut) används alltid i detta dokument som decimalavskiljare för att markera gränsen mellan heltal och bråkdelar i ett decimaltal. Tusentalsavgränsare används inte.

Symboler

Ventana använder följande symboler och tecken utöver de som anges i standarden ISO 15223-1 (för USA: se vidare på elabdoc.roche.com/symbols för mer information).



Globalt artikelnummer



Unik enhetsidentifierare



Anger den enhet som importerar den medicintekniska produkten till Europeiska unionen

REVISIONSHISTORIK

Rev.	Uppdateringar
K	Uppdateringar av varningar och försiktighetsåtgärder, bruksanvisning och symbolreferenslänkar i avsnitten varningar och försiktighetsåtgärder och symbol. Uppdateringar av tillämpliga referenser

IMMATERIELL EGENDOM

VENTANA, BENCHMARK, *ultra*View och VENTANA-logotypen är varumärken som tillhör Roche. Alla övriga varumärken tillhör sina respektive ägare.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

KONTAKTUPPGIFTER



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

