

VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit

REF

760-516

08318883001

IVD

Σ 60

PRZEZNACZENIE

Zestaw VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit to system przeznaczony do pośredniej detekcji sekwencji docelowych znakowanych DNP. Zestaw jest przeznaczony do identyfikacji sekwencji docelowych metodą hybrydyzacji in situ (ISH) z wykorzystaniem srebra w skrawkach tkanek utwardzonych w formalinie i zatopionych w parafinie, wybarwionych w aparatach BenchMark IHC/ISH.

Wyniki uzyskane przy użyciu tego produktu powinny zostać zinterpretowane przez wykwalifikowanego badacza na podstawie badań histopatologicznych, odpowiednich danych klinicznych i właściwych kontroli.

Ten produkt jest przeznaczony do stosowania w diagnostyce in vitro (IVD).

STRESZCZENIE I INFORMACJE OGÓLNE

W hybrydyzacji in situ (ISH) znakowane sondy są wykorzystywane do detekcji swoistych sekwencji docelowych DNA lub RNA w utwardzonych skrawkach tkankowych. Sekwencje docelowe są odsłanianie poprzez podgrzewanie tkanki z roztworem zawierającym sondy w celu denaturacji kwasów nukleinowych. Następnie temperatura reakcji jest obniżana, co umożliwia hybrydyzację znakowanej sondy będącej fragmentem kwasu nukleinowego z komplementarną sekwencją kwasu nukleinowego w tkance.

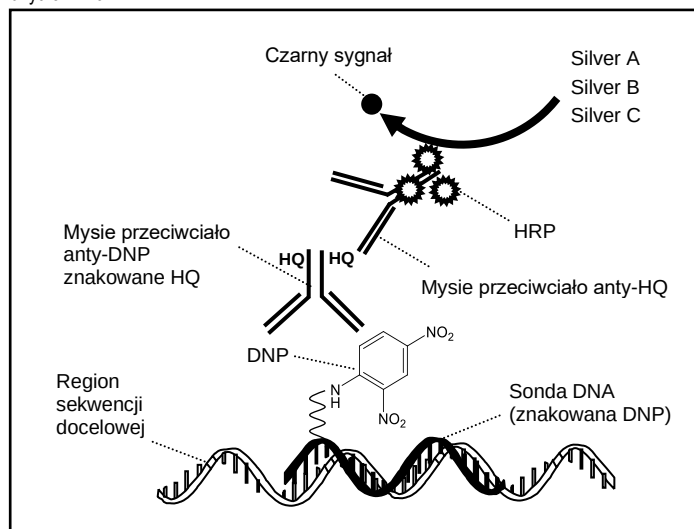
Hybrydyzacja sondy do sekwencji kwasu nukleinowego jest wizualizowana pośrednią metodą detekcji. Najpowszechniej stosowane techniki pośrednie wykorzystują przeciwciała drugorzędowe skierowane przeciwko haptenu przeciwciała pierwszorzędowego (anty-hapten) oraz enzym z odpowiednim układem substrat-chromogen. Taka kombinacja powoduje wytrącenie barwnego osadu w miejscu wiązania swoistych sond. Wykorzystywana w zestawie VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit metoda pośrednia umożliwia uwidocznienie komplementarnych sekwencji kwasu nukleinowego poprzez wytrącenie czarnego osadu.

ZASADA DZIAŁANIA

Zestaw VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit wykrywa sondy znakowane DNP przyłączone do swoistych sekwencji w skrawkach tkanek utwardzonych w formalinie i zatopionych w parafinie (FFPE). Zestaw detekcyjny zawiera przeciwciała pierwszorzędowe oraz znakowane enzymem przeciwciała drugorzędowe skoniugowane z peroksydazą chrzanową (HRP), używane jako enzym chromogeny. Podczas barwienia metodą ISH sondy znakowane DNP jednocześnie hybrydują do odpowiadających im docelowych sekwencji DNA w jądrach komórkowych. Zestaw VENTANA Silver ISH (SISH) DNP Detection Kit zawiera dozowniki z następującymi odczynnikami: mysie przeciwciała pierwszorzędowe anti-DNP znakowane hydroksychinoksaliną (HQ), mysie przeciwciała drugorzędowe anti-HQ skoniugowane z peroksydazą chrzanową (HRP), Chromogen A (Silver A), Chromogen B (Silver B) i Chromogen C (Silver C). Po inkubacji z mysim przeciwciałem pierwszorzędowym anti-DNP znakowanym HQ, a następnie inkubacji z koniugatem mysiego przeciwciała drugorzędowego anti-HQ i HRP zachodzi reakcja SISH. Ogólnie rzecz biorąc, reakcja ta jest napędzana przez dodawanie kolejno następujących odczynników: Chromogen A (octan srebra), Chromogen B (hydrochinon) i Chromogen C (H_2O_2). Podczas tej reakcji jony srebra (Ag^+) są redukowane przez hydrochinon do atomów srebra metalicznego (Ag^0). Reakcję zasila nadtlenek wodoru (Chromogen C), który jest substratem dla HRP. Reakcję zachodzącą podczas wykonywania metody SISH przedstawiono na Rysunku 1. Następnie preparat jest wybarwiany kontrastowo odczynnikami Hematoxylin II, aby umożliwić interpretację wyników z użyciem mikroskopu świetlnego.

Protokół barwienia obejmuje wiele kroków inkubacji odczynników przez określony czas w określonej temperaturze. Pod koniec każdego kroku inkubacji aparat BenchMark IHC/ISH przepłukuje skrawki w celu usunięcia niezwiązanego materiału i nanosi roztwór płynnego szkiełka nakrywkowego, który minimalizuje parowanie odczynników wodnych z preparatu. Interpretacji wyników dokonuje się przy użyciu mikroskopu świetlnego. Wyniki mogą wspomagać rozpoznawanie różnicowe procesów patofizjologicznych, które mogą (ale nie muszą) być powiązane z dodatnim barwieniem charakterystycznym dla sondy.

Szczegółowe informacje dotyczące obsługi aparatu zawiera odpowiedni przewodnik użytkownika.



Rys. 1. VENTANA Silver ISH DNP Detection

MATERIAŁY I METODY

Dostarczone materiały

Zestaw VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit zawiera odczynniki w ilości wystarczającej do przeprowadzenia 60 testów.

Jeden dozownik 6 mL	Odczynnik VENTANA Silver ISH DNP HQ zawiera przeciwciała anty-DNP znakowane haptenu (~12.5 µg/mL) w buforze zawierającym białko i fosforan, z dodatkiem środka ProClin 300 w stężeniu 0.05%, będącego konserwantem.
Jeden dozownik 6 mL	Odczynnik VENTANA Silver ISH DNP HQ HRP zawiera roztwór koniugatu enzymatycznego przeciwciała anti-HQ z peroksydazą chrzanową (HRP) (~25 µg/mL) w buforze zawierającym białko i fosforan, z dodatkiem środka ProClin 300 w stężeniu 0.05%, będącego konserwantem.
Jeden dozownik 12 mL	Odczynnik VENTANA Silver ISH DNP Chromogen A zawiera CH_3COOAg w stężeniu około 1% w roztworze wodnym.
Jeden dozownik 6 mL	Odczynnik VENTANA Silver ISH DNP Chromogen B zawiera $C_6H_6O_2$ w stężeniu około 1% w roztworze wodnym.
Jeden dozownik 6 mL	Odczynnik VENTANA Silver ISH DNP Chromogen C zawiera H_2O_2 w stężeniu około 0.2% w roztworze wodnym.

Odtwarzanie, mieszanie, rozcieńczanie, miareczkowanie

Zestaw detekcyjny został zoptymalizowany do użytku w aparatach BenchMark IHC/ISH. Odtwarzanie, mieszanie, rozcieńczanie lub miareczkowanie odczynników wchodzących w skład zestawu nie jest konieczne.

Dalsze rozcieńczanie może doprowadzić do utraty barwienia.

Materiały wymagane, ale niedostarczane

W skład dostarczonego zestawu nie wchodzi odczynniki do barwienia, takie jak zestawy detekcyjne firmy VENTANA, ani elementy pomocnicze, takie jak dodatnie i ujemne kontrolne preparaty tkankowe.

Nie wszystkie produkty przedstawione w arkuszu metody są dostępne we wszystkich regionach geograficznych. Odpowiednich informacji udzieli lokalny przedstawiciel działu pomocy technicznej.

Wymienione niżej odczynniki i materiały mogą być potrzebne do przeprowadzenia barwienia, ale nie są dostarczane z zestawem detekcyjnym:

1. Sonda ISH

2. ISH Protease 3 (nr kat. 780-4149 / 05273331001)
3. Hematoxylin II (nr kat. 790-2208 / 05277965001)
4. Bluing Reagent (nr kat. 760-2037 / 05266769001)
5. Reaction Buffer Concentrate (10X) (nr kat. 950-300 / 05353955001)
6. SSC (10X) (nr kat. 950-110 / 05353947001)
7. EZ Prep Concentrate (10X) (nr kat. 950-102 / 05279771001)
8. *ultra*View Silver Wash II (nr kat. 780-003 / 05446724001)
9. Cell Conditioning Solution (CC1) (nr kat. 950-124 / 05279801001)
10. Cell Conditioning Solution (CC2) (nr kat. 950-123 / 05279798001)
11. LCS (Predilute) (nr kat. 650-010 / 05264839001)
12. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (nr kat. 950-224 / 05424569001)
13. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (nr kat. 950-223 / 05424542001)
14. ULTRA LCS (Predilute) (nr kat. 650-210 / 05424534001)
15. Aparat BenchMark IHC/ISH
16. Szkiełka mikroskopowe Superfrost Plus, naładowane dodatnio
17. Środek do zatapiania*
18. Zautomatyzowany aparat do naklejania szkiełek nakrywkowych
19. Sprzęt laboratoryjny do ogólnego użytku

* Środki do zatapiania odpowiednie dla tego testu przedstawiono w Tab. 2.

Przechowywanie i stabilność

Produkt, bezpośrednio po odebraniu i zawsze, gdy nie jest używany, należy przechowywać w temperaturze 2–8°C. Nie zamrażać. Zestawu detekcyjnego można użyć bezpośrednio po wyjęciu go z lodówki.

W celu zapewnienia właściwego dozowania odczynnika i stabilności odczynnika po każdym cyklu barwienia na dozownik należy założyć zatyczkę i niezwłocznie umieścić go w lodówce w pozycji pionowej.

Każdy zestaw detekcyjny jest oznaczony datą ważności. Prawidłowo przechowywane odczynniki zachowują stabilność do daty podanej na etykiecie. Nie należy używać produktu po upływie daty ważności. Nie stwierdzono jednoznacznych oznak, które mogłyby wskazywać na niestabilność tego produktu; dlatego podczas badania nieznanymi preparatów należy jednocześnie wykonać badanie kontroli dodatniej i ujemnej. W razie zaobserwowania nieoczekiwanych wyników należy niezwłocznie skontaktować się z lokalnym przedstawicielem działu pomocy technicznej.

Pobieranie próbek i przygotowanie ich do analizy

Do stosowania z zestawem VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit i aparatami BenchMark IHC/ISH nadają się tkanki FFPE (patrz część „Materiały wymagane, ale niedostarczane”). Zalecanym środkiem do utrwalania tkanek jest obojętna zbuforowana formalina (NBF) w stężeniu 10%¹ (czas utrwalania od 6 do 72 godzin). Grubość skrawków tkanek, metoda utrwalania, niepełne/długotrwałe utrwalanie lub procesy specjalne, np. odwapnienie preparatów ze szpiku kostnego, mogą być przyczyną zmienności wyników. Różnice w procedurach obróbki tkanek, warunki, w których przygotowywano próbki do analizy, i procedury stosowane w laboratorium mogą powodować znaczną zmienność wyników i wymagać regularnego stosowania kontroli. Więcej informacji na temat kontroli przedstawiono w części „Procedury kontroli jakości”.

Tkanki należy pociąć na skrawki o grubości odpowiedniej dla używanej sondy (~4 µm) i umieścić na dodatnio naładowanych szkiełkach mikroskopowych. Preparaty należy odsączyć lub osuszyć w celu usunięcia nadmiaru wody z obszaru pomiędzy szkiełkiem a tkanką.

W przypadku skrawków tkankowych o grubości powyżej 4 µm może być wymagane zastosowanie silniejszej niż zalecana w protokole obróbki proteazą, a ze względu na nadmiar parafiny w tkance może być w nich obserwowanych więcej jądrowych artefaktów „bąbelkowych” niż w cieńszych skrawkach. Jądrowe artefakty „bąbelkowe” przejawiają się występowaniem w jądrze komórkowym dużych lub małych pęcherzyków lub wakuol. Zazwyczaj artefakt ten nie zakłóca zliczania sygnałów. Silne jądrowe artefakty „bąbelkowe” mogą jednak zniekształcić jądro komórkowe lub sygnały SISH, uniemożliwiając tym samym zliczenie sygnałów. W przypadku próbek tego typu przed powtórным przeprowadzeniem barwienia w aparacie może być konieczne ich odparafinowanie w kąpeli ksylenowej i alkoholowej (patrz „Rozwiązywanie problemów”). Jądrowe artefakty „bąbelkowe” mogą być również wywołane niedostatecznym utrwalaniem (1–3 godz. przy użyciu formaliny); w tym przypadku jądrowe artefakty „bąbelkowe” są zwykle bardziej rozlane. Jeśli tkanki utrwalano przez 3 godziny, problem ten można rozwiązać, modyfikując proces kondycjonowania komórek/obróbki proteazą, jednak jeśli tkanki utrwalano przez 1 godzinę, najprawdopodobniej nie uda się rozwiązać tego problemu.

Informacje dotyczące stabilności odciętych preparatów i środowiskowych warunków przechowywania preparatów można znaleźć w arkuszu metody odpowiedniej sondy.

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Do stosowania w diagnostyce in vitro (IVD).
2. Wyłącznie do użytku profesjonalnego.
3. Nie wykonywać większej liczby testów niż liczba określona na etykiecie.
4. W tym roztworze jako środek konserwujący zastosowano roztwór ProClin 300. Uznano go za środek drażniący, a jego kontakt ze skórą może powodować uczulenie. Podczas pracy z produktem należy stosować uzasadnione środki ostrożności. Unikać kontaktu odczynników z oczami, skórą i błonami śluzowymi. Stosować odpowiednią odzież i rękawice ochronne. Materiały pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego należy traktować jako materiały stanowiące potencjalne zagrożenie biologiczne i usuwać je z zachowaniem właściwych środków ostrożności.
5. Materiały pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego należy traktować jako materiały stanowiące potencjalne zagrożenie biologiczne i usuwać je z zachowaniem właściwych środków ostrożności. W przypadku narażenia należy przestrzegać wytycznych określonych w dyrektywach wydanych przez właściwe organy.^{2,3}
6. Podczas pracy z odczynnikami należy stosować uzasadnione środki ostrożności. Unikać kontaktu odczynników z oczami, skórą i błonami śluzowymi. Podczas pracy z materiałami o domniemanym działaniu rakotwórczym lub materiałami toksycznymi należy nosić rękawiczki jednorazowe i odpowiednią odzież ochronną.
7. W przypadku kontaktu odczynników z wrażliwymi miejscami splukiwać obficie dużą ilością wody. Unikać wdychania odczynników.
8. Przed rozpoczęciem cyklu w aparacie upewnić się, że pojemnik na zlewki jest pusty. W przypadku niepodjęcia tego środka ostrożności może dojść do przepełnienia pojemnika na zlewki i zaistnienia ryzyka poślizgnięcia się i upadku użytkownika.
9. Unikać skażenia mikrobiologicznego odczynników ze względu na możliwość otrzymania nieprawidłowych wyników.
10. Aby uzyskać więcej informacji dotyczących stosowania tego wyrobu, należy zapoznać się z przewodnikiem użytkownika aparatu BenchMark IHC/ISH oraz instrukcjami stosowania wszystkich wymaganych elementów. Instrukcje te można znaleźć pod adresem navifyportal.roche.com.
11. W celu uzyskania informacji na temat zalecanej metody usuwania produktu należy skontaktować się z władzami lokalnymi i/lub krajowymi.
12. Oznakowanie dotyczące bezpieczeństwa produktu jest przede wszystkim zgodne z wytycznymi GHS UE. Karta charakterystyki jest dostępna na życzenie profesjonalnego użytkownika.
13. W celu zgłoszenia podejrzenia wystąpienia poważnych incydentów związanych z tym wyrobem należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Roche i właściwym organem państwa członkowskiego lub kraju, którego rezydentem jest użytkownik.

Ten zestaw detekcyjny zawiera elementy sklasyfikowane w określony poniżej sposób zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 1272/2008:

Tab. 1. Informacje o zagrożeniach.

Zagrożenie	Kod	Zwrot
	H317	Może powodować reakcję alergiczną skóry.
	P261	Unikać wdychania mgły lub par.
	P272	Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wynosić poza miejsce pracy.
	P280	Stosować rękawice ochronne.
	P333 + P313	W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
	P362 + P364	Zdjąć zanieczyszczoną odzież i wyprać przed ponownym użyciem.

EUH208: zawiera masę reakcyjną 5-chloro-2-metylo-2H-izotiazol-3-onu i 2-metylo-2H-izotiazol-3-onu (3:1), hydrochinon. Może powodować wystąpienie reakcji alergicznej.

PROCEDURA

Zestaw VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit opracowano do stosowania w aparatach BenchMark IHC/ISH razem z odczynnikami pomocniczymi firmy VENTANA. Protokoły barwienia mogą być wyświetlane, drukowane i edytowane zgodnie z procedurą opisaną w przewodniku użytkownika aparatu. Pozostałe parametry pracy aparatu zostały ustawione fabrycznie.

Poniżej opisano procedury barwienia w aparatach BenchMark IHC/ISH. Szczegółowe instrukcje oraz dodatkowe opcje protokołów można znaleźć w arkuszu metody odpowiedniej sondy lub przewodniku użytkownika.

Aparaty BenchMark IHC/ISH

1. Na preparat nakleić etykietę z kodem kreskowym odpowiadającą protokołowi, który ma zostać wykonany.
2. Dozownik sondy, odpowiednie dozowniki zestawu detekcyjnego oraz wymagane dozowniki odczynników pomocniczych umieścić w tacy na odczynniki, a następnie umieścić załadowaną tacę w aparacie.
3. Sprawdzić płyny i wyrzucić odpady.
4. Butle na bufor reakcyjny muszą być pełne.
5. Przed rozpoczęciem cyklu należy opróżnić pojemnik na zlewki.
6. Umieścić preparaty w aparacie.
7. Rozpocząć cykl barwienia.
8. Po zakończeniu cyklu barwienia wyjąć preparaty z aparatu. Wybarwione preparaty będą pokryte resztkami buforu i roztworem płynnego szkła nakrywkowego. Przystąpić do płukania i odwadniania preparatów (patrz niżej).

Zalecane procedury postępowania po obróbce w urządzeniu

1. Aby usunąć roztwór płynnego szkła nakrywkowego, preparaty kolejno przemyć w dwóch roztworach łagodnego płynu do mycia naczyń (nie używać płynu przeznaczonego do użycia w zmywarkach automatycznych).
2. Dokładnie płukać preparaty wodą destylowaną przez około 1 minutę. Strząsnąć nadmiar wody.
3. Preparaty suszyć w piecu (45–60°C) lub pozostawić do wyschnięcia na powietrzu w temperaturze otoczenia. Czas suszenia preparatów w piecu wynosi od 10 minut do 1 godziny (dłuższe suszenie wybarwionych preparatów wydaje się nie wpływać na wyniki barwienia). Przed nałożeniem szkła nakrywkowego upewnić się, że preparaty są całkowicie suche, ponieważ resztki wody na preparatach mogą przeszkadzać w nakładaniu szkła nakrywkowego oraz doprowadzić do powstania pod nimi pęcherzyków powietrza.
4. Preparaty umieścić w kąpieli z ksylenem na około 30 sekund.
5. Na preparat nałożyć środek do zatapiania.
6. Na preparat nałożyć szkło nakrywkowe. Należy pamiętać, że niektóre środki do zatapiania nie są zgodne z tym testem i nie powinno się ich używać (patrz części „Ograniczenia metody” i „Rozwiązywanie problemów”).

Procedury kontroli jakości

Tkanka do kontroli dodatniej

W każdym cyklu procedury barwienia należy uwzględnić tkankę do kontroli dodatniej. Zgodnie z optymalną praktyką laboratoryjną na szkło, na którym jest tkanka pacjenta, należy dodać skrawek tkanki będący kontrolą dodatnią. Składników tkankowych dających odczyn dodatni używa się w celu potwierdzenia naniesienia odczynników na preparat oraz prawidłowego działania aparatu. Tkanka ta może zawierać komórki lub składniki tkankowe dające zarówno odczyn dodatni, jak i ujemny, a zatem może być stosowana jednocześnie jako dodatnia i ujemna tkanka kontrolna. Wewnętrznych kontroli tkankowych należy używać według uznania wykwalifikowanego badacza. Tkanki kontrolne powinny być próbkami pobranymi z autopsji, biopsji lub chirurgicznie i powinny zostać przygotowane lub utrwalone w identyczny sposób jak skrawki badane. Skrawki tkanek utrwalone lub poddane obróbce w sposób inny niż próbka badana umożliwiają kontrolę porównawczą wszystkich odczynników oraz kroków metody, na które wpływ mają utrwalaanie i obróbka tkanki.

Znane dodatnie kontrole tkankowe powinny być stosowane wyłącznie w celu monitorowania prawidłowego przebiegu barwienia poddanych obróbce tkanek i działania odczynników testowych, a nie pomocniczo do określania rozpoznania dla próbek pacjentów. Jeśli nie udaje się potwierdzić dodatniego barwienia w preparatach tkanki do kontroli dodatniej, należy uznać, że wyniki próbek badanych są nieważne.

Konkretnie zalecenia dotyczące tkanek do kontroli dodatniej można znaleźć w arkuszu metody odpowiedniej sondy.

Tkanka do kontroli ujemnej

W stosownych przypadkach informacje na ten temat można znaleźć w arkuszu metody odpowiedniej sondy.

Odczynnik do kontroli dodatniej

W stosownych przypadkach informacje na ten temat można znaleźć w arkuszu metody odpowiedniej sondy.

Niewyjaśnione rozbieżności

Niewyjaśnione rozbieżności w tkankach kontrolnych należy niezwłocznie zgłosić lokalnemu przedstawicielowi działu pomocy technicznej. Jeśli kontrola jakości nie spełnia wymogów, wyniki pacjenta są nieważne. Patrz część „Rozwiązywanie problemów”. Zidentyfikować i rozwiązać problem, a następnie powtórzyć test dla próbek pacjenta.

Weryfikacja badania

Przed pierwszym użyciem sondy lub systemu do barwienia w procedurze diagnostycznej należy zweryfikować swoistość sondy poprzez wybarwienie serii tkanek, dla których znana jest charakterystyka wyników badań ISH (więcej informacji na ten temat można znaleźć w arkuszu metody sondy, zaleceniach dotyczących kontroli jakości opracowanych w ramach programu College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program i zawartych w dokumencie Anatomic Pathology Checklist⁴ i/lub wytycznych CLSI Approved Guideline⁵). Te procedury kontroli jakości należy powtarzać dla każdej nowej partii lub każdego nowego odczynnika oraz przy każdej zmianie parametrów testu.

Interpretacja wyników

Barwienie przy użyciu zestawu VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit prowadzi do wytrącenia czarnego produktu reakcji (osad srebra) w miejscach hybrydyzacji sondy z sekwencjami kwasu nukleinowego. Przed przystąpieniem do interpretacji wyników wykwalifikowany badacz z doświadczeniem w procedurach ISH musi dokonać oceny kontroli tkankowych i zakwalifikować wybarwiony preparat do badania. Najpierw należy ocenić wybarwienie tkanek do kontroli ujemnej, a następnie wyniki tego barwienia porównać z wybarwionym materiałem w celu określenia, czy otrzymany sygnał nie powstał w wyniku nieswoistych reakcji. Informacje na ten temat można znaleźć w części „Interpretacja wyników” arkusza metody odpowiedniej sondy.

OGRANICZENIA METODY

Ograniczenia ogólne

1. Metoda ISH to wieloetapowy proces, który wymaga odbicia specjalistycznego szkolenia w zakresie doboru odpowiednich odczynników, przygotowania próbek, obróbki, przygotowania preparatu oraz interpretacji wyników.
2. Wybarwienie tkanki zależy od sposobu postępowania z tkanką i obróbki tkanki przed barwieniem. Nieprawidłowe utrwalaanie, zamrażanie, rozmrażanie, przemywanie, suszenie, podgrzewanie, wykonywanie skrawków lub zanieczyszczenie próbki innymi tkankami lub płynami może prowadzić do powstania artefaktów, wychwytywania odczynników lub uzyskania fałszywie ujemnych lub fałszywie dodatnich wyników. Niespójne wyniki mogą być skutkiem różnic w metodach utrwalaania i zatapiania lub naturalnych nieregularności w obrębie tkanki.
3. Nadmierne lub niepełne wybarwienie kontrastowe może uniemożliwić właściwą interpretację wyników.
4. Interpretacja kliniczna każdego dodatniego wybarwienia lub jego braku musi być dokonywana w kontekście danych z wywiadu klinicznego, cech morfologicznych tkanki oraz innych kryteriów histopatologicznych. Wykwalifikowany patomorfolog ma obowiązek zapoznać się z działaniem odczynników oraz metodami stosowanymi w celu wybarwienia preparatu. Barwienie musi być wykonywane w certyfikowanym, licencjonowanym laboratorium pod nadzorem wykwalifikowanego patomorfologa odpowiedzialnego za ocenę wybarwionych preparatów i zapewnienie adekwatności kontroli.
5. Odczynniki firmy VENTANA są dostarczane w rozcieńczeniu optymalnym do użytku, gdy przestrzegane są dostarczone instrukcje. Wszelkie odchylenia od zalecanych procedur badawczych mogą doprowadzić do unieważnienia oczekiwanych wyników. Do badania należy włączyć odpowiednie kontrole i udokumentować ten fakt. Użytkownicy, którzy odstępują od zalecanych procedur badawczych, muszą przyjąć odpowiedzialność za interpretację wyników badań pacjenta.
6. Odczynniki mogą wykazywać nieoczekiwane reakcje w uprzednio niebadanych tkankach. Nie można całkowicie wyeliminować możliwości wystąpienia nieoczekiwanych reakcji nawet w przebadanych grupach tkanek ze względu na biologiczną zmienność tkanek. W przypadku wystąpienia nieoczekiwanych reakcji należy udokumentować ten fakt i skontaktować się z lokalnym przedstawicielem działu pomocy technicznej.

Szczególne ograniczenia

1. Tkanki należy pociąć na skrawki o grubości około 4 µm. W skrawkach grubszych niż 4 µm może dojść do utraty barwienia tkanki.
2. Zoptymalizowana procedura barwienia została opisana w arkuszu metody odpowiedniego testu.
3. Zestaw detekcyjny, w połączeniu z sondami i akcesoriami firmy VENTANA, umożliwia detekcję sekwencji kwasu nukleinowego, która przetrwa rutynowe procesy utrwalania w formalinie, obróbki tkanek i wykonywania skrawków.
4. Jak w przypadku każdego testu, wynik ujemny oznacza, że swoista sekwencja docelowa nie została wykryta — nie można jednak wykluczyć obecności swoistej sekwencji docelowej w badanych komórkach lub tkankach.
5. Ten zestaw detekcyjny został zoptymalizowany do użytku z roztworem płuczącym Reaction Buffer, sondami, akcesoriami oraz aparatami BenchMark IHC/ISH. Aby zapewnić prawidłowe działanie zestawu detekcyjnego, należy używać roztworu płuczącego Reaction Buffer. Użytkownicy, którzy odstępają od zalecanych procedur badawczych, są odpowiedzialni za interpretację otrzymanych w ten sposób wyników badań pacjenta.
6. Ten zestaw detekcyjny został zoptymalizowany do użytku z odczynnikami LCS (Predilute) lub ULTRA LCS (Predilute). Odczynnik LCS to wstępnie rozcieńczony roztwór płynnego szkiełka nakrywkowego, używany zarówno jako bariera między odczynnikami wodnymi a powietrzem, jak i odczynnik do usuwania parafiny z próbek tkanki podczas odparafinowania. Bariera stworzona przez odczynnik LCS ogranicza parowanie i zapewnia stabilne środowisko wodne podczas reakcji hybrydyzacji in situ (ISH) przeprowadzanych w aparatach BenchMark IHC/ISH.
7. Środki do zatapiania niektórych marek mogą prowadzić do utlenienia, wyblaknięcia i/lub zaniku sygnału SISH. Informacje o zgodności środków do zatapiania przedstawia Tab. 2.
8. Niektóre zestawy detekcyjne mogą nie być zarejestrowane na każdym aparacie. Aby uzyskać więcej informacji, należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Roche.

Tab. 2. Zgodność środków do zatapiania z testami opartymi na metodzie SISH.

Środek do zatapiania	Producent	Typ	Zgodność z metodą SISH
Entellan	Merck	Ksylen	Nie
Entellan New	Merck	Ksylen	Nie
Eukitt	EMS	Ksylen	Nie
HSR	Sysmex	Ksylen	Nie
Malinol	Muto Chemical	Ksylen	Nie
Acrytol	SurgiPath	Ksylen	Tak
Alcolmount	Diapath	Alkohol	Tak
BioMount 2	BBInternational	Ksylen	Tak
Cytoseal 60	Richard Allan Scientific	Ksylen	Tak
Diamount	Diapath	Ksylen	Tak
DPX	BDH: Raymond Lamb	Ksylen	Tak
FloTexx	Lerner Labs	Ksylen	Tak
Gel Mount	Biomeda	Roztwór wodny	Tak
Histomount	Raymond Lamb	Ksylen	Tak
MicroMount	SurgiPath	Ksylen	Tak
MM24	SurgiPath	Ksylen	Tak
Mountex	Histolab	Ksylen	Tak
MountQuick	Daido Sangyo Co.	Roztwór wodny	Tak
Paramount	Protaqs Quartett: Dako	Ksylen	Tak
Permout	Fisher	Ksylen	Tak

Środek do zatapiania	Producent	Typ	Zgodność z metodą SISH
Pertex	Cell Path	Ksylen	Tak
Shandon Consul mount	Thermo Scientific	Ksylen	Tak
Softmount	WAKO	Lemasol A	Tak
SureMount	Triangle Biomedical Sciences	Ksylen	Tak
Thermo EZ Mount	Thermo Scientific	Ksylen	Tak
Ultramount	Dako	Ksylen	Tak

CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

Działanie zestawu VENTANA Silver ISH DNP Detection Kit oceniono na podstawie wyników badań odtwarzalności i innych istotnych badań. Wszystkie cykle barwienia wykonywano zgodnie z protokołem zawartym w arkuszu metody sondy w aparatach BenchMark IHC/ISH (o ile nie wskazano inaczej).

Szczegóły dotyczące charakterystyki wyników przedstawiono w arkuszu metody odpowiedniej sondy.

ROZWIĄZYWANIE PROBLEMÓW

1. Należy zapoznać się z częścią „Rozwiązywanie problemów” arkusza metody odpowiedniej sondy.
2. Niekompletne usunięcie parafiny może prowadzić do wystąpienia artefaktów podczas barwienia lub uniemożliwić wybarwienie preparatu.
3. Jeśli skrawki tkanek są wypłukiwane ze szkiełek, należy sprawdzić, czy szkiełka są naładowane dodatnio. Więcej informacji można znaleźć w części „Pobieranie próbek i przygotowanie ich do analizy”.
4. Aby uzyskać informacje o środkach zaradczych, należy zapoznać się z częścią dotyczącą procedury lub przewodnikiem użytkownika aparatu albo skontaktować się z lokalnym przedstawicielem działu pomocy technicznej.

Jeśli dozowanie płynu przy użyciu dozownika do odczynników jest niemożliwe, sprawdzić, czy w komorze napełniania wstępnego lub na menisku nie ma ciał obcych lub cząstek stałych, takich jak włókna lub osady. Jeśli dozownik jest zatkany, należy zaprzestać używania dozownika i skontaktować się z lokalnym przedstawicielem działu pomocy technicznej. Można również ponownie napełnić dozownik — w tym celu należy skierować wylot dozownika w stronę pojemnika na zlewki, zdjąć nasadkę dyszy i nacisnąć górną część dozownika. Więcej informacji można znaleźć w arkuszu metody dozownika wbudowanego powiązanego z P/N 760-516.

BIBLIOGRAFIA

1. Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. 2nd Edition. St. Louis, MO: The C.V. Mosby Company; 1980.
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 24 June 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.

UWAGA: W tym dokumencie jako separator dziesiętny do zaznaczenia granicy między częścią całkowitą a ułamkową cyfry dziesiętnej zawsze używana jest kropka. Nie jest używany separator tysięcy.

Symbole

Firma Ventana stosuje określone poniżej symbole i oznaczenia dodatkowo do symboli wymienionych w normie ISO 15223-1 (dotyczy Stanów Zjednoczonych: więcej informacji można znaleźć pod adresem elabdoc.roche.com/symbols).



Globalny Numer Jednostki Handlowej

Rx only

Dotyczy Stanów Zjednoczonych: Przestroga: Prawo federalne zezwala na sprzedaż tego wyrobu wyłącznie lekarzowi lub na zlecenie lekarza.

HISTORIA ZMIAN

Wer.	Aktualizacje
D	Zaktualizowano informacje zawarte w części Ostrzeżenia i środki ostrożności. Zaktualizowano treść odpowiednio do bieżącego szablonu.

WŁASNOŚĆ INTELEKTUALNA

VENTANA, BENCHMARK i ULTRAVIEW są znakami towarowymi firmy Roche. Nazwy i znaki towarowe wszystkich pozostałych produktów stanowią własność odpowiednich właścicieli.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

DANE KONTAKTOWE



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



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

