

OptiView DAB IHC Detection Kit

REF 760-700
06396500001

IVD  250

DOMENIU DE UTILIZARE

OptiView DAB IHC Detection Kit (OptiView) este un sistem indirect, fără biotină, pentru detectarea anticorpilor primari IgG de șoarece, IgM de șoarece și de iepure. Kitul este destinat identificării țintelor prin imunohistochimie (IHC) în secțiunile de țesut fixat în formalină, înglobat în parafină sau de țesut congelat, care sunt colorate pe dispozitive automate de colorare a lamelor VENTANA și vizualizate prin microscopie în câmp luminos. Interpretarea clinică a oricărei colorări sau a absenței colorării trebuie să fie completată de studii morfologice și controale adecvate.

Acest produs trebuie interpretat de un patolog calificat împreună cu examinarea histologică, informațiile clinice relevante și controalele adecvate.

Acest produs este destinat pentru diagnosticarea in vitro (IVD).

REZUMAT ȘI EXPLICAȚIE

Imunohistochimia (IHC) este o tehnică utilizată în laboratoare în scopuri de diagnostic. IHC utilizează anticorpi primari specifici pentru a localiza și a se lega de antigene în secțiunile de țesut fixate sau congelate. Această legare a anticorpului la antigen este vizualizată printr-o metodă de detectare indirectă. Cele mai uzuale tehnici ale metodelor indirecte utilizează un anticorp secundar orientat împotriva speciilor de anticorp primar și o enzimă cu un sistem substrat cromogen corespunzător. Această combinație rezultă într-un precipitat colorat la locul de legare a anticorpului specific. OptiView DAB IHC Detection Kit utilizează o metodă indirectă de vizualizare a anticorpilor specifici legați de antigeni, prin depunerea unui precipitat de culoare maro.

PRINCIPIUL PROCEDURII

OptiView DAB IHC Detection Kit detectează anticorpii primari de șoarece și iepure specifici legați de un antigen în secțiunile de țesut fixat în formalină, înglobat în parafină (FFPE) sau congelat. Anticorpul specific este localizat de un anticorp secundar specific, care este legat de un anticorp terțiar marcat cu enzimă. Apoi, complexul este vizualizat cu substratul de peroxid de hidrogen și cromogenul de tetraclorură de 3, 3' diaminobenzidină (DAB), care produce un precipitat de culoare maro, care este deja observat prin microscopie în câmp luminos.

Protocolul de colorare constă în etape numeroase în care reactivii sunt incubati perioade prestabilite, la temperaturi specifice. La sfârșitul fiecărei etape de incubare, instrumentul BenchMark IHC/ISH spală secțiunile pentru a îndepărta materialul nelegat și aplică o lamă de acoperire lichidă care reduce la minimum evaporarea reactivilor apoși de pe lamă.¹ Rezultatele sunt interpretate cu ajutorul unui microscop în câmp luminos și ajută la diagnosticarea diferențială a proceselor patofiziologice, care pot fi asociate sau nu cu un anumit antigen.

Pentru mai multe informații privind funcționarea instrumentelor, consultați ghidul de utilizare corespunzător.

Figura 1 ilustrează metoda de detectare indirectă.

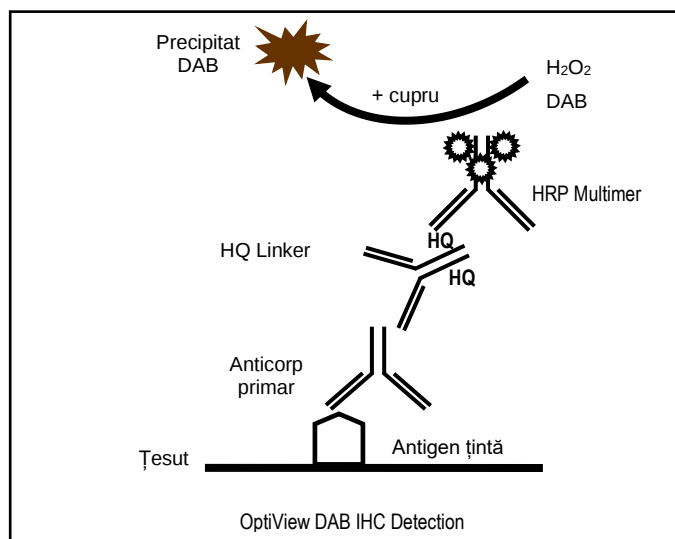


Fig.1 OptiView DAB IHC Detection Kit.

MATERIALE ȘI METODE

MATERIALE FURNIZATE

OptiView DAB IHC Detection Kit conține reactiv suficient pentru 250 de teste.

Un dozator de 25 mL	OptiView Peroxidase Inhibitor conține soluție de peroxid de hidrogen 3.0%.
Un dozator de 25 mL	OptiView HQ Universal Linker conține un cocktail de anticorpi (IgG de capră anti-șoarece, IgM de capră anti-șoarece și de capră anti-iepure) marcați cu HQ (HQ este o haptenă proprietară atașată covalent la anticorpii de capră) (aproximativ 50 µg/mL) într-o soluție tampon care conține proteină cu 0.05% ProClin 300, un conservant.
Un dozator de 25 mL	OptiView HRP Multimer conține un anticorp HRP terțiar monoclonal de șoarece marcat anti-HQ (aproximativ 40 µg/mL) într-o soluție tampon care conține proteină cu 0.05% ProClin 300, un conservant.
Un dozator de 25 mL	OptiView DAB conține 0.2% w/v tetraclorură de 3,3' diaminobenzidină (DAB) într-o soluție de stabilizare proprietară, cu un conservant proprietar.
Un dozator de 25 mL	OptiView H2O2 conține 0.04% peroxid de hidrogen într-o soluție tampon pe bază de fosfat.
Un dozator de 25 mL	OptiView Copper conține sulfat de cupru (5.0 g/L) într-o soluție tampon pe bază de acetat, cu un conservant proprietar.

Reconstituirea, amestecarea, diluarea și titrarea

Kitul de detecție este optimizat pentru utilizarea pe instrumente BenchMark IHC/ISH. Nu este necesară reconstituirea, amestecarea, diluarea sau titrarea reactivilor din kit. Continuarea diluării poate duce la pierderea colorației.

MATERIALE NECESARE, DAR CARE NU SUNT FURNIZATE

Reactivii de colorare, cum ar fi anticorpii primari și componentele auxiliare VENTANA, inclusiv lamele de control de țesut negativ și pozitiv, nu sunt furnizați.

Este posibil să nu fie disponibile în toate zonele geografice toate produsele menționate în fișa de descriere a metodei. Consultați reprezentantul de asistență local.

Reactivii și materialele de mai jos pot fi necesari pentru colorare, dar nu sunt furnizați cu kitul de detecție:

1. Anticorp primar
2. Reactiv de control negativ
3. Controale de țesut recomandate
4. OptiView Amplification Kit (nr. cat. 760-099 / 06396518001 (50 teste) sau 860-099 / 06718863001 (250 teste))
5. Protease 1 (nr. cat. 760-2018 / 05266688001)
6. Protease 2 (nr. cat. 760-2019 / 05266696001)
7. Protease 3 (nr. cat. 760-2020 / 05266718001)
8. Hematoxylin (nr. cat. 760-2021 / 05266726001)
9. Hematoxylin II (nr. cat. 790-2208 / 05277965001)
10. Bluing Reagent (nr. cat. 760-2037 / 05266769001)
11. Reaction Buffer Concentrate (10X) (nr. cat. 950-300 / 05353955001)
12. Cell Conditioning Solution (CC1) (nr. cat. 950-124 / 05279801001)
13. Cell Conditioning Solution (CC2) (nr. cat. 950-123 / 05279798001)
14. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (nr. cat. 950-224 / 05424569001)
15. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (nr. cat. 950-223 / 05424542001)
16. Antibody Diluent (nr. cat. 251-018 / 05261899001)
17. EZ Prep Concentrate (10X) (nr. cat. 950-102 / 05279771001)
18. LCS (Predilute) (nr. cat. 650-010 / 05264839001)
19. ULTRA LCS (Predilute) (nr. cat. 650-210 / 05424534001)
20. Instrument BenchMark IHC/ISH
21. Lame de microscop, încărcate pozitiv
22. Lamelă de acoperire și metoda lamelei de acoperire sunt suficiente pentru a acoperi țesutul
23. Echipament de laborator de uz general

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

La primire, și atunci când nu este în uz, a se depozita la 2–8 °C. A nu se congela.

Utilizatorul trebuie să valideze orice altă condiție de depozitare decât cele specificate în fișa de descriere a metodei. Acest kit de detecție poate fi utilizat imediat după scoaterea din frigider.

Pentru a asigura administrarea corectă a reactivului și stabilitatea fiecărui reactiv, puneți la loc capacul dozatorului după fiecare utilizare și introduceți imediat dozatorul în frigider, în poziție verticală.

Fiecare kit de detecție are marcată data expirării. Atunci când este depozitat corespunzător, produsul este stabil până la data indicată pe etichetă. Nu utilizați produsul după data expirării indicată pentru metoda de depozitare prescrisă. Nu există semne clare care să indice instabilitatea produsului; prin urmare, controalele pozitive și negative trebuie testate simultan cu probe necunoscute. Dacă există orice indicație a instabilității reactivului, contactați imediat reprezentantul de asistență local.

Colectarea și pregătirea probelor pentru analiză

Țesuturile FFPE prelucrate de rutină sunt adecvate instrumentelor OptiView DAB Detection Kit și BenchMark IHC/ISH (vezi secțiunea MATERIALE NECESARE, DAR CARE NU SUNT FURNIZATE). Fixatorul de țesut recomandat este formalina neutră tamponată 10% (NBF).² Pot fi obținute rezultate variabile ca urmare a grosimii secțiunii de țesut, a tipului de fixare, a fixării incomplete sau prelungite ori a proceselor speciale, cum ar fi decalcifierea preparatelor din măduvă osoasă.

Fiecare secțiune trebuie tăiată la grosimea adecvată (2–5 μm) pentru anticorpii primari utilizați și așezată pe o lamă din sticlă pentru microscop, încărcată pozitiv. Lamele care conțin secțiunea de țesut trebuie uscate în poziție verticală timp de cel puțin 15 minute la temperatura camerei, pentru a scurge excesul de apă de sub secțiune înainte de coacere. Lamele pot fi coapte/încălzite timp de o oră într-un cuptor de 60 °C ± 5 °C sau uscate la aer la 37 °C timp de până la 24 de ore. Uscarea și încălzirea lamelor este utilizată pentru a usca țesutul după montarea lamei și pentru a îmbunătăți adeziunea țesutului la sticlă. Consultați fișa de descriere a metodei aferentă anticorpului primar pentru a identifica limitările de încălzire. Încălzirea prelungită a țesutului poate duce la scăderea disponibilității antigenului.

Țesuturile fixate și înglobate în mod adecvat cu expresia antigenului rămân stabile dacă sunt păstrate la rece (15–25 °C). Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) din 1988, 42CFR493.1259 (b) prevede că „Laboratorul trebuie să păstreze lamele cel puțin zece ani de la data examinării și să păstreze blocurile de probe cel puțin doi ani de la data examinării.” Fiecare laborator ar trebui să valideze stabilitatea lamei tăiate pentru propriile proceduri și condițiile mediului de depozitare.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Pentru diagnosticarea in vitro (IVD).
2. Doar pentru uz profesional.
3. **Avertizare: Posibil carcinogen.** Agenția Internațională pentru Cercetarea Cancerului (IARC) și Programul Național de Toxicologie al SUA (NTP) au menționat benzidina, un compus strâns apropiat de tetraclorură de 3, 3'-diaminobenzidină (DAB), ca fiind un carcinogen uman.
4. A nu se depăși numărul de teste specificat.
5. Soluția ProClin 300 este utilizată pe post de conservant în această soluție. Este clasificată ca iritant și poate provoca sensibilizarea prin contactul cu pielea. La utilizare, luați măsuri de precauție rezonabile. Evitați contactul reactivilor cu ochii, pielea și membranele mucoase. Utilizați îmbrăcăminte și mănuși de protecție.
6. Materialele de origine umană sau animală trebuie considerate materiale care prezintă pericol biologic potențial și eliminate luând măsurile de precauție adecvate. În cazul expunerii, trebuie respectate instrucțiunile de sănătate comunicate de autoritățile responsabile.^{3,4}
7. La utilizarea reactivilor, luați măsuri de precauție rezonabile. Evitați contactul reactivilor cu ochii, pielea și membranele mucoase. Utilizați mănuși de unică folosință și îmbrăcăminte de protecție adecvată la utilizarea materialelor considerate ca fiind posibil carcinogene sau toxice.
8. Dacă reactivii intră în contact cu zonele sensibile, spălați-le cu apă din abundență. Evitați inhalarea reactivilor.
9. Asigurați-vă că este gol containerul de deșeuri înainte de a începe o testare pe un instrument. Dacă nu se adoptă aceste măsuri de precauție, containerul de deșeuri poate da pe dinafară, iar utilizatorul riscă să alunece și să cadă.
10. Evitați contaminarea microbiană a reactivilor, deoarece aceasta poate produce rezultate incorecte.
11. Pentru mai multe informații privind utilizarea acestui dispozitiv, consultați ghidul de utilizare a instrumentului BenchMark IHC/ISH și fișele de descriere a metodei aferente tuturor componentelor necesare de la navifyportal.roche.com.
12. Consultați autoritățile locale și/sau de stat pentru a stabili metoda de eliminare recomandată.
13. Etichetarea de securitate a produsului respectă în principal instrucțiunile GHS din UE. Fișa cu date de securitate este disponibilă utilizatorilor profesioniști la cerere.
14. Pentru a raporta suspiciunile privind incidentele grave referitoare la acest dispozitiv, contactați reprezentantul local Roche și autoritatea competentă a Statului Membru sau a Țării în care este stabilit utilizatorul.

Acest produs include componente clasificate după cum urmează conform Regulamentului (CE) nr. 1272/2008:

Tab.1 Informații privind pericolele.

Pericol	Cod	Declarație
	H350	Poate cauza cancer.
	H412	Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung.
	P201	Înainte de utilizare, obțineți instrucțiuni speciale.
	P202	Nu manipulați înainte de a citi și înțelege toate măsurile de siguranță.
	P273	Evitați dispersarea în mediu.
	P280	Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/ecipament de protecție a ochilor/ecipament de protecție a feței/ecipament de protecție acustică.
	P308 + P313	ÎN CAZ DE expunere sau de posibilă expunere: Consultați medicul.
	P501	Eliminați conținutul/recipientul la o groapă de gunoi autorizată.

EUH208: Conține un amestec de: 5-cloro-2-metil-4-izotiazolin-3-onă și 2-metil-2H-izotiazol-3-onă (3:1). Poate produce o reacție alergică.

PROCEDURĂ

OptiView DAB IHC Detection Kit a fost dezvoltat pentru utilizarea pe instrumente BenchMark IHC/ISH în combinație cu anticorpi primari și reactivi auxiliari VENTANA. Parametrii pentru procedurile automate pot fi afișați, tipăriți și editați conform procedurii din ghidul de utilizare a instrumentului. Alți parametri de utilizare pentru instrument au fost prestabiliți în fabrică.

Procedurile de colorare pe instrumente BenchMark IHC/ISH sunt după cum urmează. Pentru instrucțiuni mai detaliate și opțiuni suplimentare privind protocolul, consultați ghidul dvs. de utilizare. Depinde de anticorpus dacă proba necesită Cell Conditioning. Consultați fișa de descriere a metodei aferentă anticorpului pentru instrucțiuni.

Instrumente BenchMark IHC/ISH

1. Aplicați o etichetă cu cod de bare pentru lamă corespunzătoare protocolului de efectuat.
2. Încărcați anticorpus primar, dozatoarele de kituri de detecție adecvate și reactivul auxiliar necesar pe tava pentru reactiv și așezați-le pe instrument.
3. Verificați volumul de fluide și golii deșeurilor.
4. Încărcați lamele pe instrument.
5. Începeți ciclul de colorare.
6. După finalizarea testării, scoateți lamele de pe instrument.
7. Continuați la Proceduri recomandate de post-prelucrare a instrumentului.

Proceduri recomandate de post-prelucrare a instrumentului

1. Spălați lamele într-un detergent de vase slab pentru a îndepărta soluția de pe lamelele de acoperire.
2. Clătiți bine lamele în apă distilată pentru a îndepărta orice urmă de detergent.
3. Deshidratați, curățați și aplicați lamelele de acoperire cu mediu de fixare permanent.

PROCEDURI DE CONTROL DE CALITATE

Control de țesut pozitiv

Un control de țesut pozitiv trebuie testat cu fiecare procedură de colorare efectuată. Practica de laborator optimă este aceea de a include o secțiune de control pozitiv pe aceeași lamă cu țesutul pacientului. Această practică ajută la identificarea unei erori de aplicare a anticorpului primar sau a altui reactiv critic pe lama de test a pacientului. Un țesut cu colorare pozitivă slabă este cel mai adecvat pentru controlul de calitate optim. Componentele țesutului de colorare pozitiv sunt utilizate pentru a confirma că anticorpus a fost aplicat și că instrumentul a funcționat corect. Țesutul poate conține celule de colorare sau componente de țesut atât pozitive cât și negative și servește în calitate de țesut de control pozitiv dar și negativ. Țesuturile de control trebuie să fie probe obținute în urma autopsiei recente, biopsiei sau intervenției chirurgicale, preparată sau fixată cât mai repede posibil, în mod identic cu secțiunile de testare. Aceste țesuturi pot fi prezente în toate etapele de analiză, de la pregătirea țesutului până la colorare. Utilizarea unei secțiuni de țesut fixat sau prelucrat diferit de probele de test oferă control pentru toți reactivii și etapele metodei, cu excepția fixării și a prelucrării țesutului.

Controalele de țesut pozitiv cunoscute pot fi utilizate doar pentru monitorizarea performanțelor corecte ale țesuturilor prelucrate și reactivilor de testare, nu ca mijloace auxiliare de determinare a unui diagnostic specific al probelor de pacient. Dacă controalele de țesut pozitiv nu demonstrează colorarea pozitivă, rezultatele cu probele de testare trebuie considerate nevalide.

Control de țesut negativ

Același țesut utilizat pentru controlul de țesut pozitiv poate fi utilizat drept control de țesut negativ. Varietatea tipurilor de celule prezente în majoritatea secțiunilor de țesut oferă locuri de control negativ interne, dar acest lucru trebuie verificat de utilizator. Componentele care nu colorează trebuie să demonstreze absența colorării specifice și să furnizeze o indicare a colorării de fond. Dacă se produce colorarea specifică în locurile de control de țesut negativ, rezultatele cu probele pacientului trebuie considerate nevalide.

Discrepanțe nejustificate

Discrepanțele nejustificate din controale trebuie comunicate imediat reprezentantului de asistență locală. Dacă rezultatele controlului de calitate nu corespund specificațiilor, rezultatele pacientului nu sunt valide. Consultați secțiunea Depanare din această fișă de descriere a metodei. Identificați și corectați problema, apoi repetați probele pacientului.

Control cu reactiv negativ

Pentru fiecare probă, trebuie să testați un control cu reactiv negativ, ca auxiliar pentru interpretarea rezultatelor. Un control cu reactiv negativ este utilizat în locul anticorpului primar pentru a evalua colorarea nespecifică. Lama trebuie colorată cu Negative Control Mouse sau Negative Control Rabbit, după caz. Diluantul în sine poate fi utilizat ca alternativă la controalele cu reactiv negativ descrise anterior. Perioada de incubare pentru controlul cu reactiv negativ trebuie să fie egală cu perioada de incubare a anticorpului primar.

Când se utilizează paneele cu mai mulți anticorpi pe secțiuni seriale, un control cu reactiv negativ pe o lamă poate servi drept control de fond negativ sau nespecific al legării pentru alți anticorpi.

Verificarea testului

Înainte de utilizarea inițială a unui anticorpus primar sau a sistemului de colorare într-o procedură de diagnostic, specificitatea anticorpului primar trebuie verificată prin testarea acestuia pe o serie de țesuturi cu caracteristici de performanță imunohistochemică, care reprezintă țesuturi pozitive și negative cunoscute (consultați secțiunea Control de țesut pozitiv din fișa de descriere aferentă anticorpului primar și recomandările privind controlul de calitate din College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist,⁵ ori CLSI Approved Guideline⁶ sau din ambele documente). Aceste proceduri de control de calitate trebuie repetate pentru fiecare lot de anticorpi nou sau ori de câte ori există o schimbare a parametrilor de test. Țesuturile enumerate în secțiunea Caracteristicile de performanță ale anticorpului primar sunt adecvate pentru verificarea testului.

Interpretarea rezultatelor

OptiView DAB IHC Detection Kit face ca un produs de reacție colorat maro sau roșu să se precipite în locurile cu antigen localizate de anticorpus primar. Un patolog cu experiență în domeniul procedurilor imunohistochemice trebuie să evalueze controalele și să califice produsul colorat înainte de interpretarea rezultatelor. Colorarea controalelor negative trebuie mai întâi observată, iar aceste rezultate trebuie comparate cu materialul colorat pentru a verifica dacă semnalul generat nu este cauza unor interacțiuni nespecifice.

Control de țesut pozitiv

Controlul cu țesut pozitiv colorat trebuie examinat mai întâi pentru a confirma că toți reactivii funcționează corect. Prezența unui produs de reacție colorat adecvat în celulele țintă indică o reactivitate pozitivă. În funcție de durata incubării și de potența hematoxilinei utilizate, contracolorarea va conduce la o colorare în albastru deschis până la albastru închis a nucleelor celulare. Contracolorarea excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea corectă a rezultatelor.

Dacă controlul de țesut pozitiv nu demonstrează colorarea pozitivă, orice rezultat cu probele de test trebuie considerat nevalid.

Control de țesut negativ

Controlul de țesut negativ trebuie examinat după controlul de țesut pozitiv, pentru a verifica marcarea specifică a antigenului țintă de către anticorpus primar. Absența colorării specifice a controlului de țesut negativ confirmă lipsa reactivității încrucișate a anticorpului cu celulele sau componentele celulare. Dacă se produce colorarea specifică în controlul de țesut negativ, rezultatele cu probele pacientului trebuie considerate nevalide.

Colorarea nespecifică, dacă este prezentă, va avea un aspect difuz. De asemenea, colorarea lejeră sporadică a țesutului conjunctiv poate fi observată în secțiunile de țesut fixat excesiv în formalină. Celulele intacte trebuie utilizate pentru interpretarea rezultatelor de colorare. Celulele necrotice sau degenerate vor prezenta adesea o colorare nespecifică.

Țesutul de la pacient

Probele de la pacienți trebuie examinate ultimele. Intensitatea colorării pozitive trebuie evaluată în contextul oricărei colorări de fond nespecifice a controlului cu reactiv negativ. Ca în cazul oricărui test de imunohistochimie, un rezultat negativ înseamnă că nu a fost detectat antigenul respectiv, nu că antigenul lipsește din celulele sau țesutul supus testului. Dacă este necesar, utilizați un panel de anticorpi ca ajutor în identificarea reacțiilor fals negative. De asemenea, morfologia fiecărei probe de țesut trebuie examinată utilizând o secțiune colorată cu hematoxină și eozină la interpretarea oricărui rezultat imunohistochimic. Rezultatele morfologice ale pacientului și datele clinice pertinente trebuie interpretate de un patolog calificat.

LIMITĂRI

Limitări generale

- IHC este un proces de diagnostic cu pași multipli care presupune formarea specializată în selectarea reactivilor și secțiunilor de țesut adecvate, fixarea, prelucrarea, pregătirea lamei de imunohistochimie și interpretarea rezultatelor colorării.
- Colorarea țesuturilor depinde de manipularea și prelucrarea țesutului înainte de colorare. Fixarea inadecvată, congelarea, decongelarea, spălarea, uscarea, încălzirea, secționarea sau contaminarea cu alte țesuturi sau fluide poate produce artefacte, fixarea anticorpilor sau rezultate fals negative. Rezultatele contradictorii pot fi o consecință a variațiilor din metodele de fixare și înglobare sau a neregularităților inerente din cadrul țesutului.
- Contracolorarea excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea corectă a rezultatelor.
- Interpretarea clinică a oricărei colorări pozitive sau absenței acesteia trebuie evaluate în contextul istoricului clinic, al morfologiei și al altor criterii histopatologice. Interpretarea clinică a oricărui rezultat sau a absenței acestuia trebuie să fie completată de studii morfologice și controale adecvate, precum și de alte teste de diagnostic. Ține de responsabilitatea unui patolog calificat să cunoască anticorpii, reactivii și metodele utilizate pentru a interpreta preparatul colorat. Colorarea trebuie efectuată într-un laborator certificat, autorizat, sub supravegherea unui patolog care este responsabil de analiza lamelor colorate și de asigurarea caracterului adecvat al controalelor pozitive și negative.
- Anticorpii și reactivii VENTANA sunt fumiți la diluția optimă pentru utilizare, atunci când se respectă instrucțiunile puse la dispoziție. Orice abatere de la procedurile de testare recomandate poate invalida rezultatele așteptate. Trebuie implementate și documentate controalele adecvate. Utilizatorii care se abat de la procedurile de testare recomandate trebuie să accepte responsabilitatea privind interpretarea rezultatelor pacientului.
- Reactivii pot demonstra reacții neașteptate în țesuturi netestate anterior. Posibilitatea unor reacții neprevăzute, chiar și în grupurile de țesuturi testate, nu poate fi complet eliminată, din cauza variabilității biologice a exprimării antigenilor în neoplasme sau alte țesuturi patologice.^{7,8} Adresați-vă reprezentantului de asistență local, furnizându-i reacțiile neprevăzute documentate.
- Țesuturile de la persoane infectate cu virusul hepatitei B și care conțin antigenul de suprafață al hepatitei B (HBsAg) pot prezenta colorare nespecifică cu peroxidază din hrean.⁹
- Când se utilizează în pașii de blocare, serurile normale din aceeași sursă animală ca și antiserurile secundare pot duce la rezultate fals negative sau fals pozitive din cauza autoanticorpilor sau a anticorpilor naturali.
- Ca în cazul oricărui test de imunohistochimie, un rezultat negativ înseamnă că nu a fost detectat antigenul respectiv, nu că antigenul a lipsit din celulele sau țesutul supuse testului.

LIMITĂRI SPECIFICE

- Fiecare pas al procedurii aferente kitului de detecție a fost optimizat pe instrumentele BenchMark IHC/ISH și este prestabil. Din cauza variațiilor de fixare și prelucrare a țesuturilor, poate fi necesară creșterea sau scăderea timpului de incubare a anticorpului primar pentru probele individuale. Timpul de incubare anticorpului primar depinde de gradul de fixare a țesutului, și poate dura între 4 și 120 de minute. Pentru mai multe informații privind variabilele de fixare, consultați „Immunohistochemistry Principles and Advances”¹⁰ sau „Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist”.¹¹
- Kitul de detecție, în combinație cu anticorpii primari și accesorii VENTANA, detectează antigenul care supraviețuiește prelucrării de rutină și secționării țesutului.
- Acest kit de detecție a fost optimizat pentru utilizare cu soluție de spălare Reaction Buffer, anticorpi primari, accesorii și instrumente BenchMark IHC/ISH. Utilizarea unei soluții de spălare Reaction Buffer este importantă pentru funcționarea adecvată a kitului de detecție. Utilizatorii care nu respectă procedurile de testare recomandate răspund de interpretarea rezultatelor pacientului în acest condiții.
- Acest kit de detecție a fost optimizat pentru utilizarea cu LCS (Predilute) sau ULTRA LCS (Predilute). LCS este o soluție prediluată pentru lamelele de acoperire utilizată atât ca barieră între reactivii apoși și aer, cât și ca reactiv pentru eliminarea parafinei din probele de țesut în timpul procesului de deparafinare. Barierea LCS

reduce evaporarea și asigură un mediu apos stabil pentru reacțiile IHC sau de hibridizare in situ (ISH) efectuate pe instrumentele BenchMark IHC/ISH.

- Alți timpi și alte temperaturi de incubare decât cele specificate pot genera rezultate eronate. Utilizatorul trebuie să valideze orice astfel de schimbare.
- Este posibil ca nu toate kiturile de detecție să fie înregistrate pe fiecare instrument. Pentru mai multe informații, contactați reprezentantul de asistență local.
- Fixatorul recomandat pentru utilizarea cu sistemul de detecție OptiView este 10% Neutral Buffered Formalin (NBF). Utilizarea fixatorului Modified Davidson poate conduce la rezultate de colorare inacceptabile.

CARACTERISTICILE DE PERFORMANȚĂ

PERFORMANȚĂ ANALITICĂ

Performanța OptiView DAB IHC Detection Kit a fost evaluată prin studii de reproductibilitate și alte studii relevante. Întregul proces de colorare a fost efectuat utilizând protocolul specificat în fișa de descriere a metodei aferentă anticorpului pe instrumente BenchMark IHC/ISH, cu excepția cazului în care este specificat altfel.

Testarea a inclus:

Sensibilitate și specificitate

Testarea specificității pentru a demonstra detecția specifică anticorpilor primari de șoarece și iepure, precum și nivelurile acceptabile de colorare de fond nespecifică, pentru a asigura că interpretarea rezultatelor pozitive și negative nu este compromisă.

Testarea sensibilității pentru a demonstra capacitatea de a detecta anticorpii primari legați de nivelurile scăzute de antigeni cu modele de colorare adecvate.

Precizie

- Precizia în cadrul aceleiași testări și între testări
- Precizia în cadrul aceleiași platforme și între platforme.

În toate cazurile, probele de țesut au fost citite și dovedite ca fiind acceptabile pentru caracterul adecvat și calitatea colorării celulare morfologice. Toate studiile au îndeplinit criteriile de acceptanță.

DEPARANARE

- În cazul în care controlul pozitiv prezintă o colorare mai slabă decât cea preconizată, trebuie să verificați celelalte controale pozitive testate în cadrul aceleiași testări pe instrument, pentru a determina dacă acest lucru se datorează anticorpului primar sau unuia dintre reactivii secundari uzuali.
- În cazul în care controlul pozitiv este negativ, acesta trebuie verificat pentru a vă asigura că lama are eticheta cu codul de bare corect. Dacă lama este etichetată corect, trebuie să verificați celelalte controale pozitive testate în cadrul aceleiași testări pe instrument, pentru a determina dacă acest lucru se datorează anticorpului primar sau unuia dintre reactivii secundari uzuali. Este posibil ca țesuturile să fie prelevate, fixate sau deparafinizate incorect. Trebuie să urmați procedura adecvată pentru prelevare, depozitare și fixare.
- Îndepărtarea incompletă a parafinei poate duce la artefacte de colorare sau la colorare inexistentă.
 - Dacă toată parafina a fost îndepărtată de pe lamă, ciclul de colorare trebuie repetat cu ajutorul opțiunii de deparafinare extinsă, dacă este disponibilă.
 - În mod alternativ, poate fi efectuată o deparafinare manuală, fără instrumente. Dacă se utilizează opțiunea manuală, deselectați deparafinarea online din protocolul de colorare înainte de încărcarea lamelor pe instrument. Este nevoie de atenție suplimentară pentru asigurarea faptului că lamele nu se usucă înainte de ciclul de colorare.
- În cazul în care colorarea cu anticorpii specifici este prea intensă, trebuie să repetați testarea scurtând timpul de incubare cu intervale de 4 minute, până când este atinsă intensitatea dorită a colorației.
- Dacă secțiunile de țesut sunt spălate de pe lamă, lamele trebuie verificate pentru a vă asigura că sunt încărcate pozitiv.
- Pentru acțiuni corective, consultați secțiunea Procedura din Ghidul de utilizare a instrumentului sau contactați reprezentantul de asistență local.
- Dacă un dozator de reactiv nu dozează fluid, verificați camera de dozare a primerului sau meniscul pentru a depista corpuri străine sau particule, cum ar fi fibrele sau precipitatele. Dacă dozatorul este blocat, nu utilizați dozatorul și contactați reprezentantul dvs. de asistență local. În caz contrar, reamorsați dozatorul orientând dozatorul către un container de deșeuri, scoateți capacul duzei și apăsați în jos capul dozatorului. Consultați fișa de descriere a metodei aferentă

dozatorului în linie asociat cu P/N 760-700 pentru informații privind utilizarea adecvată.

- Dacă nu este selectat Inhibitorul de peroxidază înainte sau după anticorpus primar, poate apărea activitatea peroxidazei endogene. Setarea rețetei implicite este lipsa aplicării. Operatorul trebuie să selecteze când trebuie aplicat Inhibitorul de peroxidază la stabilirea unui protocol, dacă se dorește acest lucru.
- Colorarea nedorită a plasmei și a celulelor mastoide poate apărea ca rezultat al digestiei proteazei. Controlul de țesut negativ trebuie evaluat pentru a indica nivelul de colorare de fond comparativ cu rezultatul de colorare pozitivă.⁸

REFERINȚE

- 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.
- Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- 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.
- College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2009.
- 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.
- Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem. 1991;66(4):194-199.
- Hautzer NW, Wittkuhn JF, Elliott-McCaughey WT. Trypsin Digestion in Immunoperoxidase Staining. Jour of Histochem and Cytochem. 1980;28:52-53.
- 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.
- Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
- Taylor C, Cote RJ. Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist. 2nd Edition. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company; 1986.

NOTĂ: Punctul este utilizat întotdeauna în acest document ca separator zecimal pentru a marca limita dintre numărul întreg și părțile fracționale ale unui număr zecimal. Nu se utilizează separatoare pentru mii.

Simboluri

Ventana utilizează următoarele simboluri și semne în plus față de cele menționate în standardul ISO 15223-1 (pentru USA: consultați elabdoc. Roche.com/symbols pentru mai multe informații).



Numărul global al articolului comercial

Rx only

Pentru USA: Atenție: Legislația federală restricționează vânzarea acestui dispozitiv de către sau la ordinul unui medic.

ISTORICUL REVIZIILOR

Rev.	Actualizări
F	Au fost efectuate actualizări ale secțiunii Avertizări și măsuri de precauție și au fost actualizate în șablonul actual.

PROPRIETATE INTELECTUALĂ

VENTANA, BENCHMARK și OPTIVIEW sunt mărci comerciale ale Roche.

Toate celelalte nume de produs și mărci comerciale reprezintă proprietatea deținătorilor respectivi.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

INFORMAȚII DE CONTACT



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

