

VENTANA DLL3 (SP347) Assay

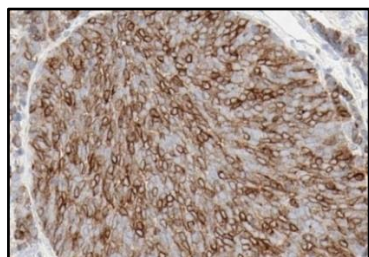
REF

790-7016

08416931001

IVD


50



Sl. 1. Izražanje testa VENTANA DLL3 (SP347) Assay na drobnoceličnem pljučnem karcinomu.

skupaj s histološkim pregledom, relevantnimi kliničnimi informacijami in ustreznimi kontrolami.

To protitelo je namenjeno za diagnostično uporabo in vitro (IVD).

POVZETEK IN OBRAZLOŽITEV

Test DLL3 (SP347) Assay uporablja kunčje monoklonsko protitelo, proizvedeno proti beljakovini DLL3. Barvanje s testom DLL3 (SP347) Assay v tumorskih celicah lahko kaže pikčasto in/ali difuzno citoplazemsko barvanje in/ali barvanje membran, ki je lahko delno ali obodno.

Delti podobna beljakovina 3 (DLL3) je ena od več transmembranskih ligandov, ki sodelujejo pri regulaciji poti Notch. Pot Notch je pomemben nadzorni mehanizem celične usode, ki uravnava celično diferenciacijo, proliferacijo in apoptozo; te celične poti so posebnega pomena za razvojno biologijo in vzdrževanje matičnih celic.¹ Motnja regulacije te poti je povezana z razvojnimi nepravilnostmi, s potencialom za onkogenezo v različnih tkivih.¹ Med normalnim razvojem beljakovina DLL3 zavira izražanje signalne poti Notch s preusmeritvijo odcepljenih Notch in DLL1 na endosome in/ali lizosome oziroma Golgi. Ta sekvenciracija učinkovito preprečuje lokalizacijo aktivirane intermediarne beljakovine Notch na površini celice. Pokazalo se je, da čezmerno izražanje Notch-1 zavira apoptozo pri različnih vrstah raka;² torej je inhibicija signalne poti Notch potencialnega ciljnega zdravljenja proti raku.^{2,3,4}

NAČELO DELOVANJA

Test DLL3 (SP347) Assay uporablja kunčje monoklonsko protitelo, proizvedeno proti beljakovini DLL3 v rezinah tkiva, ki so vklopljene v parafin. Specifično protitelo je mogoče prikazati s priborom za zaznavanje OptiView DAB IHC Detection Kit (kat. št. 760-700 / 06396500001). Več informacij poiščite v navodilih za uporabo, ki so priložena priboru za zaznavanje OptiView DAB IHC Detection Kit.

Poleg barvanja s testom DLL3 (SP347) Assay je treba drugi preparat obarvati s Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (kat. št. 790-4795 / 06683380001).

PRILOŽENI MATERIALI

Test DLL3 (SP347) Assay vsebuje dovolj reagenta za 50 testov.

En 5-mL dispencer za protitelo DLL3 (SP347) vsebuje približno 5 µg kunčjega monoklonskega protitelesa.

Protitelo je razredčeno v 0.05 M Tris pufrani fiziološki raztopini, 0.01 M EDTA, 0.05 % Brij-35 z 0.3 % nosilne beljakovine in 0.05 % natrijevega azida, ki je konzervans.

Koncentracija specifičnih protiteles je približno 1 µg/mL.

Protitelo DLL3 (SP347) je kunčje monoklonsko protitelo, proizvedeno kot prečiščen supernatant celične kulture.

Za podrobnejše opise glede načela delovanja, materialov in metod, odvzema vzorcev in priprave na analizo, postopkov kontrole kakovosti, odpravljanja težav, interpretacije rezultatov in omejitev si oglejte ustrezní pregled metod pribora za zaznavanje VENTANA.

POTREBNI MATERIALI, KI NISO PRILOŽENI

Reagenti za barvanje, kot so pribori za zaznavanje in pomožne komponente VENTANA, vključno s stekelci za kontrolo z negativnimi in pozitivnimi tkivi, niso priloženi.

Vsi izdelki, navedeni v priloženih navodilih za uporabo, morda niso na voljo na vseh območjih. Obrnite se na svojega lokalnega predstavnika za podporo.

Za barvanje bodo morda potrebni naslednji reagenti in materiali, ki niso priloženi:

1. Priporočena pozitivna in negativna kontrolna tkiva
2. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (kat. št. 790-4795 / 06683380001)
3. Mikroskopski preparati s pozitivnim nabojem
4. Sušilna peč, ki lahko ohranja temperaturo 60 °C ± 5 °C
5. Nalepke s črtno kodo (primarne za kontrolo z negativnim reagentom in primarno protitelo, ki se testira)
6. Ksilen (histološka ocena)
7. Etanol ali reagenčni alkohol (histološka ocena)
 - 100–odstotna raztopina: nerazredčeni etanol ali reagenčni alkohol
 - 95–odstotna raztopina: zmešajte 95 delov etanola ali reagenčnega alkohola s 5 deli deionizirane vode
 - 80–odstotna raztopina: zmešajte 80 delov etanola ali reagenčnega alkohola s 20 deli deionizirane vode
8. Deionizirana ali destilirana voda
9. OptiView DAB IHC Detection Kit (kat. št. 760-700 / 06396500001)
10. EZ Prep Concentrate (10X) (kat. št. 950-102 / 05279771001)
11. Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat. št. 950-300 / 05353955001)
12. ULTRA LCS (Predilute) (kat. št. 650-210 / 05424534001)
13. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (kat. št. 950-224 / 05424569001)
14. LCS (Predilute) (kat. št. 650-010 / 05264839001)
15. Cell Conditioning Solution (CC1) (kat. št. 950-124 / 05279801001)
16. Kontrastno barvilo Hematoxylin II (kat. št. 790-2208 / 05277965001)
17. Bluing Reagent (kat. št. 760-2037 / 05266769001)
18. Trajno fiksno sredstvo (Permount Fisher kat. št. SP15-500 ali enakovredno)
19. Krovno stekelce (zadostno za pokrivanje tkiva, na primer VWR kat. št. 48393-060)
20. Avtomatski pripomoček za nameščanje krovnih stekelc (na primer Tissue-Tek SCA Automated Coverslipper)
21. Svetlobni mikroskop
22. Vpojni robčki

SHRANJEVANJE IN STABILNOST

Ko izdelek prejmete in kadar ga ne uporabljate, ga hranite pri temperaturi 2–8 °C. Ne zamrzujte.

Da bi zagotovili ustrezno dostavo reagenta in stabilnost protitelesa, po vsaki uporabi znova namestite pokrovček dispenzerja, dispenzer pa takoj postavite nazaj v hladilnik v pokončnem položaju.

Na vsakem dispenzerju za protitelesa je naveden datum poteka roka uporabnosti. Če je pravilno shranjen, je reagent stabilen do datuma, navedenega na etiketi. Reagenta ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti.

PRIPRAVA VZORCA

Pri uporabi pribora za zaznavanje OptiView DAB Detection Kit in instrumentov BenchMark IHC/ISH so za uporabo s tem primarnim protitelesom primerna rutinsko obdelana tkiva FFPE. Priporočeno fiksno sredstvo za tkivo je 10–odstotni nevtralnó pufrani formalin.⁵ Izogibati se je treba fiksimim sredstvom z visoko koncentracijo alkohola (npr. 95 % etanola) ali fiksimim sredstvom na osnovi glioksala (npr. fiksno sredstvo PREFER). Preparate nemudoma obarvajte, saj se antigenost odrezanih rezin tkiva sčasoma zmanjša.

Priporočamo, da z neznanimi vzorci hkrati izvedete pozitivne in negativne kontrole.

OPOZORILA IN VARNOSTNI UKREPI

1. Za diagnostično uporabo in vitro (IVD).
2. Samo za profesionalno uporabo.
3. **SVARILO:** Zvezna zakonodaja ZDA dovoljuje prodajo tega izdelka zgolj na osnovi zdravniškega recepta. (Rx Only)
4. Ne uporabljajte, ko dosežete določeno število testov.

- V tem reagentu se kot konzervans uporablja raztopina ProClin 300. Razvrščena je kot dražljiva snov in lahko ob stiku s kožo povzroči preobčutljivost. Pri delu upoštevajte previdnostne ukrepe. Izogibajte se stiku reagentov z očmi, kožo in sluznicami. Uporabljajte zaščitna oblačila in rokavice.
- Preparati s pozitivnim nabojem so lahko občutljivi na obremenitve iz okolice, kar lahko povzroči neustrezno barvanje testa IHC (na primer pomanjkanje primarnega protitelesa ali kontrastnega barvila na tkivu). Svojega predstavnika podjetja Roche povprašajte za kopijo dokumenta »Impacts of Environmental Stresses on IHC Positively Charged Slides« (Vpliv obremenitev okolice na preparate IHC s pozitivnim nabojem), da boste bolje razumeli uporabo tovrstnih preparatov.
- Z materiali človeškega ali živalskega izvora je treba ravnati kot z biološko nevarnimi materiali in jih zavreči ob upoštevanju ustreznih previdnostnih ukrepov.
- Izogibajte se stiku reagentov z očmi in sluznicami. Če reagenti pridejo v stik z občutljivimi območji, jih temeljito sperite z veliko vode.
- Izogibajte se mikrobnim kontaminacijam reagentov, saj lahko povzroči nepravilne rezultate.
- Za dodatne informacije o uporabi tega pripomočka glejte uporabniški priročnik instrumenta BenchMark IHC/ISH in navodila za uporabo vseh potrebnih komponent, ki so na voljo na dialog.roche.com.
- O priporočenem načinu odstranjevanja se posvetujte z lokalnimi in/ali državnimi organi.
- Varno označevanje izdelka je temelji predvsem na smernicah EU GHS. Varnostni list za profesionalnega uporabnika je na voljo na zahtevo.
- Če želite prijaviti domnevane resne incidente, povezane s to napravo, se obrnite na lokalnega predstavnika družbe Roche in pristojni organ države članice ali države, v kateri ima uporabnik sedež.

Ta izdelek vsebuje sestavne dele, ki so v skladu z Uredbo (ES) št. 1272/2008 razvrščeni na naslednji način:

Pregl. 1. Podatki o ogroženosti.

Ogroženost	Koda	Izjava
	H317	Lahko povzroči alergijski odziv kože.
	H412	Škodljivo za vodne organizme z dolgotrajnimi učinki.
	P261	Preprečite vdihavanje meglice ali hlapov.
	P273	Izogibajte se izpuščanju v okolje.
	P280	Nosite zaščitne rokavice.
	P333 + P313	Če nastopi draženje kože ali se pojavi izpuščaj: poiščite zdravniško pomoč.
	P362 + P364	Takoj sleči kontaminirana oblačila in jih oprati pred ponovno uporabo.
	P501	Odstraniti vsebino/posodo v odobrenem obratu za odstranjevanje odpadkov.

Ta izdelek vsebuje CAS št. 55965-84-9, reakcijska masa 5-kloro-2-metil-izotiazolin-3-ona in 2-metil-2H-izotiazol-3-ona (3:1).

POSTOPEK BARVANJA

Primarna protitelesa VENTANA so bila razvita za uporabo na instrumentih BenchMark IHC/ISH v kombinaciji s pribori za zaznavanje in pripomočki OptiView DAB IHC. Za priporočene protokole barvanja glejte Pregl. 2.

To protitelo je bilo optimizirano za specifične inkubacijske čase, vendar pa mora rezultate, pridobljene s tem reagentom, uporabnik oceniti.

Parametre za samodejne postopke lahko prikažete, natisnete in urejate skladno s postopkom v priročniku za uporabo instrumenta. Dodatne informacije o imunohistokemijskih postopkih barvanja so na voljo v navodilih za uporabo ustreznega pribora za zaznavanje VENTANA.

Pregl. 2. Priporočen protokol barvanja za test DLL3 (SP347) Assay s priborom za zaznavanje OptiView DAB IHC Detection Kit na instrumentu BenchMark XT, instrumentu BenchMark GX in instrumentu BenchMark ULTRA.

Vrsta postopka	Metoda
Pečenje	Izbirno
Deparafinizacija	Izbrano
Prilava celic (razkrivanje antigena)	Instrument BenchMark GX CC1, 88 minut Instrument BenchMark XT CC1, 88 minut Instrument BenchMark ULTRA ULTRA CC1, 80 minut, 100 °C
Protitelo (primarno) Ali Rabbit Monoclonal Negative Control Ig	Instrument BenchMark GX 48 minut, 37 °C Instrument BenchMark XT 32 minut, 37 °C Instrument BenchMark ULTRA 32 minut, 36 °C
Predhodni primarni zaviralec peroksidaze	Izbrano
Kontrastno barvilo	Hematoxylin II, 4 minute
Po kontrastiranju	Bluing, 4 minute

Zaradi odstopanj pri fiksaciji in obdelavi tkiv ter zaradi splošnih laboratorijskih instrumentov in okoljskih pogojev bo morda treba podaljšati ali skrajšati inkubacijo primarnega protitelesa, prilavo celic ali predhodno obdelavo proteaze, kar mora temeljiti na posameznih vzorcih, načinu zaznavanja in prednostnih ciljih ocenjevalca. Za nadaljnje informacije o spremenljivkah fiksacije si ogledajte »Immunohistochemistry Principles and Advances«.⁶

KONTROLA S POZITIVNIM IN NEGATIVNIM TKIVOM

Primer kontrole s pozitivnim tkivom je tkivo drobnoceličnega pljučnega karcinoma. Ko je barvanje prisotno, imajo tumorske celice pikčasto in/ali difuzno citoplazemsko barvanje in/ali barvanje membran DLL3, ki je lahko delno ali obodno. Normalno pljučno tkivo se lahko uporablja kot kontrola z negativnim tkivom, ker ne kaže nobenega barvanja DLL3. Pigment in kri sta lahko pozitivna za DLL3 in se lahko celo opazita v alveolarnih makrofagih, kar lahko daje videz pozitivnega madeža. To se ne sme šteti za ozadje ali nesprejemljivo barvanje.

INTERPRETACIJA BARVANJA / PRIČAKOVANI REZULTATI

Samodejni postopek imunskega barvanja VENTANA povzroči, da se rjavo obarvan (DAB) reakcijski produkt obarja na mestih antigena, lokaliziranih s testom DLL3 (SP347) Assay.

Vzorec celičnega barvanja za test DLL3 (SP347) Assay je pikčasto in/ali difuzno citoplazemsko barvanje in/ali barvanje membran, ki je lahko delno ali obodno.

POSEBNE OMEJITVE

- Histološke vzorce je treba fiksirati v 24 urah po odvzemu z 10–odstotnim nevtralnemu pufranemu formalinom za 6–72 ur.
- Rezine tkiva, debele približno 4–6 µm, je treba izrezati in namestiti na pozitivno nabito steklo.
- Imunohistokemija je večstopenjski diagnostični postopek, ki zahteva specializirano usposabljanje za izbiro ustreznih reagentov in izbir tkiv, fiksacijo, obdelavo, prilavo imunohistokemijskega preparata in interpretacijo rezultatov barvanja.
- Barvanje tkiva je odvisno od ravnanja in obdelave tkiva pred barvanjem. Nepravilna fiksacija, zamrzitev, tajanje, izpiranje, sušenje, segrevanje, sekcioniranje ali kontaminacija z drugimi tkivi ali tekočinami lahko povzroči artefakte, ujetje protiteles ali lažno negativne rezultate. Neskladni rezultati lahko izhajajo iz različnih metod fiksacije in vklapljanja ali prirojenih nepravilnosti znotraj tkiva.

ZNAČILNOSTI DELOVANJA

Izvedeni so bili testi barvanja za specifičnost, občutljivost in ponovljivost, rezultati pa so navedeni v Pregl. 3 in Pregl. 4 ter v razdelku Ponovljivost.

Specifičnost

Pregl. 3. Specifičnost testa DLL3 (SP347) Assay je bila določena s testiranjem normalnega tkiva, fiksiranega v formalinu in vklopljenega v parafin.

Tkivo	Št. pozitivnih/ vseh primerov	Tkivo	Št. pozitivnih/ vseh primerov
Veliki možgani	1/9	Želodec	1/5
Mali možgani	0/6	Tanko črevo	0/6
Nadledvična žleza	5/6	Debelo črevo	0/6
Jajčnik	0/6	Jetra	4/5
Trebušna slinavka	3/5	Jezik (tkivo žleze slinavke)	0/6
Bezgavka	0/2	Ledvica	0/6
Hipofiza	6/6	Prostata	0/6
Modo	1/6	Maternica	0/2
Ščitnična žleza	1/6	Maternični vrat	0/1
Timusna žleza (priželjc)	0/6	Tkivo skeletne mišice	0/3
Dojka	0/4	Koža	0/1
Vranica	0/6	Tkivo perifernega živca	0/2
Tonzila	0/6	Tkivo plevralnega mezotelija	0/3
Kostni mozeg	0/4	Oko	1/3
Pljuča	0/5	Grlo	2/3
Srce	0/6	Obščitnica	0/3
Požiralnik	0/6	Sečni mehur	0/3

Občutljivost

Pregl. 4. Občutljivost testa DLL3 (SP347) Assay je bila določena s testiranjem različnih neoplastičnih tkiv, fiksiranih v formalinu in vklopljenih v parafin.

Patologija	Št. pozitivnih/ vseh primerov
Veliki možgani – glioblastom	1/1
Veliki možgani – atipični meningiom	0/1
Veliki možgani – maligni ependimom	1/1
Veliki možgani – oligodendrogliom	1/1
Serozni adenokarcinom jajčnikov	0/1
Adenokarcinom jajčnikov	0/1
Trebušna slinavka – karcinom celic otočkov	1/1
Adenokarcinom trebušne slinavke	0/1
Modo – seminom	1/1

Patologija	Št. pozitivnih/ vseh primerov
Modo – embrionalni karcinom	1/1
Ščitnica – medularni karcinom	1/1
Ščitnica – papilarni karcinom	0/1
Dojka – intraduktalni karcinom	0/1
Dojka – invazivni duktalni karcinom	0/2
Vranica – difuzni limfom celic B	0/1
Pljuča – drobnocelični karcinom	1/1
Pljuča – ploščatocelični karcinom	0/1
Pljuča – adenokarcinom	0/1
Požiralnik – ploščatocelični karcinom	0/1
Požiralnik – adenokarcinom	0/1
Želodec – mucinozni adenokarcinom	0/1
Adenokarcinom tankega črevesa	0/1
Maligni intersticialom tankega črevesa	1/1
Debelo črevo – adenokarcinom	0/1
Debelo črevo – intersticialom	0/1
Rektum – adenokarcinom	0/1
Rektum – maligni intersticialom srednjega stadija	1/1
Jetra – hepatocelularni karcinom	1/1
Jetra – hepatoblastom	0/1
Ledvica – svetlocelični karcinom	0/1
Prostata – adenokarcinom	0/2
Maternica – adenokarcinom	0/1
Maternica – svetlocelični karcinom	0/1
Maternični vrat – ploščatocelični karcinom	1/2
Skeletna mišica – embrionalni rabdomiosarkom	0/1
Rektum – maligni melanom	1/1
Koža – bazalnocelični karcinom	0/1
Retroperitonej – nevroblastom	0/1
Potrebnišnica – maligni mezoteliom	0/1
Bezgavka – difuzni limfom celic B	1/2
Bezgavka – Hodgkinov limfom	1/1
Sečni mehur – urotelijski karcinom	0/1
Sečni mehur – maligni leiomiosarkom	0/1
Gladka mišica – leiomiosarkom	0/1

Ponovljivost

Študije ponovljivosti za test DLL3 (SP347) Assay so bile izvedene, da pokažejo:

- Obnovljivost protitelesa med serijami.
- Obnovljivost znotraj postopkov in med postopki na instrumentu BenchMark GX.
- Obnovljivost znotraj postopkov in med postopki na instrumentu BenchMark XT.
- Obnovljivost znotraj postopkov in med postopki na instrumentu BenchMark ULTRA.
- Obnovljivost med platformami med instrumentom BenchMark GX, BenchMark XT in instrumentom BenchMark ULTRA.

Vse študije ustrezajo merilom sprejemljivosti.

REFERENCE

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.

OPOMBA: točka (pika/ločilo) se v tem dokumentu vedno uporablja kot decimalni ločevalnik za označevanje meje med integralnimi in delnimi deli decimalne številke. Ločevalniki za tisočice se ne uporabljajo.

Simboli

Ventana poleg tistih, navedenih v standardu ISO 15223-1, uporablja naslednje simbole in znake (za ZDA: za opredelitev uporabljenih simbolov glejte dialog.roche.com):



Globalna trgovinska številka izdelka



Edinstvena identifikacija pripomočka



Označuje subjekt, ki uvaža medicinski pripomoček v Evropski uniji

ZGODOVINA REVIZIJ

Revizija	Posodobitve
C	Posodobitve razdelkov Priloženi materiali, Potrebni materiali, ki niso priloženi, Opozorila in varnostni ukrepi, Simboli in Intelktualna lastnina

INTELEKTUALNA LASTNINA

VENTANA, BENCHMARK, OPTIVIEW in logotip VENTANA so blagovne znamke družbe Roche.

Vse druge blagovne znamke so last njihovih lastnikov.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

PODATKI ZA STIK



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

www.roche.com

