

## OptiView DAB IHC Detection Kit

**REF** 760-700  
06396500001

**IVD** 250

### UTILISATION PREVUE

L'OptiView DAB IHC Detection Kit (OptiView) est un système de détection indirecte sans biotine des anticorps primaires de lapin et de souris (IgG et IgM de souris). Ce kit est destiné à identifier par immunohistochimie (IHC) les cibles contenues dans des coupes de tissus fixés au formol, inclus en paraffine et congelés qui sont colorées sur les automates de coloration VENTANA et visibles en microscopie optique. L'interprétation clinique de toute coloration, ou l'absence de coloration, doit être complétée par des études morphologiques et l'évaluation des contrôles appropriés.

Ce produit doit être interprété par un anatomopathologiste qualifié, en complément d'examens histologiques, d'informations cliniques pertinentes et de contrôles adaptés.

Ce produit est conçu pour une utilisation en diagnostic in vitro (IVD).

### RESUME ET EXPLICATION

L'immunohistochimie (IHC) est une technique utilisée en laboratoire à des fins diagnostiques. L'IHC utilise des anticorps primaires spécifiques qui, en se liant à leurs antigènes cibles, permettent de les localiser dans des coupes de tissus fixés ou congelés. La liaison de l'anticorps à l'antigène est visualisée par une méthode de détection indirecte. Les techniques les plus courantes de méthodes indirectes utilisent un anticorps secondaire dirigé contre l'espèce d'anticorps primaire et une enzyme avec un système substrat-chromogène correspondant. Cette combinaison produit un précipité coloré au site de liaison spécifique de l'anticorps. L'OptiView DAB IHC Detection Kit utilise une méthode indirecte pour visualiser les anticorps spécifiques liés aux antigènes par dépôt d'un précipité brun.

### PRINCIPE DE LA PROCEDURE

L'OptiView DAB IHC Detection Kit détecte les anticorps primaires spécifiques de souris et de lapin liés à un antigène dans les coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE) ou congelés. L'anticorps spécifique est localisé par un anticorps secondaire spécifique auquel se lie un anticorps tertiaire conjugué à une enzyme. Le complexe est ensuite visualisé grâce au substrat peroxyde d'hydrogène et au chromogène 3,3'-diaminobenzidine tétrahydrochloride (DAB) qui produisent un précipité brun facilement observable par microscopie optique.

Le protocole de coloration est constitué de nombreuses étapes durant lesquelles les réactifs sont incubés pendant des durées prédéterminées à des températures spécifiques. À la fin de chaque étape d'incubation, l'appareil BenchMark IHC/ISH rince les coupes pour éliminer les substances non liées et applique une solution de Liquid Coverslip qui minimise l'évaporation des réactifs aqueux sur la lame.<sup>1</sup> Les résultats interprétés au microscope optique facilitent le diagnostic différentiel des processus physiopathologiques associés ou non à un antigène particulier.

Pour plus de détails sur l'utilisation de l'appareil, consulter le guide d'utilisation approprié.

La figure 1 illustre la méthode de détection indirecte.

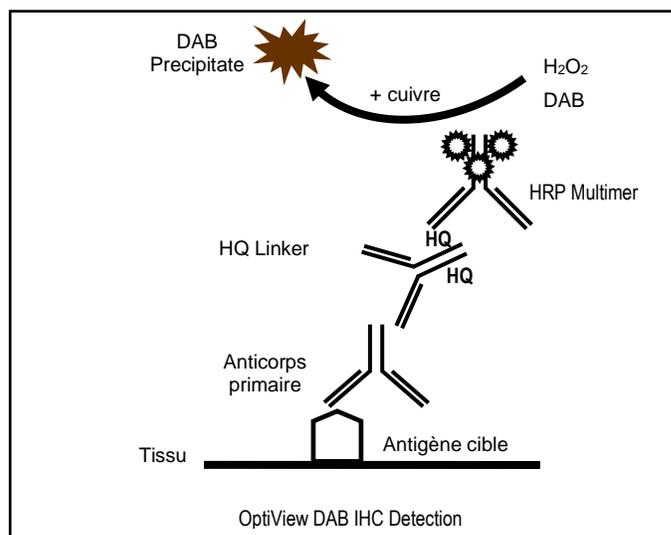


Figure 1. OptiView DAB IHC Detection Kit.

### MATERIELS ET METHODES

#### Matériel fourni

L'OptiView DAB IHC Detection Kit contient suffisamment de réactif pour 250 tests.

Un distributeur de 25 mL	d'OptiView Peroxidase Inhibitor contient une solution de peroxyde d'hydrogène à 3.0 %.
Un distributeur de 25 mL	d'OptiView HQ Universal Linker contient un cocktail d'anticorps (anticorps de chèvre anti-IgG de souris, anticorps de chèvre anti-IgM de souris et anticorps de chèvre antilapin) (environ 50 µg/mL) conjugués à l'HQ (HQ est un haptène exclusif couplé de façon covalente aux anticorps de chèvre) dans un tampon renfermant une protéine avec 0,05 % de ProClin 300, un conservateur.
Un distributeur de 25 mL	d'OptiView HRP Multiimer contient un anticorps monoclonal tertiaire de souris anti-HQ conjugué à l'HRP (environ 40 µg/mL) dans un tampon renfermant une protéine et 0.05 % de ProClin 300, un conservateur.
Un distributeur de 25 mL	d'OptiView DAB contient 0.2 % (m/v) de tétrachlorhydrate 3,3'-diaminobenzidine (DAB) dans une solution stabilisante exclusive renfermant un conservateur exclusif.
Un distributeur de 25 mL	d'OptiView H2O2 contient 0.04 % de peroxyde d'hydrogène dans une solution de tampon phosphate.
Un distributeur de 25 mL	d'OptiView Copper contient du sulfate de cuivre (5.0 g/L) dans un tampon acétate avec un conservateur exclusif.

#### Reconstitution, mélange, dilution, titration

Ce kit de détection est optimisé pour une utilisation sur les appareils BenchMark IHC/ISH. Aucune étape de reconstitution, de mélange, de dilution ou de titration des réactifs du kit n'est nécessaire. Une dilution plus poussée peut entraîner une perte de coloration.

**Matériel nécessaire mais non fourni**

Les réactifs de coloration tels que les anticorps primaires et les composants accessoires VENTANA, y compris les lames de tissu de contrôle négatif et positif, ne sont pas fournis. Il est possible que certains produits indiqués dans la fiche technique ne soient pas disponibles dans certains pays. Contacter un représentant du service client local.

Les réactifs et le matériel suivants peuvent être nécessaires pour la coloration, mais ne sont pas fournis avec le kit de détection :

1. Anticorps primaire
2. Réactif de contrôle négatif
3. Tissus de contrôle recommandés
4. OptiView Amplification Kit (réf. 760-099 / 06396518001 [50 tests] ou 860-099 / 06718863001 [250 tests])
5. Protease 1 (réf. 760-2018 / 05266688001)
6. Protease 2 (réf. 760-2019 / 05266696001)
7. Protease 3 (réf. 760-2020 / 05266718001)
8. Hematoxylin (réf. 760-2021 / 05266726001)
9. Hematoxylin II (réf. 790-2208 / 05277965001)
10. Bluing Reagent (réf. 760-2037 / 05266769001)
11. Reaction Buffer Concentrate (10X) (réf. 950-300 / 05353955001)
12. Cell Conditioning Solution (CC1) (réf. 950-124 / 05279801001)
13. Cell Conditioning Solution (CC2) (réf. 950-123 / 05279798001)
14. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (réf. 950-224 / 05424569001)
15. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (réf. 950-223 / 05424542001)
16. Antibody Diluent (réf. 251-018 / 05261899001)
17. EZ Prep Concentrate (10X) (réf. 950-102 / 05279771001)
18. LCS (Predilute) (réf. 650-010 / 05264839001)
19. ULTRA LCS (Predilute) (réf. 650-210 / 05424534001)
20. Appareil BenchMark IHC/ISH
21. Lames de microscope chargées positivement
22. Lamelles d'une taille suffisante pour couvrir le tissu ou autre méthode de montage
23. Matériel courant de laboratoire

**Conservation et stabilité**

Conserver le produit entre 2 et 8 °C dès réception et lorsqu'il n'est pas utilisé. Ne pas congeler. L'utilisateur doit valider toute condition de conservation non spécifiée dans la fiche technique. Ce kit de détection peut être utilisé dès sa sortie du réfrigérateur.

Pour assurer une distribution de réactif correcte et la stabilité de chaque réactif, remettre le capuchon sur le distributeur après chaque utilisation et ranger immédiatement le distributeur en position verticale dans le réfrigérateur.

Chaque kit de détection comporte une date d'expiration. Lorsqu'il est correctement conservé, le produit reste stable jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette. Ne pas utiliser le produit au-delà de la date d'expiration indiquée pour la méthode de conservation prévue. Étant donné qu'il n'existe aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit, des contrôles positif et négatif doivent toujours être testés en même temps que les échantillons pathologiques. En cas de signe d'instabilité du réactif, contacter immédiatement un représentant du service client local.

**Prélèvement et préparation des échantillons pour l'analyse**

Les tissus FFPE sont adaptés à une utilisation avec l'OptiView DAB Detection Kit et les appareils BenchMark IHC/ISH (se reporter à la rubrique Matériel nécessaire mais non fourni). Le fixateur de tissus recommandé est un fixateur au formol neutre tamponné (NBF) à 10 %.<sup>2</sup> Une certaine variabilité des résultats peut être observée à cause de l'épaisseur des coupes de tissu, du type de fixation, d'une fixation incomplète prolongée ou de procédures spéciales comme la décalcification des préparations de moelle osseuse.

Chaque coupe doit avoir une épaisseur appropriée (2-5 µm) pour l'anticorps primaire testé et être placée sur une lame en verre chargée positivement. Les lames comprenant une coupe de tissu doivent être mises à sécher en position verticale pendant au moins 15 minutes à température ambiante pour éliminer l'excès d'eau entre la coupe et la lame avant le séchage à l'étuve. Les lames peuvent être séchées à chaud en étuve pendant une heure à 60 °C ± 5 °C ou à l'air libre à 37 °C pendant une durée maximale de 24 heures. Les lames sont séchées et chauffées pour sécher le tissu après montage sur la lame et pour renforcer l'adhérence du tissu au verre. Consulter la fiche technique de l'anticorps primaire pour vérifier les limites de chauffage. Le chauffage prolongé du tissu peut diminuer la disponibilité de l'antigène.

Les tissus exprimant l'antigène ayant fait l'objet d'une fixation et d'une inclusion appropriées restent stables s'ils sont conservés dans un lieu frais (15-25 °C). D'après le Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) de 1988, 42CFR493.1259 (b), « Le laboratoire doit conserver les lames colorées pendant au moins dix ans à compter de la date de leur examen et garder les blocs d'échantillons pendant au moins deux ans à compter de la date de leur examen ». Chaque laboratoire doit valider la stabilité des lames coupées en fonction de ses propres procédures et conditions de stockage.

**AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS D'EMPLOI**

1. Pour utilisation en diagnostic in vitro (IVD).
2. Pour utilisation professionnelle uniquement.
3. **Avvertissement : cancérigène possible.** L'International Agency for Research on Cancer (IARC) et l'US National Toxicology Program (NTP) ont classé la benzidine, un composé proche du tétrachlorhydrate 3,3'-diaminobenzidine (DAB), parmi les cancérigènes avérés pour l'Homme.
4. Ne pas utiliser au-delà du nombre de tests indiqué.
5. Une solution de ProClin 300 est utilisée comme conservateur dans cette solution. Ce conservateur classé comme produit irritant peut provoquer une sensibilisation par contact avec la peau. Prendre toutes les précautions nécessaires pendant la manipulation. Éviter tout contact des yeux, de la peau et des membranes muqueuses avec les réactifs. Utiliser des gants et porter des vêtements de protection.
6. Les produits d'origine humaine ou animale doivent être manipulés comme susceptibles de présenter un risque biologique et éliminés en prenant les précautions appropriées. En cas d'exposition à un tel produit, il convient de respecter les directives des autorités de santé compétentes.<sup>3,4</sup>
7. Prendre toutes les précautions nécessaires pendant la manipulation des réactifs. Éviter tout contact des yeux, de la peau et des membranes muqueuses avec les réactifs. Utiliser des gants jetables et porter des vêtements de protection appropriés pendant la manipulation de cancérigènes présumés ou de substances toxiques.
8. Si des réactifs entrent en contact avec des zones sensibles, laver abondamment à l'eau. Éviter d'inhaler les réactifs.
9. Veiller à ce que le récipient à déchets soit vide avant de démarrer un cycle sur l'appareil. En l'absence de cette précaution, le récipient à déchets peut déborder et l'utilisateur risque de glisser et de tomber.
10. Éviter toute contamination microbienne des réactifs, car cela pourrait entraîner des résultats erronés.
11. Pour plus d'informations sur l'utilisation de ce produit, se référer au guide d'utilisation de l'appareil BenchMark IHC/ISH et aux fiches techniques de tous les composants nécessaires à l'adresse [navifportal.roche.com](http://navifportal.roche.com).
12. Consulter les autorités locales et/ou nationales pour connaître la méthode d'élimination recommandée.
13. L'étiquetage de sécurité des produits suit principalement les directives SGH de l'UE. La fiche de données de sécurité est disponible sur demande pour les utilisateurs professionnels.
14. Pour signaler toute suspicion d'événement grave lié à ce dispositif, contacter un représentant Roche local et l'autorité compétente de l'État membre ou du pays dans lequel le dispositif est utilisé.

Ce produit contient des composants classés comme suit conformément au Règlement (CE) N° 1272/2008 :

Tableau 1. Mentions de danger.

Danger	Code	Mention
	H350	Peut provoquer le cancer.
	H412	Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.
	P201	Se procurer les instructions spéciales avant utilisation.
	P202	Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité.
	P273	Éviter le rejet dans l'environnement.
	P280	Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage/de l'ouïe.

Danger	Code	Mention
	P308 + P313	EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : consulter un médecin.
	P501	Éliminer le contenu/récipient dans une usine de traitement des déchets agréée.

EUH208 : Contient un mélange de : 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one et de 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one (3:1). Peut produire une réaction allergique.

## PROCEDURE

L'OptiView DAB IHC Detection Kit a été développé pour être utilisé avec les appareils BenchMark IHC/ISH en association avec les anticorps primaires et les accessoires VENTANA. Les paramètres des procédures automatisées peuvent être affichés, imprimés et modifiés conformément à la procédure décrite dans le guide d'utilisation de l'appareil. D'autres paramètres d'utilisation de l'appareil ont été préréglés en usine.

Les procédures de coloration sur les appareils BenchMark IHC/ISH sont décrites ci-dessous. Pour des instructions plus détaillées et des options de protocole supplémentaires, consulter votre guide d'utilisation. Avec certains anticorps, les échantillons peuvent requérir un démasquage cellulaire (Cell Conditioning). Consulter la fiche technique de l'anticorps pour les instructions.

### Appareils BenchMark IHC/ISH

1. Apposer sur la lame l'étiquette code-barres qui correspond au protocole à exécuter.
2. Charger l'anticorps primaire, les distributeurs du kit de détection appropriés et le réactif accessoire requis sur le plateau de réactifs, puis les placer sur l'appareil.
3. Vérifier les solutions génériques et vider les déchets.
4. Charger les lames sur l'appareil.
5. Démarrer le cycle de coloration.
6. À la fin du cycle, retirer les lames de l'appareil.
7. Passer à la rubrique Procédures recommandées après traitement sur l'appareil.

### Procédures recommandées après traitement sur l'appareil

1. Laver les lames avec du liquide vaisselle doux pour éliminer la solution Liquid Coverslip (LCS).
2. Bien rincer les lames avec de l'eau distillée pour éliminer tout le liquide vaisselle.
3. Déshydrater, clarifier puis apposer une lamelle couvre-objet avec du milieu de montage permanent.

## PROCEDURE DE CONTROLE QUALITE

### Tissu de contrôle positif

Un tissu de contrôle positif doit être inclus à chaque procédure de coloration exécutée. Il est considéré comme bonne pratique de laboratoire d'inclure une coupe de contrôle positif sur la même lame que le tissu du patient. Cette pratique permet de détecter une mauvaise application de l'anticorps primaire ou d'un autre réactif important sur la lame avec le tissu du patient. Un tissu qui présente une coloration faiblement positive est le plus approprié pour un contrôle qualité optimal. Les composants tissulaires positifs à la coloration permettent de confirmer que l'anticorps a bien été appliqué et que l'appareil fonctionne correctement. Ce tissu peut comprendre à la fois des cellules ou des composants tissulaires positifs et des cellules ou des composants tissulaires négatifs à la coloration et peut servir à la fois de tissu de contrôle positif et négatif. Les tissus de contrôle doivent être des échantillons fraîchement prélevés lors d'une autopsie, d'une biopsie ou d'une intervention chirurgicale et préparés ou fixés dès que possible après le prélèvement et de manière identique aux coupes à tester. Ces tissus peuvent servir de contrôle à toutes les étapes de la procédure, de la préparation à la coloration des tissus. L'utilisation d'une coupe de tissu fixé et préparé d'une autre manière que l'échantillon à tester servira de contrôle pour tous les réactifs et toutes les étapes de la méthode, sauf la fixation et la préparation du tissu.

Des tissus de contrôle positif connus doivent être utilisés uniquement pour vérifier les performances des tissus traités et des réactifs du test, et non comme une aide à la formulation d'un diagnostic spécifique sur les échantillons des patients. Si les tissus de contrôle positif ne présentent pas de coloration positive, les résultats obtenus avec les échantillons testés doivent être considérés comme non valides.

### Tissu de contrôle négatif

Le tissu utilisé comme tissu de contrôle positif peut aussi être utilisé comme tissu de contrôle négatif. Les divers types cellulaires présents dans la plupart des coupes de tissu peuvent constituer des sites de contrôle négatif interne, mais cela doit être vérifié par l'utilisateur. Les éléments qui ne devraient pas être colorés ne doivent présenter aucune coloration spécifique et donnent une indication du bruit de fond de coloration. Si les sites de contrôle négatif du tissu de contrôle présentent une coloration spécifique, les résultats des échantillons des patients doivent être considérés comme non valides.

### Écarts inexplicables

Signaler immédiatement à un représentant du service client local les écarts inexplicables observés avec les contrôles. Si les résultats des contrôles qualité ne sont pas conformes aux spécifications, les résultats des patients sont non valides. Voir la rubrique Résolution des problèmes de cette fiche technique. Identifier et corriger le problème, puis répéter la coloration des échantillons des patients.

### Réactif de contrôle négatif

Une lame doit être colorée avec un réactif de contrôle négatif approprié pour chaque échantillon afin de faciliter l'interprétation des résultats. Un réactif de contrôle négatif est utilisé à la place de l'anticorps primaire afin d'évaluer la coloration non spécifique. La lame doit être colorée avec le Negative Control Mouse ou le Negative Control Rabbit, selon le cas. Il est possible d'utiliser le diluant seul en remplacement des réactifs de contrôle négatif décrits précédemment. La durée d'incubation du réactif de contrôle négatif doit être identique à celle de l'anticorps primaire.

Lorsque des panels de plusieurs anticorps sont utilisés sur des coupes sériées, un réactif de contrôle négatif appliqué sur une des lames peut servir de contrôle de bruit de fond de liaison non spécifique ou négatif pour les autres anticorps.

### Vérification du test

Avant la première utilisation d'un anticorps primaire ou d'un système de coloration dans une procédure diagnostique, la spécificité de l'anticorps primaire doit être vérifiée en le testant sur une série de tissus aux caractéristiques de performances immunohistochimiques connues représentant des tissus positifs et négatifs connus (consulter la rubrique Tissu de contrôle positif de la fiche technique de l'anticorps primaire et les recommandations pour les contrôles qualité de la College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist,<sup>5</sup> ou des directives CLSI Approved Guideline<sup>6</sup> ou de ces deux documents). Ces procédures de contrôle qualité doivent être répétées pour chaque nouveau lot d'anticorps ou chaque fois qu'un paramètre du test est modifié. Les tissus indiqués dans la rubrique « Caractéristiques de performances » de l'anticorps primaire sont appropriés pour la vérification du test.

### Interprétation des résultats

L'OptiView DAB IHC Detection Kit provoque la précipitation d'un produit de réaction de couleur brune ou rouge sur les sites antigéniques localisés par l'anticorps primaire. Un anatomopathologiste qualifié, expert en procédures immunohistochimiques, doit évaluer les contrôles ainsi que la qualité de la coloration avant d'interpréter les résultats. La coloration des contrôles négatifs doit être évaluée en premier, et ces résultats doivent être comparés aux tissus colorés pour vérifier que le signal généré n'est pas dû à des interactions non spécifiques.

### Tissu de contrôle positif

La coloration du tissu de contrôle positif doit être examinée en premier pour s'assurer que tous les réactifs fonctionnent correctement. La présence d'un produit de réaction convenablement coloré dans les cellules cibles indique une réactivité positive. En fonction de la durée d'incubation et de la concentration de l'hématoxyline utilisée, la contre-coloration génère une coloration bleu pâle à bleu foncé du noyau des cellules. Une contre-coloration excessive ou incomplète peut compromettre l'interprétation correcte des résultats.

Si le tissu de contrôle positif ne présente pas de coloration positive, les résultats obtenus avec les échantillons testés doivent alors être considérés comme non valides.

### Tissu de contrôle négatif

Le tissu de contrôle négatif doit être examiné après le tissu de contrôle positif pour vérifier le marquage spécifique de l'antigène cible par l'anticorps primaire. L'absence de coloration spécifique dans le tissu de contrôle négatif confirme l'absence de réaction croisée de l'anticorps avec des cellules ou des éléments cellulaires. Si le tissu de contrôle négatif présente une coloration spécifique, les résultats de l'échantillon du patient doivent être considérés comme non valides.

Une coloration non spécifique, si elle est présente, aura un aspect diffus. Une légère coloration sporadique du tissu conjonctif peut aussi être observée dans les coupes de tissus dont la fixation au formol a été trop longue. Utiliser des cellules intactes pour l'interprétation des résultats de coloration. Les cellules dégénérées ou nécrotiques se colorent souvent de manière non spécifique.

### Tissu des patients

Les échantillons des patients doivent être examinés en dernier. L'intensité de la coloration positive doit être évaluée par rapport à l'éventuelle coloration de fond non spécifique du réactif de contrôle négatif. Comme pour tout test d'immunohistochimie, un résultat négatif indique uniquement que l'antigène en question n'a pas été détecté, pas qu'il est absent des cellules ou du tissu analysés. Si besoin, utiliser un panel d'anticorps pour faciliter l'identification des faux négatifs. Lors de l'interprétation de tout résultat d'immunohistochimie, la morphologie de chaque échantillon de tissu doit également être examinée à l'aide d'une lame colorée à l'hématoxyline et à l'éosine. Les caractéristiques morphologiques et les données cliniques pertinentes du patient doivent être interprétées par un anatomopathologiste qualifié.

## LIMITES

### Limites générales

1. L'IHC est une procédure de diagnostic à plusieurs étapes nécessitant une formation spécialisée pour le choix des réactifs appropriés, la sélection, la fixation et la préparation des tissus, la préparation des lames d'immunohistochimie et l'interprétation des résultats de la coloration.
2. La coloration des tissus dépend de la manipulation et du traitement du tissu avant la coloration. Une réalisation incorrecte des étapes de fixation, congélation, décongélation, rinçage, séchage, chauffage, coupe, ou une contamination par d'autres tissus ou liquides, peut entraîner des artefacts, un piégeage des anticorps ou l'obtention de faux négatifs. Des résultats incohérents peuvent être la conséquence de variations dans les méthodes de fixation et d'inclusion ou d'irrégularités inhérentes au tissu.
3. Une contre-coloration excessive ou incomplète peut compromettre l'interprétation correcte des résultats.
4. L'interprétation clinique de toute coloration positive, ou de son absence, doit être évaluée dans le contexte des antécédents cliniques, de la morphologie et d'autres critères histopathologiques. L'interprétation clinique de toute coloration, ou de son absence, doit être complétée par des examens morphologiques et des contrôles appropriés, ainsi que par d'autres tests diagnostiques. Il est de la responsabilité d'un anatomopathologiste qualifié de se familiariser avec les anticorps, les réactifs et les méthodes utilisés pour interpréter la préparation colorée. La coloration doit être réalisée dans un laboratoire autorisé et accrédité, sous le contrôle d'un anatomopathologiste responsable de l'examen des lames colorées et de l'adéquation des contrôles positif et négatif.
5. Les anticorps et les réactifs VENTANA sont fournis à la dilution optimale pour une utilisation conforme aux instructions fournies. Tout écart par rapport aux procédures de test recommandées peut invalider les résultats attendus. Des contrôles appropriés doivent être utilisés et documentés. Les utilisateurs qui s'écartent des procédures de test recommandées doivent assumer la responsabilité de l'interprétation des résultats des patients.
6. Les réactifs peuvent produire des réactions inattendues sur des tissus qui n'ont pas été testés auparavant. La possibilité d'obtenir des réactions inattendues, même sur des groupes de tissus déjà testés, ne peut pas être complètement exclue en raison de la variabilité biologique de l'expression de l'antigène dans les néoplasmes ou d'autres tissus pathologiques.<sup>7,8</sup> Contacter le représentant du service client local avec les réactions inattendues documentées.
7. Les tissus de personnes infectées par le virus de l'hépatite B et contenant l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (HBsAg) peuvent développer une coloration non spécifique avec la peroxydase de raifort.<sup>9</sup>
8. Lorsqu'ils sont utilisés dans les étapes de blocage, les sérums normaux de la même source animale que les antisérums secondaires peuvent causer des résultats faussement négatifs ou positifs à cause d'autoanticorps ou d'anticorps naturels.
9. Comme pour tout test d'immunohistochimie, un résultat négatif indique uniquement que l'antigène en question n'a pas été détecté, pas qu'il est absent des cellules ou du tissu analysés.

### Limites spécifiques

1. Chaque étape de la procédure du kit de détection a été optimisée sur les appareils BenchMark IHC/ISH et est préajustée. En raison d'une certaine variabilité de la fixation et de la préparation des tissus, il peut s'avérer nécessaire d'augmenter ou de diminuer la durée d'incubation de l'anticorps primaire pour des échantillons particuliers. La durée d'incubation de l'anticorps primaire dépend du degré de fixation du tissu et peut varier de 4 à 120 minutes. Pour de plus amples informations sur les variables de fixation, consulter « Immunohistochemistry Principles and Advances »<sup>10</sup> ou « Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist ».<sup>11</sup>
2. Le kit de détection, utilisé en association avec les anticorps primaires et les accessoires VENTANA, détecte l'antigène qui résiste aux conditions habituelles de traitement et de coupe des tissus.
3. Ce kit de détection a été optimisé pour une utilisation avec la solution de lavage Reaction Buffer, les anticorps primaires, les accessoires et les appareils BenchMark IHC/ISH. Il est important d'utiliser la solution de lavage Reaction Buffer pour le bon fonctionnement du kit de détection. Les utilisateurs qui s'écartent des procédures de test recommandées doivent assumer la responsabilité de l'interprétation des résultats des patients dans ces circonstances.
4. Ce kit de détection a été optimisé pour une utilisation avec le LCS (Predilute) ou l'ULTRA LCS (Predilute). Le LCS est une solution coverslip (LCS) prédiluée utilisée à la fois comme barrière entre les réactifs aqueux et l'air et comme réactif pour éliminer la paraffine des échantillons de tissus au cours du processus de déparaffinage. La barrière de LCS réduit l'évaporation et assure un environnement aqueux stable pour l'IHC ou pour les réactions d'hybridation in situ (ISH) exécutées sur les appareils BenchMark IHC/ISH.
5. Le recours à des durées d'incubation et à des températures autres que celles spécifiées peut conduire à des résultats erronés. L'utilisateur doit valider ce type de changement.
6. Tous les kits de détection ne sont pas forcément enregistrés sur chaque appareil. Un représentant du service client local pourra vous fournir plus d'informations.
7. Il est recommandé d'utiliser un fixateur avec Neutral Buffered Formalin (NBF) à 10 % avec le système de détection OptiView. L'utilisation du fixateur Modified Davidson peut produire des résultats de coloration inacceptables.

## CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

### PERFORMANCES ANALYTIQUES

Les performances de l'OptiView DAB IHC Detection Kit ont été évaluées au moyen d'études de reproductibilité et d'autres études pertinentes. Sauf mention contraire, toutes les colorations ont été réalisées sur des appareils BenchMark IHC/ISH selon le protocole indiqué dans la fiche technique de l'anticorps.

Les tests comprenaient :

#### Sensibilité et spécificité

Des tests de spécificité visant à démontrer la détection spécifique des anticorps primaires de souris et de lapin et l'obtention de niveaux acceptables de bruit de fond de coloration non spécifique afin d'assurer que l'interprétation des résultats positifs et négatifs n'est pas compromise.

Test de sensibilité pour démontrer la capacité à détecter des anticorps primaires liés à de faibles niveaux d'antigènes avec des profils de coloration appropriés.

#### Précision

- La précision intracycle et intercycles
- La précision intraplateforme et interplateformes

Dans tous les cas, les échantillons de tissus ont été évalués et jugés acceptables quant à l'adéquation et la qualité de la coloration pour la coloration morphologique des cellules. Tous les résultats des études étaient conformes aux critères d'acceptation.

### RESOLUTION DES PROBLEMES

1. Si le contrôle positif présente une coloration plus faible qu'attendue, vérifier les autres contrôles positifs colorés simultanément au cours du même cycle pour déterminer si cela est dû à l'anticorps primaire ou à l'un des réactifs secondaires communs.
2. Si le contrôle positif est négatif, vérifier que la lame porte la bonne étiquette code-barres. Si l'étiquette de la lame est correcte, vérifier les autres contrôles positifs colorés simultanément durant le même cycle pour déterminer si cela est dû à

l'anticorps primaire ou à l'un des réactifs secondaires communs. Les tissus n'ont peut-être pas été correctement prélevés, fixés ou déparaffinés. Suivre les procédures appropriées de prélèvement, conservation et fixation.

3. L'élimination incomplète de la paraffine peut entraîner des artéfacts de coloration ou une absence de coloration.
  - Si toute la paraffine n'a pas été éliminée de la lame, le cycle de coloration doit être répété en utilisant l'option Déparaffinage prolongé, si elle est disponible.
  - Sinon, il est possible de réaliser un déparaffinage manuel hors de l'appareil. Si l'option manuelle est choisie, désélectionner le déparaffinage en ligne dans le protocole de coloration avant de charger les lames sur l'appareil. Prendre toutes les précautions nécessaires pour que les lames ne sèchent pas avant le cycle de coloration.
4. Si la coloration spécifique à l'aide de l'anticorps est trop intense, répéter le cycle en réduisant le temps d'incubation par incréments de 4 minutes jusqu'à ce que l'intensité souhaitée soit atteinte.
5. Si les coupes de tissus se détachent des lames, vérifier que les lames sont positivement chargées.
6. Pour les mesures correctives, consultez la rubrique Procédure, le guide d'utilisation de l'appareil ou contactez votre représentant du service client local.
7. Si le distributeur de réactif ne délivre pas de liquide, inspecter la chambre d'amorçage ou le ménisque pour vérifier la présence éventuelle de corps étrangers ou de particules, comme des fibres ou des précipités. Si le distributeur est bloqué, cesser de l'utiliser et contacter un représentant du service client local. Sinon, réamorcer le distributeur en retirant le capuchon de l'embout et en appuyant sur la partie supérieure du distributeur en le pointant au-dessus d'un récipient à déchets. Consulter la fiche technique du distributeur en ligne associée au réf. 760-700 pour plus d'informations sur l'utilisation appropriée.
8. Une activité peroxydase endogène peut être présente si l'inhibiteur de peroxydase n'est pas sélectionné avant ou après l'anticorps primaire. Avec le réglage par défaut, il n'est pas appliqué. Si l'inhibiteur de peroxydase doit être appliqué, l'opérateur doit le sélectionner lors de l'établissement d'un protocole.
9. Une coloration indésirable des plasmocytes et des mastocytes peut être observée suite à la digestion protéasique. Le tissu de contrôle négatif doit être évalué pour déterminer le niveau de bruit de fond de coloration par rapport au résultat de coloration positif.<sup>8</sup>

**REFERENCES**

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.

**REMARQUE :** Un point est toujours utilisé dans ce document comme séparateur décimal et indique la séparation entre la partie entière et la partie décimale d'un nombre. Aucun séparateur de milliers n'est utilisé.

**Symboles**

Ventana utilise les symboles et les signes suivants en plus de ceux indiqués dans la norme ISO 15223-1 (pour les USA, voir [elabdoc.roche.com/symbols](http://elabdoc.roche.com/symbols) pour de plus amples informations).



Le Global Trade Item Number ou code article international

Rx only

Pour les USA : Attention : La loi fédérale stipule que ce produit peut uniquement être vendu par un médecin ou sur prescription médicale.

**HISTORIQUE DES REVISIONS**

Rév.	Mises à jour
F	Mises à jour des rubriques Avertissements et précautions d'emploi et mise à jour avec les modèles actuels.

**PROPRIETE INTELLECTUELLE**

VENTANA, BENCHMARK et OPTIVIEW sont des marques commerciales de Roche.

Tous les autres noms de produit et marques commerciales appartiennent à leurs propriétaires respectifs.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

**COORDONNEES**



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](http://www.roche.com)



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

