

VENTANA Magenta ISH DIG Detection Kit

REF

760-514

08507201001

IVD
 60

TILSIGTET ANVENDELSE

VENTANA Magenta ISH DIG Detection Kit er et indirekte detektionssystem til detektion af DIG-mærkede mål. Kittet er beregnet til identifikation af mål ved hjælp af kromogen magenta in situ-hybridisering (ISH) i snit af formalinfikseret og paraffinindstøbt væv, der er farvet på et BenchMark IHC/ISH-instrument.

Farvningsresultaterne skal fortolkes af en kvalificeret patolog og sammenholdes med histologisk undersøgelse, relevante kliniske oplysninger og egnede kontroller.

Reagenset er beregnet til in vitro-diagnostisk (IVD) brug.

RESUMÉ OG FORKLARING

Generelt anvender ISH mærkede sonder til at påvise specifikke DNA- eller RNA-målssekvenser i formalinfikserede vævssnit. Målnukleinsyresekvenser eksponeres via varmedrevet denaturering af nukleinsyrer. Derefter afkøles reaktionen, hvilket medfører, at de mærkede nukleinsyreprober hybridiserer til deres tilhørende nukleinsyresekvenser.

Den indirekte teknik, der anvendes af dette kit, benytter et antistof, som er direkte rettet mod en haptenmærket probe, et HRP-baseret tyramidamplifikationstrin og et HRP-medieret substrat-kromogen-system (se figur 1).

PROCEDURENS PRINCIP

Efter probehybridisering og stringensvask detekteres målbundet digoxigenin-(DIG)-mærket probe med HRP-mærket anti-DIG-antistof. Signalamplifikation opnås gennem HRP-katalyseret oxidering af tyramidkædet DIG med H_2O_2 . Den reaktive, oxiderede form af tyramid er kovalentbundet til tyrosinaflejringer, hvilket øger den lokale koncentration af DIG-hapten. Dette yderligere bundne DIG detekteres gennem en ekstra anvendelse af det HRP-mærkede anti-DIG-antistof. Til sidst visualiseres signalet gennem en anden tyramidreaktion, som involverer tyramidkædet sulforhodamin B-magentafarvestof.

Farvningsprotokollen består af adskillige trin, hvor reagenser inkuberes i forudbestemte tidsrum ved specifikke temperaturer. Ved afslutningen af hvert inkubationstrin vasker BenchMark-instrumentet snittene for at fjerne ubundet materiale og anvender et flydende dækglas for at minimere fordampningen af de vandige reagenser fra objektglasset. Resultaterne fortolkes ved hjælp af et lysmikroskop og bruges som hjælp ved differentieret diagnosticering af patofysiologiske processer, som måske er eller ikke er forbundet med positiv farvning for proben.

Du kan få yderligere oplysninger om brug af instrumentet i den tilhørende brugervejledning.

MATERIALE OG METODER

Leveret materiale

VENTANA Magenta ISH DIG Detection Kit (VENTANA DIG Detection Kit) indeholder tilstrækkeligt reagens til 60 tests.

En 24 mL-dispenser	VENTANA Magenta ISH DIG HRP indeholder et HRP-mærket anti-DIG-monoklonalt museantistof (~1.0 µg/mL) i en MOPS-bufferproteinopløsning med ProClin-konservingsmiddel.
En 12 mL-dispenser	VENTANA Magenta ISH DIG Tyramide Amplifier indeholder DIG-mærket tyramid (~4.01 µg/mL) i en vandig buffer med ProClin-konservingsmiddel (~10 % C_2H_6OS).
En 12 mL-dispenser	VENTANA Magenta ISH DIG Tyramide SRB Chromogen indeholder SRB-mærket tyramid (~295 µg/mL) i en vandig buffer med ProClin-konservingsmiddel (~20 % C_2H_6OS).

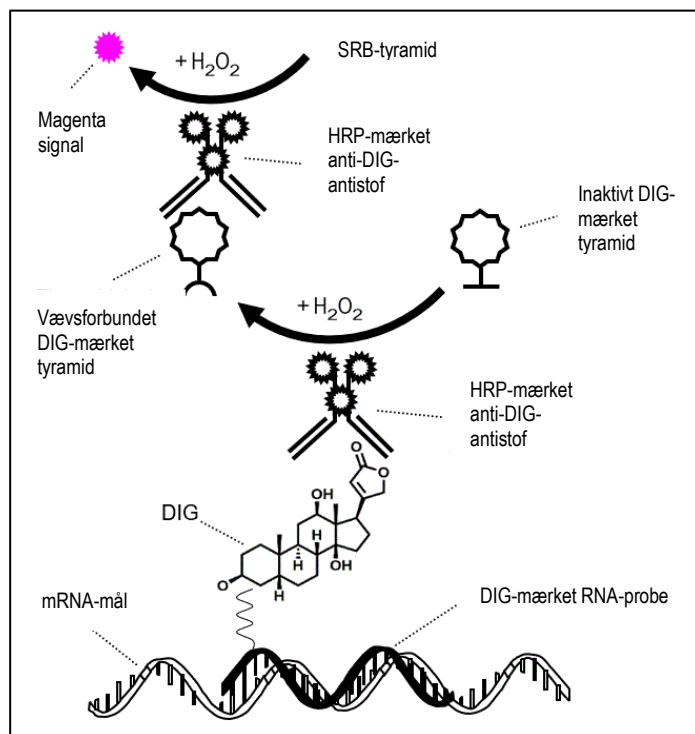


Fig. 1. VENTANA Magenta ISH DIG Detection Kit

Rekonstitution, blanding, fortynding og titrering

Detektionskittet er optimeret til brug på BenchMark IHC/ISH-instrumenter. Ingen rekonstitution, blanding, fortynding eller titrering af kitreagenser er nødvendig. Yderligere fortynding kan resultere i nedsat farvningskvalitet.

Nødvendige materialer, som ikke medfølger

Farvereagenser, såsom probe- og hjælpekomponenter, medfølger ikke. Det er ikke alle produkter, der er nævnt i metodearket, som kan fås i alle geografiske områder. Indhent oplysninger hos den lokale supportrepræsentant.

Nedenstående reagenser og materialer kan være påkrævet ved farvning, men medfølger ikke:

- ISH DIG-mærket probe
- VENTANA Silver ISH BF Detection Kit (kat.nr. 760-513 / 08507031001)
- ISH TSA Ancillary Kit (kat.nr. 760-515 / 08507082001)
- ISH Peroxidase Inhibitor (kat.nr. 780-5061 / 07729014001)
- HybReady Solution (kat.nr. 780-4409 / 05917557001)
- ISH Protease 3 (kat.nr. 780-4149 / 05273331001)
- Hematoxylin II (kat.nr. 790-2208 / 05277965001)
- Bleuing Reagent (kat.nr. 760-2037 / 05266769001)
- Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat.nr. 950-300 / 05353955001)
- SSC (10X) (kat.nr. 950-110 / 05353947001)
- EZ Prep Concentrate (10X) (kat.nr. 950-102 / 05279771001)
- ULTRA CC1 (kat.nr. 950-224 / 05424569001)
- ULTRA CC2 (kat.nr. 950-223 / 05424542001)
- ULTRA LCS (kat.nr. 650-210 / 05424534001)
- ultraView Silver Wash II (kat.nr. 780-003 / 05446724001)
- Mikroskopobjektglas, Superfrost™ Plus
- BenchMark IHC/ISH-instrument
- Generelt laboratorieudstyr

Opbevaring og stabilitet

Opbevares ved 2–8 °C efter modtagelsen, og når de ikke anvendes. Må ikke nedfryses. Dette kit kan anvendes umiddelbart efter udtagning fra køleskab.

For at sikre korrekt reagenstillførsel og stabilitet af kitkomponenterne skal kapslerne sættes på dispenserne igen efter hver brug, og dispenserne skal omgående anbringes i køleskab i opret position.

Alle kits er mærket med udløbsdato. Ved korrekt opbevaring er reagenset stabilt indtil den dato, der er angivet på etiketten. Brug ikke reagenset efter udløbsdatoen.

Prøvetagning og forberedelse til analyse

Rutinemæssigt behandlede formalinfikserede og paraffinindstøbte væv er egnede til brug med VENTANA DIG Detection Kit. Det anbefalede vævsfiksativ er 10 % neutral buffer-formalin (NBF) i 6 til 72 timer¹.

Prøver skal skæres i snit på 4 µm og placeres på positivt ladede mikroskopobjektglas (Superfrost™ Plus). Objektglas skal tømmes eller tørre for at fjerne overskydende vand mellem objektglas og væv inden BenchMark IHC/ISH-instrumentfarvning. Varierende resultater kan forekomme som resultat af vævsnitstykkelser, fikseringstype, ufuldstændiglangvarig fiksering eller specielle processer, f.eks. dekalifikation af knoglemarvspræparater.

Positivt ladede objektglas kan være følsomme over for miljømæssige belastninger, hvilket kan medføre fejlbehæftet farvning af ISH-analyser (for eksempel manglende farvning eller kontrastfarve på vævet). Bed den lokale Roche-repræsentant om en kopi af »Impact of environmental stress on various histology slide types« med henblik på at få en bedre forståelse for, hvordan denne type objektglas skal anvendes.

Det anbefales, at eventuelle kontrolobjektglas køres samtidig med ukendte præparater. Bemærk, at magentasignalet langsomt vil blive udtonet over tid ved lang eksponering for lys. Dette bør ikke påvirke normal klinisk praksis, men objektglas skal opbevares væk fra direkte lys, når de ikke er i brug.

ADVARSLER OG FORSIGTIGHEDSREGLER

1. Til in vitro-diagnostik (IVD) brug.
2. Kun til faglig anvendelse.
3. **FORSIGTIG:** Ifølge amerikansk føderal lovgivning må dette udstyr kun sælges til en læge eller efter lægeordination (Rx Only).
4. Brug ikke efter det angivne antal tests.
5. ProClin 300 er brugt som konserveringsmiddel i denne opløsning. Det er klassificeret som lokalirriterende og kan forårsage overfølsomhed ved hudkontakt. Der skal tages rimelige forholdsregler ved håndtering. Undgå, at reagenser kommer i berøring med øjne, hud og slimhinder. Bær beskyttelsestøj og handsker.
6. Materialer af human eller animalsk oprindelse skal håndteres som potentielt biologisk farligt materiale og bortskaffes i henhold til gældende forholdsregler. I tilfælde af eksponering skal de ansvarlige myndigheders sundhedsdirektiver følges^{2,3}.
7. Der skal tages rimelige forholdsregler ved håndtering af reagenser. Undgå, at reagenser kommer i berøring med øjne, hud og slimhinder. Brug engangshandsker og brug passende beskyttelsestøj, når du håndterer mistænkt kræftfremkaldende stoffer eller toksiske materialer.
8. Vask med rigelige mængder vand, hvis reagenserne kommer i kontakt med følsomme områder. Undgå indånding af reagenser.
9. Sørg for, at affaldsbeholderen er tom, før du starter en kørsel på instrumentet. Hvis denne forholdsregel ikke træffes, kan affaldsbeholderen blive overfyldt, så brugeren risikerer at glide og falde.
10. Undgå mikrobiel kontamination af reagenserne da dette kan fremkalde fejlbehæftede resultater.
11. For yderligere information om brugen af denne enhed henvises til BenchMark IHC/ISH-instrumentets brugervejledning og metodearkene til alle nødvendige komponenter, som findes på dialog.roche.com.
12. Indhent oplysninger hos lokale og/eller statslige myndigheder for at fastslå den anbefalede metode til bortskaffelse.
13. Mærkning af produktsikkerhed følger primært EU's GHS-vejledning. Sikkerhedsdatablade er tilgængelige efter anmodning for faglige brugere.
14. For at rapportere mistanke om alvorlige hændelser i forbindelse med denne enhed, skal du kontakte den lokale Roche-repræsentant og den kompetente myndighed i den medlemsstat eller det land, hvor brugeren har etableret sig.

Dette detektionskit indeholder komponenter klassificeret som følger i henhold til Forordning (EU) nr. 1272/2008:

Tab. 1. Fareoplysninger.

Fare	Kode	Sætning
	H317	Kan forårsage allergisk hudreaktion.
	P261	Undgå at indånde tåge eller dampe.
	P272	Tilsmudset arbejdstøj bør ikke fjernes fra arbejdspladsen.
	P280	Bær beskyttelseshandsker.
	P333 + P313	Ved hudirritation eller udslet: Søg lægehjælp.
	P362 + P364	Alt tilsmudset tøj tages af og vaskes inden genanvendelse.
	P501	Indholdet/beholderen bortskaffes i et godkendt affaldsbehandlingsanlæg.

Indeholder en blanding af: 5-chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-on og 2-methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1). Kan forårsage allergisk reaktion.

FARVNINGSPROCEDURE

VENTANA DIG Detection Kit er udviklet til brug på BenchMark IHC/ISH-instrumenter i kombination med VENTANA-hjælpereagenser. Farvningsprotokollerne kan vises, udskrives og redigeres i henhold til den procedure, der er beskrevet i instrumentets brugervejledning. Andre driftsparametre for instrumentet er forudindstillet fra fabrikken. Procedurene for farvning på BenchMark IHC/ISH-instrumenter er som følger. Du kan se en mere detaljeret vejledning og yderligere protokolindstillinger i metodearket til den pågældende probe eller brugervejledningen.

BenchMark IHC/ISH-instrumenter

1. Forsyn objektglasset med stregkodeetiket, der svarer til den protokol, der skal udføres.
2. Sæt proben, passende detektionskitdispensere og nødvendigt hjælpereagens i reagensbakken, og placer dem på instrumentet.
3. Kontrollér bulkvæsker, og tøm affaldsbeholdere.
4. Sæt objektglassene på instrumentet.
5. Start farvekørslen.
6. Når kørslen er fuldført, tages objektglassene ud af instrumentet.
7. Fortsæt til procedurene Anbefalede procedurer til efterbehandling, efter kørsel på instrumentet.

Anbefalede procedurer til efterbehandling, efter kørsel på instrumentet

Bemærk: For at sikre fuldstændig dehydrering skal ethanolbade udskiftes hyppigt, og der kan tilsættes et tredje bad med 100 % ethanol.

1. Liquid Coverslip-opløsningen fjernes ved at vaske objektglassene i to på hinanden følgende opløsninger af mildt opvaskemiddel (brug ikke rengøringsmiddel, der er beregnet til opvaskemaskiner).
2. Skyl objektglassene grundigt med destilleret vand i cirka 1 minut. Ryst overskydende vand fra.
3. Læg objektglassene i et 90 %-ethanolbad i cirka 1 minut.
4. Læg objektglassene i et 100 %-ethanolbad i cirka 1 minut.
5. Læg objektglassene i et andet 100 %-ethanolbad i cirka 1 minut.
6. Læg objektglassene i et xylenebad i cirka 1 minut.
7. Læg objektglassene i et andet xylenebad i cirka 1 minut.
8. Sæt dækglasset på objektglasset. Bemærk, at noget monteringsmateriale ikke er kompatibelt med VENTANA DIG Detection Kit (se afsnittet Begrænsninger).

METODER TIL KVALITETSKONTROL

Positiv vævskontrol

Der skal køres en positiv vævskontrol med hver udført farvningsprocedure. Bedst mulig laboratoriepraksis skal omfatte et positivt kontrolsnit på samme objektglas som patientvævet. Vævskomponenterne i positiv farvning anvendes til at bekræfte, at reagenserne blev anvendt, og at instrumentet fungerede korrekt. Dette væv kan indeholde både positive og negative farvningselementer eller vævsbestanddele og kan benyttes både som positivt og negativt kontrolvæv. Interne vævskontroller bruges, såfremt den ledende forsker og patologen finder det hensigtsmæssigt. Kontrolvæv skal være obduktions-, biopsi- eller kirurgipræparater, der er klargjort eller fikseret på en måde, der er identisk med testsnittene. Vævssnit, der er fikseret eller behandlet på en anden måde end testpræparatet, kan bruges som sammenligningskontrol for alle reagenser og metoder, hvorpå der anvendes vævsfiksering og -behandling.

Kendte positive kontroller må udelukke benyttes til overvågning af, at behandlede væv og testreagenser fungerer korrekt, ikke som hjælp til at formulere en specifik diagnose for patientprøver. Hvis de positive vævskontroller ikke udviser positiv farvning, skal testpræparaternes resultater anses for ugyldige.

Se metodearket til den pågældende sonde for at få anbefalinger om den pågældende positive vævskontrol.

Negativ vævskontrol

Se eventuelt metodearket til den pågældende probe.

Positiv reagenskontrol

Se eventuelt metodearket til den pågældende probe.

Uforklarede uoverensstemmelser

Uforklarede uoverensstemmelser i kontroller skal straks rapporteres til den lokale supportrepræsentant. Patientresultaterne er ugyldige, hvis kvalitetskontrolresultaterne ikke opfylder kravene. Find og korrigér problemet, og gentag derefter patientprøven (se Fejlfinding).

Analyseverifikation

Før den første anvendelse af et reagens i en diagnostisk procedure bør reagensets ydeevne verificeres ved at teste det på en række væv med kendte ISH-præstationskarakteristika (se metodearket til proben, anbefalingerne til kvalitetskontrol fra College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist⁴ og CLSI Approved Guideline⁵). Disse metoder til kvalitetskontrol skal gentages for hvert nyt lot med reagens, eller når der sker ændringer i analyseparametre.

FORTOLKNING AF RESULTATER

VENTANA DIG Detection Kit får et magentafarvestof til at blive kovalent forbundet med tyrosinrester nær nukleinsyresekvensen, der hybridiseres af proben. En kvalificeret patolog, som har erfaring med ISH-procedurer, skal evaluere kontroller og kvalificere det farvede produkt, før resultaterne fortolkes.

BEGRÆNSNINGER

Generelle begrænsninger

- ISH er en flertrinsmetode, der kræver specialuddannelse i udvælgelsen af de passende reagenser, prøveforberedelse, behandling, forberedelse af objektglasset og fortolkning af resultaterne.
- Vævsfarvning er afhængig af håndtering og behandling af vævet før farvning. Forkert fiksering, nedfrysning, optøning, vask, tørring, opvarmning, udsækning eller kontaminering med andet væv eller væsker kan fremkalde artefakter, reagensbinding eller falsk negative eller falsk positive resultater. Uoverensstemmende resultater kan være en konsekvens af forskelle i fikserings- og indstøbningsmetoder eller naturlige uregelmæssigheder i selve vævet.
- Meget kraftig eller ufuldstændig kontrastfarvning kan kompromittere korrekt fortolkning af resultaterne.
- Den kliniske fortolkning af farvning skal evalueres på baggrund af anamnese, morfologi og andre histopatologiske kriterier. Det er en kvalificeret patologs ansvar at være fortrolig med reagenserne og metoderne, der anvendes til fremstilling af det farvede præparat. Farvning skal udføres i et certificeret, licenseret laboratorie under tilsyn af en patolog, der er ansvarlig for at gennemgå de farvede objektglas og sikre tilstrækkeligheden af kontrollerne.
- VENTANA-reagenser leveres ved optimal fortynding til brug, når de medfølgende instruktioner følges. Enhver afvigelse fra anbefalede testprocedurer kan ugyldiggøre forventede resultater. Passende kontroller skal anvendes og dokumenteres.

Brugere, der afviger fra anbefalede testprocedurer, vil være ansvarlige for fortolkningen af patientresultater.

- Reagenserne kan fremvise uventede reaktioner i tidligere utestet væv. Muligheden for uventede reaktioner selv i testede vævsgrupper kan ikke helt udelukkes på grund af den biologiske variabilitet af væv. Kontakt din lokale supportrepræsentant med dokumenterede uventede reaktioner.

Specifikke begrænsninger

- VENTANA DIG Detection Kit blev udviklet med henblik på at blive anvendt med vævssnit med en tykkelse på 4 µm. Snit tyndere eller tykkere end dette kan medføre uhensigtsmæssig farvning og/eller vævstab.
- Alt monteringsmateriale vil muligvis ikke være kompatibelt med magentakromogenet. Se Tabel 2 for monteringsmateriale, der er blevet testet.
- Farvede objektglas skal opbevares i mørke, når de ikke er i brug, for at forhindre nuanceudsving i magentakromogenet.
- I kombination med VENTANA-prober og -tilbehør er detektionskittet beregnet til at detektere nukleinsyresekvens, der overlever rutinemæssig formalinfiksering, vævsbehandling og udsækning. Som ved enhver test betyder et negativt resultat, at det specifikke mål ikke blev detekteret i vævsprøven, og ikke, at målet var fraværende i det oprindelige, ufikserede væv.
- Dette detektionskit er blevet optimeret til brug med VENTANA-reagenser på BenchMark IHC/ISH-instrumenter. Brugere, der afviger fra anbefalede testprocedurer, er ansvarlige for fortolkning af patientresultater under disse omstændigheder.
- Alle detektionskits er ikke nødvendigvis registreret på alle instrumenter. Kontakt den lokale supportrepræsentant for yderligere oplysninger.

Tab. 2. Monteringsmaterialets kompatibilitet

Monteringsmateriale	Producent	Kompatibelt?
Acrytol	Electron Microscopy Sciences	Ja
Consul-Mount	Epredia	Ja
Cytoseal XYL	Richard Allan Scientific	Ja
Cytoseal 60	Richard Allan Scientific	Ja
Dako Mounting Medium	Dako	Ja
Diamount	Diapath	Ja
DPX Mountant	CDH	Ja
Entellan	Merck	Ja
Glycergel	Dako	Ja
HE600	Roche	Ja
HistoCore Spectra CV X1	Leica	Ja
Histomount	National Diagnostics	Ja
MicroMount	Leica	Ja
Canada Balsam	Elabscience	Ja
Permout	Electron Microscopy Sciences	Ja
Pertex	Histolab	Ja
Epredia Synthetic Mountant	Epredia	Ja
Sub-X Mounting	Leica	Ja
Tissue-Tek Film	Sakura	Ja
Entellan New	Merck	Nej
Eukitt	Merck	Nej

PRÆSTATIONSCHARAKTERISTIKA

Oplysninger om præstationskarakteristika findes på den relevante sondes metodeark.

FEJLFINDING

1. Sørg for, at udsæringen blev skåret med en tykkelse på 4 µm, og at der blev anvendt et kompatibelt monteringsmateriale.
2. Sørg for, at reagensdispenserne ikke er tilstoppet eller tomme. Test dispenserfunktionen ved at rette dispensereren hen over en affaldsbeholder og trykke fast ned på toppen af beholderen og sikre, at der dispenseres en enkelt dråbe. Hvis dispensereren er tilstoppet eller ikke dispenserer korrekt, skal du kontakte din supportrepræsentant og undlade at bruge dispensereren.
3. Hvis vævssnit vaskes af objektglasset, skal objektglassene kontrolleres for at sikre, at de er positivt ladede.
4. Se afsnittet Fejlfinding på det relevante metodeark til prøben for at få analysespecifikke fejlfindingsløsninger.
5. For afhjælpende handlinger henvises til afsnittet Farvningsprocedure, instrumentets brugervejledning, eller du kan kontakte din lokale supportrepræsentant.

REFERENCER

1. Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
2. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
3. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
4. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2007.
5. CLSI (formerly NCCLS). Quality Assurance for Design Control and Implementation of Immunocytochemistry Assays: Approved Guideline-Second Edition. CLSI document I/LA28-A2 (ISBN 1-56238-745-6). CLSI, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2011.

BEMÆRK: Der anvendes altid et punktum i dette dokument som decimaltegn til markering af grænsen mellem det hele tal og de efterfølgende decimaler. Der anvendes ikke tusindtalsseparatorer.

Symboler

Ventana bruger følgende symboler og tegn ud over dem, der er anført i ISO 15223-1-standard (for USA: se [dialog.roche.com](https://www.dialog.roche.com) for definition af anvendte symboler):



Globalt vareidentifikationsnummer



Unik enhedsidentifikator



Angiver den enhed, der importerer det medicinske udstyr i EU

OPHAVSRET

VENTANA, BENCHMARK, HYBREADY, *ultraView* og VENTANA-logoet er varemærker tilhørende Roche. Alle andre varemærker tilhører deres respektive ejere.

Tilføjelser, sletninger eller ændringer er angivet med en ændringsbjælke i marginen.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

KONTAKTOPLYSNINGER



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

