

VENTANA Magenta ISH DIG Detection Kit

REF

760-514

08507201001

IVD
 60

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор для детекции VENTANA Magenta ISH DIG Detection Kit представляет собой систему непрямого детекции DIG-меченных целевых участков. Набор предназначен для определения целевых участков нуклеиновых кислот при помощи пурпурного хромогена методом гибридизации in situ (ISH) в срезах фиксированных формалином и залитых в парафин тканей, окрашиваемых на приборе BenchMark IHC/ISH.

Интерпретация результатов окрашивания должна осуществляться квалифицированным врачом-патологоанатомом с учетом результатов гистологического исследования и необходимых клинических данных после сравнения с соответствующими контролями.

Данный реагент предназначен для диагностики in vitro (IVD).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ИНФОРМАЦИЯ

В методике гибридизации ISH для обнаружения конкретных целевых последовательностей ДНК или РНК в фиксированных срезах тканей используются меченые зонды. Целевые последовательности нуклеиновых кислот выделяются путем тепловой денатурации нуклеиновых кислот. Затем результат реакции охлаждают, чтобы меченый нуклеиновой кислотой зонд вступил в реакцию гибридизации с комплементарными последовательностями нуклеиновых кислот.

Метод непрямого обнаружения, применяемый в этом наборе, использует антитело против меченного гаптеном зонда, этап амплификации тирамида на основе HRP и систему субстрат-хромоген, опосредованную HRP (см. рисунок 1).

ПРИНЦИП ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

После гибридизации с помощью зонда и жесткой промывки связанный с мишенью зонд, меченный диоксигенином (DIG), обнаруживают с помощью меченного HRP антитела против DIG. Амплификация сигнала достигается за счет катализируемого HRP окисления связанного с тирамидом DIG с использованием H_2O_2 . Полученная в ходе реакции окисленная форма тирамида ковалентно связывается с остатками тирозина, увеличивая локальную концентрацию гаптена DIG. Этот дополнительный связанный DIG обнаруживают посредством второго применения меченного HRP антитела против DIG. Сигнал в итоге визуализируют посредством другой тирамидной реакции с использованием пурпурного красителя сульфородамина В, связанного с тирамидом.

Протокол окрашивания состоит из нескольких этапов, на которых реагенты инкубируют в течение предварительно установленного времени при строго определенной температуре. После завершения каждого этапа инкубации прибор BenchMark промывает срезы, чтобы удалить несвязанный материал, и наносит жидкое покрывное стекло для минимизации испарения реагентов на водной основе с предметного стекла. Результаты интерпретируются при помощи световой микроскопии и используются для дифференциальной диагностики патолофизиологических процессов, связанных или не связанных с положительным окрашиванием зонда.

Более подробную информацию о работе прибора см. в соответствующем руководстве пользователя.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалы, входящие в комплект поставки

VENTANA Magenta ISH DIG Detection Kit (VENTANA DIG Detection Kit) содержит реагент в количестве, достаточном для выполнения 60 тестов.

Один диспенсер, 24 мл	VENTANA Magenta ISH DIG HRP содержит меченные HRP мышиные моноклональные антитела против DIG (~1.0 мкг/мл) в буферном белковом растворе MOPS с консервантом ProClin.
Один диспенсер, 12 мл	VENTANA Magenta ISH DIG Tyramide Amplifier содержит тирамид, меченный DIG, (~4.01 мкг/мл), в водном буфере с консервантом ProClin (~10 % C_2H_6OS).
Один диспенсер, 12 мл	VENTANA Magenta ISH DIG Tyramide SRB Chromogen содержит тирамид, меченный SRB, (~295 мкг/мл), в водном буфере с консервантом ProClin (~20 % C_2H_6OS).

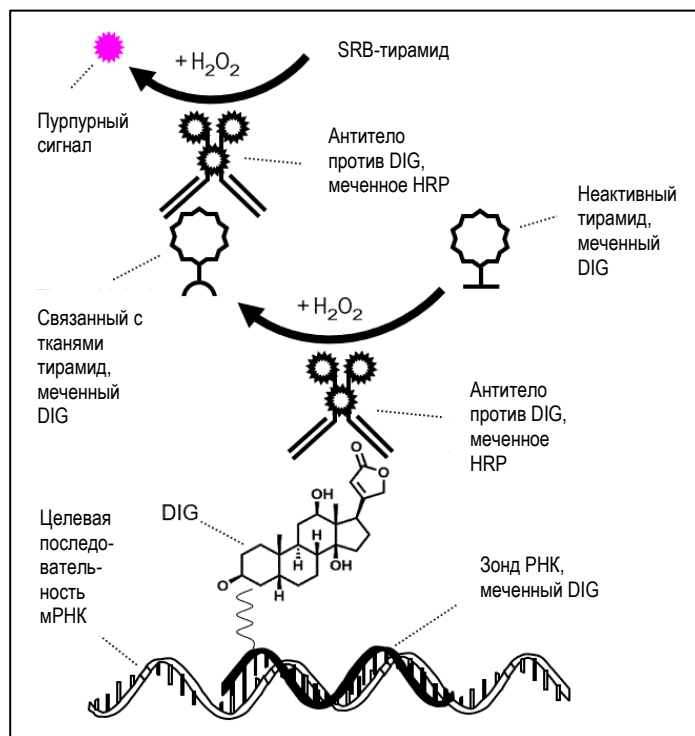


Рис. 1. VENTANA Magenta ISH DIG Detection Kit

Восстановление, смешивание, разбавление и титрование

Набор для детекции оптимизирован для использования с приборами BenchMark IHC/ISH. Восстановление, смешивание, разбавление и титрование входящих в набор реагентов не требуется. Дальнейшее разведение может привести к снижению качества окрашивания.

Необходимые материалы, не входящие в комплект

Реагенты для окрашивания, например зонды и дополнительные компоненты, в комплект поставки не входят. Продукты, перечисленные в технологической карте процесса, могут быть недоступны в некоторых странах. Проконсультируйтесь с представителем региональной службы поддержки.

Для окрашивания могут потребоваться следующие реагенты и материалы, не входящие в комплект поставки:

1. DIG-меченный зонд ISH;
2. VENTANA Silver ISH BF Detection Kit (№ по каталогу 760-513 / 08507031001);
3. ISH TSA Ancillary Kit (№ по каталогу 760-515 / 08507082001);
4. ISH Peroxidase Inhibitor (№ по каталогу 780-5061 / 07729014001);
5. HybReady Solution (№ по каталогу 780-4409 / 05917557001);
6. ISH Protease 3 (№ по каталогу 780-4149 / 05273331001);
7. Hematoxylin II (№ по каталогу 790-2208 / 05277965001);
8. Bluing Reagent (№ по каталогу 760-2037 / 05266769001);
9. Reaction Buffer Concentrate (10X) (№ по каталогу 950-300 / 05353955001);
10. SSC (10X) (№ по каталогу 950-110 / 05353947001);
11. EZ Prep Concentrate (10X) (№ по каталогу 950-102 / 05279771001);
12. ULTRA CC1 (№ по каталогу 950-224 / 05424569001);
13. ULTRA CC2 (№ по каталогу 950-223 / 05424542001);
14. ULTRA LCS (№ по каталогу 650-210 / 05424534001);
15. ultraView Silver Wash II (№ по каталогу 780-003 / 05446724001);
16. предметные стекла для микроскопа, Superfrost™ Plus;
17. прибор BenchMark IHC/ISH.
18. лабораторное оборудование общего назначения;

Хранение и стабильность

После получения продукта и пока он не используется, его следует хранить при температуре 2-8 °C. Не замораживать. Этот набор можно использовать сразу после извлечения из холодильника.

Чтобы обеспечить надлежащую доставку реагента и стабильность компонентов набора, после каждого использования необходимо закрывать диспенсеры крышками. Диспенсеры следует немедленно ставить в холодильник в вертикальном положении.

Для каждого набора указана дата истечения срока годности. При соблюдении условий хранения реагент остается стабильным до даты, указанной на этикетке. Не использовать реагент после истечения срока годности.

Отбор образцов и подготовка к анализу

Для использования с VENTANA DIG Detection Kit подходят подвергнутые стандартной обработке, фиксированные формалином и залитые в парафин ткани. В качестве фиксатора ткани рекомендуется использовать 10 % нейтральный забуференный формалин (NBF), продолжительность фиксации — от 6 до 72 часов¹.

Из образцов необходимо приготовить срезы толщиной 4 мкм и поместить их на положительно заряженные предметные стекла для микроскопа (Superfrost™ Plus). Перед окрашиванием на приборе BenchMark IHC/ISH предметные стекла необходимо высушить, чтобы удалить избыток воды между предметным стеклом и тканью. Различия толщины среза ткани и типа фиксации, недостаточная или чрезмерная фиксация или применение специальных методов обработки, таких как декальцификация препаратов костного мозга, может привести к вариативности результатов.

Положительно заряженные предметные стекла могут быть подвержены неблагоприятному воздействию окружающей среды, вследствие которого окрашивание при проведении любого анализа методом ISH дает неудовлетворительные результаты, например из-за недостаточного окрашивания или контрастного окрашивания ткани. Запросите у своего представителя Roche экземпляр документа Impact of environmental stress on various histology slide types (Неблагоприятные воздействия со стороны окружающей среды на различные типы предметных стекол с гистологическими срезами), чтобы лучше понять принцип использования предметных стекол такого типа.

Одновременно с исследованием неизвестных образцов рекомендуется проводить исследование любых контрольных предметных стекол. Следует учитывать, что при длительном воздействии света оттенок пурпурного сигнала может медленно меняться. Это не должно влиять на обычную клиническую практику. Тем не менее неиспользуемые предметные стекла следует хранить в защищенном от прямых лучей света месте.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Для диагностики in vitro (IVD)
2. Только для профессионального использования.
3. **ВНИМАНИЕ.** Федеральный закон США разрешает продажу этого изделия только врачами или по предписанию врача. (Rx Only).
4. Не использовать для проведения количества тестов, превышающего указанное.
5. В данном продукте в качестве консерванта используется раствор ProClin 300. Он относится к веществам раздражающего действия и при контакте с кожей может стать причиной раздражения. При обращении соблюдать разумные меры предосторожности. Избегайте попадания реагентов в глаза, на кожу и слизистые оболочки. Используйте защитную одежду и перчатки.
6. Материалы животного или человеческого происхождения должны рассматриваться как потенциально биологически опасные и утилизироваться с соблюдением надлежащих мер предосторожности. В случае контакта с ними необходимо следовать руководящим указаниям ответственных здравоохранительных органов^{2,3}.
7. Соблюдайте разумные меры предосторожности при обращении с реагентами. Избегайте попадания реагентов в глаза, на кожу и слизистые оболочки. При работе с предполагаемыми канцерогенами или токсичными материалами используйте одноразовые перчатки и надевайте подходящую защитную одежду.
8. При попадании реагентов на чувствительные участки промойте пораженные участки достаточным количеством воды. Избегайте вдыхания реагентов.
9. Перед началом цикла работы с прибором убедитесь, что контейнер для отходов пуст. В противном случае контейнер для отходов может

переполниться, что приведет к риску для пользователя поскользнуться и упасть.

10. Не допускайте микробного загрязнения реагентов поскольку это может стать причиной получения неверных результатов.
11. Дальнейшую информацию по использованию настоящего изделия см. в руководстве пользователя прибора BenchMark IHC/ISH и технологических картах процесса для всех необходимых компонентов на веб-сайте dialog.roche.com.
12. Проконсультируйтесь с местными и (или) государственными компетентными органами для получения информации о рекомендуемом способе утилизации.
13. Маркировка безопасности продукции в первую очередь соответствует директивам ЕС по СГС. Паспорт безопасности предоставляется профессиональному пользователю по запросу.
14. Чтобы сообщить о подозрениях на серьезные происшествя, связанные с данным устройством, обращайтесь в местное представительство компании Roche и в уполномоченные органы государства-участника или страны местонахождения пользователя.

Данный набор для детекции содержит компоненты, классифицируемые согласно регламенту (ЕС) № 1272/2008 следующим образом:

Табл. 1. Информация об опасности.

Опасность	Код	Заявление
	H317	Может вызывать аллергическую кожную реакцию.
	P261	Избегать вдыхания взвеси или паров.
	P272	Не выносить загрязненную одежду с рабочего места.
	P280	Надевать защитные перчатки.
	P333 + P313	При появлении раздражения или сыпи на коже обратитесь к врачу.
	P362 + P364	Снять загрязненную одежду и промыть ее перед повторным использованием.
	P501	Утилизировать содержимое/контейнер на утвержденных предприятиях по утилизации отходов.

Содержит смесь: 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин-3-она и 2-метил-2Н-изотиазолин-3-она (3:1). Может вызывать аллергическую реакцию.

ПРОЦЕДУРА ОКРАШИВАНИЯ

Набор для детекции VENTANA DIG Detection Kit предназначен для использования с приборами BenchMark IHC/ISH в сочетании с дополнительными реагентами VENTANA. Протоколы окрашивания можно выводить на дисплей, распечатывать и редактировать в порядке, описанном в руководстве пользователя прибора. Другие рабочие параметры прибора заранее установлены на заводе-изготовителе.

Методики окрашивания при помощи приборов BenchMark IHC/ISH приведены ниже. Подробные инструкции и дополнительные опции протокола см. в технологической карте процесса, прилагаемой к соответствующему зонду, или в руководстве пользователя вашего прибора.

Приборы BenchMark IHC/ISH

1. Нанести на предметное стекло этикетку со штрих-кодом в соответствии с выполняемым протоколом.
2. Загрузить зонды, соответствующие диспенсеры из набора для детекции и необходимые вспомогательные реагенты в лоток для реагентов и поместить их в прибор.
3. Проверить наличие основных жидкостей и опустошить контейнеры для отходов.
4. Поместить предметные стекла в прибор.
5. Запустить цикл окрашивания.
6. По завершении цикла извлечь предметные стекла из прибора.
7. Выполнить рекомендуемые процедуры обработки после выполнения автоматического окрашивания.

Рекомендуемые процедуры обработки после выполнения автоматического окрашивания

Примечание. Для полного обезвоживания следует часто менять кювету с этанолом; можно добавить третью кювету со 100 % этанолом.

1. Для удаления раствора Liquid Coverslip промыть предметные стекла в двух последовательных слабых растворах моющего средства для мытья посуды (не использовать моющие средства, предназначенные для автоматических моек).
2. Хорошо ополоснуть стекла дистиллированной водой примерно в течение 1 минуты. Стряхнуть избыток воды.
3. Перенести предметные стекла в кювету с 90 % этанолом приблизительно на 1 минуту.
4. Перенести предметные стекла в кювету с 100 % этанолом приблизительно на 1 минуту.
5. Перенести предметные стекла во вторую кювету с 100 % этанолом приблизительно на 1 минуту.
6. Перенести предметные стекла в кювету с ксилолом приблизительно на 1 минуту.
7. Перенести предметные стекла во вторую кювету с ксилолом приблизительно на 1 минуту.
8. Поместить покрывное стекло на препарат на предметном стекле. Следует учитывать, что некоторые заливочные среды несовместимы с VENTANA DIG Detection Kit (см. раздел «Ограничения»).

ПРОЦЕДУРА КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

Положительный тканевый контроль

При выполнении каждой процедуры окрашивания необходимо проводить анализ положительного тканевого контроля. Оптимальная лабораторная практика — помещение среза для положительного контроля на одно предметное стекло с образцом ткани пациента. Компоненты положительного окрашивания тканей используются для подтверждения того, что реагенты были нанесены и что прибор работает надлежащим образом. Данная ткань может содержать как положительно, так и отрицательно окрашиваемые клетки или компоненты ткани и использоваться в качестве как положительного, так и отрицательного тканевого контроля. Внутренние тканевые контроли используются по усмотрению главного исследователя или врача-патологоанатома. В качестве контрольных следует использовать образцы тканей, полученные при вскрытии, биопсии или в ходе хирургических операций. Образцы следует подготовить или зафиксировать точно таким же способом, как и исследуемые образцы. Использование срезов тканей, обработанных по процедуре, отличной от примененной для исследуемого образца, позволяет осуществлять сравнительный контроль для всех реагентов и этапов метода, связанных с фиксацией или обработкой ткани.

Заведомо положительные тканевые контроли следует использовать только для контроля правильности работы с обработанными тканями и аналитическими реагентами теста, а не в качестве вспомогательного средства при постановке конкретного диагноза на основании образцов пациента. Если не наблюдается положительного окрашивания положительных тканевых контролей, результаты тестового образца следует считать недействительными.

Рекомендации по выбору тканей для положительного тканевого контроля см. в соответствующей технологической карте процесса зонда.

Отрицательный тканевый контроль

Рекомендации приведены в соответствующей технологической карте процесса зонда.

Реагент положительного контроля

Рекомендации приведены в соответствующей технологической карте процесса зонда.

Необъяснимые расхождения

В случае необъяснимых различий контрольных образцов необходимо немедленно обратиться к представителю региональной службы поддержки. Результаты исследования образцов пациентов являются недействительными, если результаты контроля качества не соответствуют спецификациям. Выявите и устраните проблему, после чего повторите анализ образца пациента (см. раздел «Поиск и устранение неисправностей»).

Верификация анализа

Перед первым использованием реагента в рамках диагностической процедуры следует проверить рабочие характеристики реагента на серии образцов с известными характеристиками в отношении ISH (см. технологическую карту процесса, прилагаемую к соответствующему зонду, рекомендации по контролю качества, содержащиеся в College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program Anatomic Pathology Checklist⁴ и CLSI Approved Guideline⁵). Эти процедуры контроля качества следует повторять для каждой новой партии или реагента либо при изменении параметров анализа.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Применение VENTANA DIG Detection Kit вызывает ковалентное связывание пурпурного красителя с остатками тирозина рядом с последовательностью нуклеиновой кислоты, гибридизованной зондом. Перед интерпретацией результатов контроли и качество окрашенного продукта должны оцениваться врачом-патологоанатомом, имеющим опыт процедур ISH.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Общие ограничения

1. Гибридизация in situ (ISH) — это многоступенчатый процесс, который требует профессиональных знаний по выбору необходимых реагентов, подготовке образца, его обработке, подготовке предметного стекла и интерпретации результатов.
2. Результаты окрашивания зависят от обращения с тканью и ее подготовки на этапе до окрашивания. Ненадлежащее выполнение фиксации, замораживания, оттаивания, промывки, сушки, нагрева или микротомирования, а также загрязнение образца другими тканями и жидкостями может привести к появлению артефактов, накоплению реагентов или получению ложноотрицательных, или ложноположительных результатов. Несогласующиеся результаты могут быть получены вследствие несоблюдения режимов процессов фиксации и заливки или присущей исследуемой ткани неоднородности.
3. Избыточное или неполное контрастное окрашивание может привести к неверной интерпретации результатов.
4. Клиническая интерпретация окрашивания должна осуществляться с учетом истории болезни, морфологических данных и других гистопатологических критериев. Такая интерпретация должна проводиться квалифицированным врачом-патологоанатомом, который обязан быть знаком с характеристиками используемого красителя и методикой, использованной для приготовления данного окрашенного среза. Окрашивание должно проводиться в сертифицированной и лицензированной лаборатории под наблюдением врача-патологоанатома, который несет ответственность за просмотр окрашенных предметных стекол и обеспечение достоверности контролей.
5. Компания VENTANA поставляет реагенты в оптимальном разведении для проведения анализа при соблюдении инструкций. Любое отклонение от рекомендованных процедур проведения теста может привести к тому, что ожидаемые результаты будут недостоверны. Необходимо использовать надлежащие контрольные образцы и документировать их использование. Пользователи, не соблюдающие рекомендованные методики выполнения анализа, обязаны принимать на себя ответственность за интерпретацию результатов, полученных у пациента.
6. Применение реагентов может привести к неожиданным реакциям в ранее не исследованных тканях. В связи с биологической вариативностью тканей полностью исключить возможность возникновения неожиданных реакций нельзя даже для тканей тех групп, на которых данные реагенты уже тестировались. Документированные случаи неожиданных реакций следует доводить до сведения представителя региональной службы поддержки.

Особые ограничения

1. VENTANA DIG Detection Kit был разработан для использования со срезами тканей толщиной 4 мкм. В случае использования более тонких / более толстых срезов, чем указано, может наблюдаться некорректное окрашивание и (или) утрата ткани.
2. Некоторые заливочные среды могут быть несовместимы с пурпурным хромогеном. В таблице 2 указаны заливочные среды, для которых было проведено испытание.
3. Неиспользуемые окрашенные предметные стекла следует хранить в темном месте, чтобы предотвратить смену оттенка пурпурного хромогена.

4. Набор для детекции в сочетании с зондами и принадлежностями VENTANA обеспечивает детекцию последовательности нуклеиновой кислоты, сохранившейся после стандартной фиксации формалином, обработки ткани и микротомирования. Как и в любом тесте, отрицательный результат означает, что специфичная целевая последовательность не обнаружена в образце ткани. Это не равнозначно отсутствию целевой последовательности в исходной нефиксированной ткани.
5. Этот набор для детекции был оптимизирован для использования с реагентами VENTANA на приборах BenchMark IHC/ISH. Пользователи, допустившие отклонения от рекомендованной методики анализа, несут ответственность за интерпретацию результатов исследования образцов пациентов, полученных в таких обстоятельствах.
6. Наборы для детекции могут регистрироваться не на каждом приборе. Для получения дополнительной информации обратитесь к представителю региональной службы поддержки.

Табл. 2. Совместимость заливочных сред.

Заливочные среды	Производитель	Совместимо?
Acrytol	Electron Microscopy Sciences	Да
Consul-Mount	Epredia	Да
Cytoseal XYL	Richard Allan Scientific	Да
Cytoseal 60	Richard Allan Scientific	Да
Dako Mounting Medium	Dako	Да
Diamount	Diapath	Да
DPX Mountant	CDH	Да
Entellan	Merck	Да
Glycergel	Dako	Да
HE600	Roche	Да
HistoCore Spectra CV X1	Leica	Да
Histomount	National Diagnostics	Да
MicroMount	Leica	Да
Canada Balsam	Elabscience	Да
Permunt	Electron Microscopy Sciences	Да
Pertex	Histolab	Да
Epredia Synthetic Mountant	Epredia	Да
Sub-X Mounting	Leica	Да
Tissue-Tek Film	Sakura	Да
Entellan New	Merck	Нет
Eukitt	Merck	Нет

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Подробную информацию о рабочих характеристиках см. в технологической карте процесса, прилагаемой к соответствующему зонду.

ПОИСК И УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ

1. Убедитесь, что был сделан срез толщиной 4 мкм и была использована совместимая заливочная среда.
2. Убедитесь, что диспенсеры реагентов не засорены и не пусты. Проверьте работу диспенсера, расположив диспенсер над контейнером для отходов и сильно нажав на верхнюю часть цилиндра так, чтобы выделилась одна капля. Если диспенсер засорен или неверно дозирует, обратитесь к представителю региональной службы поддержки и не используйте диспенсер.
3. Если срезы ткани смываются с предметного стекла, необходимо убедиться, что стекла положительно заряжены.
4. Решения по поиску и устранению неисправностей для конкретного анализа см. в разделе «Поиск и устранение неисправностей» в технологической карте процесса, прилагаемой к соответствующему зонду.
5. Способы устранения проблем см. в разделе Процедура ОКРАШИВАНИЯ руководства пользователя прибора. Такую информацию также можно получить у представителя региональной службы поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

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.

ПРИМЕЧАНИЕ. В настоящем документе в дробных числах в качестве символа, отделяющего десятичные знаки от целого, всегда используется точка. Разделители для тысяч не используются.

Символы

Компания Ventana использует следующие символы и знаки в дополнение к указанным в стандарте ISO 15223-1 (определение символов для США см. на веб-сайте: dialog.roche.com):



Глобальный номер товара



Уникальный идентификатор устройства



Указывает на юридическое лицо, осуществляющее импорт медицинского изделия в страны Европейского союза.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

VENTANA, BENCHMARK, HYBREADY, *ultraView* и логотип VENTANA являются товарными знаками компании Roche. Все остальные товарные знаки являются собственностью их соответствующих владельцев.

Добавления, удаления или замены указаны на панели изменений в области поля страницы.

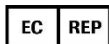
© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ



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

