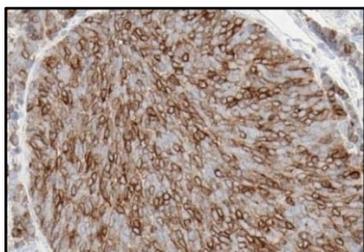


## VENTANA DLL3 (SP347) Assay

**REF** 790-7016

08416931001

**IVD**  50



**Figura 1. Expressão de VENTANA DLL3 (SP347) Assay no carcinoma do pulmão de pequenas células.**

### UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

VENTANA DLL3 (SP347) Assay (DLL3 (SP347) Assay) destina-se à utilização em laboratório na deteção da proteína Delta-like 3 (DLL3) em secções de tecido fixado em formol e impregnado em parafina (FFPE) corado em instrumentos BenchMark IHC/ISH utilizando OptiView DAB IHC Detection Kit.

Este produto deverá ser interpretado por um patologista qualificado, em conjunto com um exame histológico, a

informação clínica relevante e os controlos adequados.

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

### RESUMO E EXPLICAÇÃO

DLL3 (SP347) Assay utiliza um anticorpo monoclonal de coelho produzido contra a proteína DLL3. A coloração com DLL3 (SP347) Assay em células tumorais pode apresentar uma coloração citoplasmática e/ou membranar pontilhada e/ou difusa que pode ser parcial ou circunferencial.

A proteína Delta-like 3 (DLL3) é um dos vários ligandos transmembranares que estão envolvidos na regulação da via Notch. A via Notch é um importante mecanismo de controlo do destino celular que regula a diferenciação, a proliferação e a apoptose das células; estas vias celulares são de particular importância na biologia do desenvolvimento e na manutenção das células estaminais.<sup>1</sup> A desregulação desta via está associada a anomalias do desenvolvimento, com potencial para oncogénese numa variedade de tecidos.<sup>1</sup> Durante o desenvolvimento normal, a proteína DLL3 inibe a expressão da via de sinalização Notch, redireccionando a Notch clivada e a DLL1 para endossomas e/ou lisossomas ou para o Golgi, respetivamente. Este sequestro impede efetivamente a localização da proteína Notch intermédia ativada na superfície celular. Foi demonstrado que a sobre-expressão de Notch-1 inibe a apoptose em diferentes tipos de cancro;<sup>2</sup> consequentemente, a inibição da via de sinalização Notch é um potencial alvo terapêutico do cancro.<sup>2,3,4</sup>

### PRINCÍPIO DO PROCEDIMENTO

DLL3 (SP347) Assay utiliza um anticorpo monoclonal de coelho produzido contra a proteína DLL3 em secções de tecido impregnadas em parafina. O anticorpo específico pode ser visualizado utilizando OptiView DAB IHC Detection Kit (Ref. 760-700 / 06396500001). Consulte o folheto informativo de OptiView DAB IHC Detection Kit para obter mais informações.

Além da coloração com DLL3 (SP347) Assay, deve ser corada uma segunda lâmina com Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (Ref. 790-4795 / 06683380001).

### MATERIAIS FORNECIDOS

DLL3 (SP347) Assay contém reagente suficiente para 50 testes.

Um dispensador de 5 mL de anticorpo DLL3 (SP347) contém aproximadamente 5 µg de um anticorpo monoclonal de coelho.

O anticorpo é diluído em 0.05 M de solução salina tamponada Tris, 0.01 M de EDTA, 0.05% de Brij-35 com 0.3% de proteína transportadora e 0.05% de azida sódica, um conservante.

A concentração específica do anticorpo é de aproximadamente 1 µg/mL.

O anticorpo DLL3 (SP347) é um anticorpo monoclonal de coelho produzido como sobrenadante de uma cultura celular purificada.

Consulte a folha de métodos incluída na embalagem do kit de deteção VENTANA apropriado para uma descrição detalhada de: Princípio do procedimento, Material e métodos, Colheita das amostras e preparação para análise, Procedimentos de controlo de qualidade, Resolução de problemas, Interpretação dos resultados e Limitações.

### MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os reagentes de coloração, como os dos kits de deteção VENTANA e os componentes auxiliares, incluindo lâminas de controlo tecidual positivo e negativo, não são fornecidos. Os produtos indicados no folheto informativo podem não estar todos disponíveis em todas as regiões. Consulte o seu representante de assistência local.

Os seguintes reagentes e materiais podem ser necessários para a coloração, mas não são fornecidos:

1. Tecidos de controlo positivo e negativo recomendados
2. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (Ref. 790-4795 / 06683380001)
3. Lâminas de microscópio carregadas positivamente
4. Estufa de secagem capaz de manter uma temperatura de 60 °C ± 5 °C
5. Etiquetas de códigos de barras (apropriadas para o controlo de reagente negativo ou o anticorpo primário que está a ser testado)
6. Xileno (de grau histológico)
7. Etanol ou álcool reagente (de grau histológico)
  - Solução a 100%: etanol ou álcool reagente não diluído
  - Solução a 95%: misturar 95 partes de etanol ou de álcool reagente com 5 partes de água desionizada
  - Solução a 80%: misturar 80 partes de etanol ou de álcool reagente com 20 partes de água desionizada
8. Água desionizada ou destilada
9. OptiView DAB IHC Detection Kit (Ref. 760-700 / 06396500001)
10. EZ Prep Concentrate (10X) (Ref. 950-102 / 05279771001)
11. Reaction Buffer Concentrate (10X) (Ref. 950-300 / 05353955001)
12. ULTRA LCS (Predilute) (Ref. 650-210 / 05424534001)
13. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (Ref. 950-224 / 05424569001)
14. LCS (Predilute) (Ref. 650-010 / 05264839001)
15. Cell Conditioning Solution (CC1) (Ref. 950-124 / 05279801001)
16. Coloração de contraste Hematoxylin II (Ref. 790-2208 / 05277965001)
17. Bluing Reagent (Ref. 760-2037 / 05266769001)
18. Meio de montagem permanente (Permount Fisher Ref. SP15-500 ou equivalente)
19. Lamela de cobertura (suficiente para cobrir tecido, como VWR Ref. 48393-060)
20. Dispositivo de cobertura automático (como Tissue-Tek SCA Automated Coverslipper)
21. Microscópio ótico
22. Compressas absorventes

### CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Após a receção e quando não estiver a ser utilizado, conservar entre 2-8 °C. Não congelar.

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

Cada dispensador de anticorpos tem indicada a respetiva data de validade. Quando corretamente conservado, o reagente permanece estável até à data indicada na etiqueta. Não utilizar o reagente depois de ultrapassada a data de validade.

### PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os tecidos FFPE processados regularmente são adequados para utilização com este anticorpo primário quando utilizados com OptiView DAB Detection Kit e instrumentos BenchMark IHC/ISH. O fixador de tecido recomendado é o formol neutro tamponado a 10%.<sup>5</sup> Devem ser evitados fixadores com uma concentração elevada de álcool (por exemplo, etanol a 95%) ou fixadores à base de glioxal (por exemplo, fixador PREFER). Uma vez que a antigenicidade das secções de tecido cortado pode diminuir ao longo do tempo, as lâminas devem ser coradas imediatamente.

Recomenda-se que sejam executados controlos positivos e negativos em simultâneo com amostras desconhecidas.

## AVISOS E PRECAUÇÕES

- Para utilização em diagnóstico in vitro (IVD).
- Apenas para utilização profissional.
- ADVERTÊNCIA:** Nos Estados Unidos, a Lei Federal restringe a venda deste dispositivo a um médico ou mediante receita médica. (Rx Only)
- Não utilizar num número de testes superior ao especificado.
- A solução ProClin 300 é utilizada como conservante neste reagente. Está classificada como irritante e pode causar sensibilização através do contacto com a pele. Tome as precauções razoáveis ao manusear a mesma. Evite o contacto dos reagentes com os olhos, a pele e as membranas mucosas. Utilize luvas e vestuário de proteção.
- As lâminas carregadas positivamente podem ser suscetíveis a tensões ambientais, resultando na coloração inadequada de qualquer ensaio IHC (por exemplo, falta de anticorpo primário ou coloração de contraste no tecido). Solicite ao seu representante da Roche uma cópia do documento "Impacts of Environmental Stresses on IHC Positively Charged Slides" para compreender melhor como utilizar estes tipos de lâminas.
- Os materiais de origem humana ou animal devem ser manuseados como materiais que envolvem risco de contaminação e eliminados adotando as devidas precauções.
- Evite o contacto dos reagentes com os olhos e as membranas mucosas. Se os reagentes entrarem em contacto com áreas sensíveis, lave com água em abundância.
- Evite a contaminação microbiana dos reagentes, pois tal poderá dar origem a resultados incorretos.
- Para mais informações acerca da utilização deste dispositivo, consulte o Manual do utilizador do instrumento BenchMark IHC/ISH, bem como as instruções de utilização de todos os componentes necessários em [dialog.roche.com](http://dialog.roche.com).
- Consulte as autoridades locais e/ou estatais no que se refere ao método de eliminação recomendado.
- A etiquetagem de segurança do produto segue principalmente as diretrizes do GHS da UE. Ficha de dados de segurança disponível para utilizadores profissionais a pedido.
- Para reportar situações graves suspeitas relacionadas com este dispositivo, contacte o representante local da Roche e a autoridade competente do Estado-Membro ou do País onde o utilizador está estabelecido.

Este produto contém componentes classificados da seguinte forma, nos termos do disposto no Regulamento (CE) N.º 1272/2008:

**Tabela 1.** Informações sobre os perigos.

Perigo	Código	Advertência
	H317	Pode provocar uma reação alérgica cutânea.
	H412	Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.
	P261	Evitar respirar névoas ou vapores.
	P273	Evitar a libertação para o ambiente.
	P280	Usar luvas de proteção.
	P333 + P313	Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.
	P362 + P364	Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.
	P501	Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de tratamento de resíduos apropriado.

Este produto contém CAS # 55965-84-9, uma massa de reação de: 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1).

## PROCEDIMENTO DE COLORAÇÃO

Os anticorpos primários VENTANA foram desenvolvidos para utilização em instrumentos BenchMark IHC/ISH em combinação com kits de deteção IHC e acessórios OptiView DAB. Consulte a Tabela 2 para obter mais informações sobre os protocolos de coloração recomendados.

Este anticorpo foi otimizado para tempos de incubação específicos, mas o utilizador terá de validar os resultados obtidos com este reagente.

Os parâmetros para os procedimentos automáticos podem ser apresentados, impressos e editados de acordo com o procedimento contido no Manual do Operador do instrumento. Consulte o folheto informativo do kit de deteção VENTANA apropriado para obter mais detalhes relativamente aos procedimentos de coloração de imuno-histoquímica.

**Tabela 2.** Protocolo de coloração recomendado para DLL3 (SP347) Assay com OptiView DAB IHC Detection Kit num instrumento BenchMark XT, num instrumento BenchMark GX e num instrumento BenchMark ULTRA.

Tipo de procedimento	Método
<b>Cozedura</b>	Opcional
<b>Desparafinação</b>	Selecionado
<b>Condicionamento celular (revelação de antigénio)</b>	Instrumento BenchMark GX CC1, 88 minutos Instrumento BenchMark XT CC1, 88 minutos Instrumento BenchMark ULTRA ULTRA CC1, 80 minutos, 100 °C
<b>Anticorpo (primário) Ou Rabbit Monoclonal Negative Control Ig</b>	Instrumento BenchMark GX 48 minutos, 37 °C Instrumento BenchMark XT 32 minutos, 37 °C Instrumento BenchMark ULTRA 32 minutos, 36 °C
<b>Inibidor de peroxidase pré-primário</b>	Selecionado
<b>Coloração de contraste</b>	Hematoxylin II, 4 minutos
<b>Pós-contraste</b>	Bluing, 4 minutos

Devido à variação na fixação e no processamento de tecidos, bem como nos instrumentos laboratoriais gerais e nas condições ambientais, poderá ser necessário aumentar ou diminuir a incubação do anticorpo primário, o condicionamento celular ou o pré-tratamento com protease com base nas amostras individuais, na deteção utilizada e na preferência do leitor. Para mais informações sobre as variáveis da fixação, consulte "Immunohistochemistry Principles and Advances".<sup>6</sup>

## CONTROLO TECIDULAR POSITIVO E NEGATIVO

Um exemplo de um controlo tecidular positivo é o tecido de carcinoma do pulmão de células pequenas. Quando está presente coloração, as células tumorais apresentam uma coloração da DLL3 citoplasmática e/ou membranas pontilhada e/ou difusa que pode ser parcial ou circunferencial. Pode ser utilizado tecido de pulmão normal como controlo tecidular negativo, uma vez que não apresenta qualquer coloração da DLL3. O pigmento e o sangue podem corar positivamente para DLL3 e podem mesmo ser encontrados nos macrófagos alveolares, podendo por isso parecer que coram positivamente. Isto não deve ser considerado coloração de fundo ou inaceitável.

## INTERPRETAÇÃO DA COLORAÇÃO / RESULTADOS PREVISTOS

O procedimento automatizado de imunocoloração VENTANA provoca a precipitação de um produto de reação de cor castanha (DAB) nos locais do antigénio identificados por DLL3 (SP347) Assay.

O padrão de coloração celular de DLL3 (SP347) Assay é uma coloração citoplasmática e/ou membranas pontilhada e/ou difusa que pode ser parcial ou circunferencial.

## LIMITAÇÕES ESPECÍFICAS

- As amostras histológicas devem ser fixadas no prazo de 24 horas após a colheita com formol neutro tamponado a 10% durante 6-72 horas.
- As secções de tecido com aproximadamente 4-6 µm de espessura devem ser cortadas e montadas em lâminas carregadas positivamente.
- A imuno-histoquímica é um processo de diagnóstico em várias etapas que exige uma formação especializada na seleção dos reagentes apropriados, na seleção dos tecidos, fixação, processamento, preparação da lâmina de imuno-histoquímica e interpretação dos resultados da coloração.

4. A coloração do tecido depende do manuseamento e do processamento do tecido antes da coloração. Uma incorreta fixação, congelamento, descongelamento, lavagem, secagem, aquecimento, seccionamento ou contaminação com outros tecidos ou fluidos pode produzir artefactos, aprisionamento de anticorpos ou resultados falsos negativos. Os resultados inconsistentes podem ser resultantes de variações nos métodos de fixação e impregnação ou de irregularidades inerentes no tecido.

#### CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Foram realizados testes de coloração para especificidade, sensibilidade e repetibilidade e os resultados estão listados na Tabela 3 e na Tabela 4, bem como na secção Repetibilidade.

#### Especificidade

**Tabela 3.** A especificidade de DLL3 (SP347) Assay foi determinada testando tecidos normais fixados em formol e impregnados em parafina.

Tecido	N.º de casos positivos/totais	Tecido	N.º de casos positivos/totais
Cérebro hemisférico	1/9	Estômago	1/5
Cerebelo	0/6	Intestino delgado	0/6
Glândula suprarrenal	5/6	Cólon	0/6
Ovário	0/6	Fígado	4/5
Pâncreas	3/5	Língua (tecido de glândula salivar)	0/6
Gânglio linfático	0/2	Rim	0/6
Hipófise	6/6	Próstata	0/6
Testículo	1/6	Útero	0/2
Glândula tiroide	1/6	Colo do útero	0/1
Glândula tímica	0/6	Tecido de músculo esquelético	0/3
Mama	0/4	Pele	0/1
Baço	0/6	Tecido de nervo periférico	0/2
Amígdala	0/6	Tecido de mesotélio pleural	0/3
Medula óssea	0/4	Olhos	1/3
Pulmão	0/5	Laringe	2/3
Coração	0/6	Glândula paratiroide	0/3
Esófago	0/6	Bexiga	0/3

#### Sensibilidade

**Tabela 4.** A sensibilidade de DLL3 (SP347) Assay foi determinada testando vários tecidos neoplásicos fixados em formol e impregnados em parafina.

Patologia	N.º de casos positivos/totais
Cérebro hemisférico – glioblastoma	1/1
Cérebro hemisférico – meningioma atípico	0/1
Cérebro hemisférico – ependimoma maligno	1/1
Cérebro hemisférico – oligodendroglioma	1/1

Patologia	N.º de casos positivos/totais
Adenocarcinoma seroso do ovário	0/1
Adenocarcinoma do ovário	0/1
Pâncreas – tumor de células dos ilhéus	1/1
Adenocarcinoma do pâncreas	0/1
Testículo – seminoma	1/1
Testículo – carcinoma embrionário	1/1
Tiroide – carcinoma medular	1/1
Tiroide – carcinoma papilar	0/1
Mama – carcinoma intraductal	0/1
Mama – carcinoma ductal invasivo	0/2
Baço – linfoma difuso de células B	0/1
Pulmão – carcinoma de pequenas células	1/1
Pulmão – carcinoma de células escamosas	0/1
Pulmão – adenocarcinoma	0/1
Esófago – carcinoma de células escamosas	0/1
Esófago – adenocarcinoma	0/1
Estômago – adenocarcinoma mucinoso	0/1
Adenocarcinoma do intestino delgado	0/1
Intersticialoma maligno do intestino delgado	1/1
Cólon – adenocarcinoma	0/1
Cólon – intersticialoma	0/1
Reto – adenocarcinoma	0/1
Reto – intersticialoma maligno moderado	1/1
Fígado – carcinoma hepatocelular	1/1
Fígado – hepatoblastoma	0/1
Rim – carcinoma de células claras	0/1
Próstata – adenocarcinoma	0/2
Útero – adenocarcinoma	0/1
Útero – carcinoma de células claras	0/1
Colo do útero – carcinoma de células escamosas	1/2
Músculo estriado – rabdomiossarcoma embrionário	0/1
Reto – melanoma maligno	1/1
Pele – carcinoma basocelular	0/1
Retroperitoneu – neuroblastoma	0/1
Peritoneu – mesotelioma maligno	0/1
Gânglio linfático – linfoma difuso de células B	1/2
Gânglio linfático – linfoma de Hodgkin	1/1

Patologia	N.º de casos positivos/totais
Bexiga – carcinoma urotelial	0/1
Bexiga – leiomiossarcoma maligno	0/1
Músculo liso – leiomiossarcoma	0/1

**INFORMAÇÕES DE CONTACTO**


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

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


**Repetibilidade**

Os estudos de repetibilidade de DLL3 (SP347) Assay foram realizados para demonstrar:

- Reprodutibilidade interlote do anticorpo.
- Reprodutibilidade intraensaio e interensaio num instrumento BenchMark GX.
- Reprodutibilidade intraensaio e interensaio num instrumento BenchMark XT.
- Reprodutibilidade intraensaio e interensaio num instrumento BenchMark ULTRA.
- Reprodutibilidade interplataformas entre o instrumento BenchMark GX, o instrumento BenchMark XT e o instrumento BenchMark ULTRA.

Todos os estudos cumpriram os respetivos critérios de aceitação.

**REFERÊNCIAS**

1. Rizzo P, Osipo C, Foreman K, et al. Rational targeting of Notch signaling in cancer. *Oncogene*. 2008;27(38):5124-5131.
2. Ji X, Wang Z, Geamanu A, et al. Inhibition of cell growth and induction of apoptosis in non-small cell lung cancer cells by delta-tocotrienol is associated with notch-1 down regulation. *J Cell Biochem*. 2011;112(10):2773-2783.
3. Mullendore ME, Koorstra JB, Li YM, et al. Ligand-dependent Notch signaling is involved in tumor initiation and tumor maintenance in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*. 2009;15(7):2291-2301.
4. Takebe, N, Nguyen D, Yang SX. Targeting notch signaling pathway in cancer: clinical development advances and challenges. *Pharmacol Ther*. 2014;141(2):140-149.
5. Carson F, Hladik C. *Histotechnology: A Self Instructional Text*, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
6. Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances*. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.

**NOTA:** neste documento, é sempre utilizado o ponto como separador decimal para marcar o limite entre a parte inteira e as partes fracionais de um número decimal. Não são utilizados separadores de milhares.

**Símbolos**

Ventana utiliza os seguintes símbolos e sinais, além dos listados na norma ISO 15223-1 (para os EUA: consultar [dialog.roche.com](http://dialog.roche.com) para a definição dos símbolos utilizados):



Número Global de Item Comercial



Identificação única de dispositivo



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

**HISTÓRICO DE REVISÕES**

Rev	Atualizações
C	Foram realizadas atualizações nas secções Materiais fornecidos, Materiais necessários, mas não fornecidos, Avisos e precauções, Símbolos e Propriedade intelectual

**PROPRIEDADE INTELECTUAL**

VENTANA, BENCHMARK, OPTIVIEW e o logótipo VENTANA são marcas comerciais da Roche.

Todas as restantes marcas comerciais são propriedade dos respetivos titulares.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.