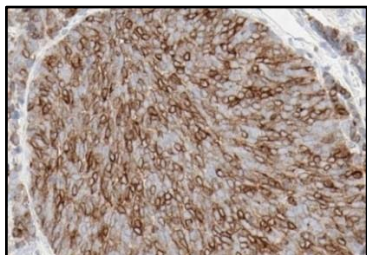


VENTANA DLL3 (SP347) Assay

REF

790-7016

08416931001

IVD
 50


Afb. 1. Expressie van VENTANA DLL3 (SP347) Assay op kleincellig longcarcinoom.

BEOOGD GEBRUIK

VENTANA DLL3 (SP347) Assay (DLL3 (SP347) Assay) is bedoeld voor laboratoriumgebruik voor de detectie van delta-achtig eiwit 3 (DLL3) in coupes van in formale gefixeerd, in paraffine ingebed (FFPE) weefsel bij kleuring op BenchMark IHC/ISH-instrumenten met behulp van de OptiView DAB IHC Detection Kit. Dit product dient te worden beoordeeld door een gekwalificeerd patholoog in combinatie met histologisch onderzoek,

relevante klinische informatie en gepaste controles.

Dit antilichaam is bedoeld voor in-vitrodiagnostisch (IVD) gebruik.

SAMENVATTING EN UITLEG

DLL3 (SP347) Assay gebruikt een monokonaal konijnenantilichaam tegen het DLL3-eiwit. De DLL3 (SP347) Assay-kleuring in tumorcellen kan een gespikkelde en/of diffuse cytoplasmatische en/of membraankleuring vertonen die gedeeltelijk of rondom kan zijn. Het delta-achtige eiwit 3 (DLL3) is een van de verschillende transmembraanliganden die betrokken zijn bij de regulatie van de Notch-route. De Notch-route is een belangrijk controlemechanisme voor celfate dat de celdifferentiatie, -proliferatie en -apoptose reguleert; deze cellulaire routes zijn van bijzonder belang in de ontwikkelingsbiologie en de instandhouding van stamcellen.¹ Ontregeling van deze route wordt in verband gebracht met ontwikkelingsstoornissen en kan leiden tot oncogenese in verschillende weefsels.¹ Tijdens de normale ontwikkeling remt het DLL3-eiwit de expressie van de Notch-signaleringsroute door de gekleefde Notch en DLL1 om te leiden naar respectievelijk endosomen en/of lysosomen of het Golgi-apparaat. Deze sequestratie voorkomt effectief de lokalisatie van het geactiveerde tussenliggende Notch-eiwit naar het celoppervlak. Overexpressie van Notch-1 blijkt apoptose te remmen in verschillende kankersoorten;² het remmen van de Notch-signaalroute is dus een potentieel kankertherapeutisch doelwit.^{2,3,4}

PRINCIPE VAN DE PROCEDURE

DLL3 (SP347) Assay gebruikt een monokonaal konijnenantilichaam tegen het DLL3-eiwit in in paraffine ingebedde weefselcoupes. Het specifieke antilichaam kan worden gevisualiseerd met behulp van de OptiView DAB IHC Detection Kit (Cat. nr. 760-700 / 06396500001). Raadpleeg de bijsluiter van de OptiView DAB IHC Detection Kit voor meer informatie.

Naast kleuring met DLL3 (SP347) Assay moet een tweede objectglaasje gekleurd worden met Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (cat.nr. 790-4795 / 06683380001).

GELEVERDE MATERIALEN

DLL3 (SP347) Assay bevat voldoende reagens voor 50 tests.

Eén dosering van 5 mL DLL3 (SP347)-antilichaam bevat ongeveer 5 µg monokonaal konijnenantilichaam.

Het antilichaam wordt verdund in 0.05 M Tris gebufferde zoutoplossing, 0.01 M EDTA, 0.05% Brij-35 met 0.3% dragereiwit en 0.05% natriumazide, een conserveermiddel.

De specifieke antilichaamconcentratie is ongeveer 1 µg/mL.

DLL3 (SP347)-antilichaam is een monokonaal konijnenantilichaam geproduceerd als gezuiverd celcultuursupernatant.

Raadpleeg het methodeblad van de VENTANA-detectiekits voor gedetailleerde beschrijvingen van: Principe van de procedure, Materiaal en methoden, Monsterafname

en -voorbereiding voor analyse, Kwaliteitscontroleprocedures, Probleemoplossing, Interpretatie van de resultaten en Beperkingen.

BENODIGDE, NIET-MEEGELEVERDE MATERIALEN

Kleuringsreagentia, zoals VENTANA-detectiekits en bijbehorende onderdelen, waaronder objectglaasjes voor negatieve en positieve weefselcontrole, worden niet meegeleverd.

Mogelijk zijn niet alle in de bijsluiter vermelde producten leverbaar in alle landen.

Raadpleeg uw plaatselijke vertegenwoordiger.

Voor de kleuring kunnen de volgende materialen en reagentia nodig zijn, die niet zijn meegeleverd:

1. Aanbevolen positieve en negatieve controleweefsels
2. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (cat.nr. 790-4795 / 06683380001)
3. Positief geladen objectglaasjes
4. Droogoven die op een temperatuur van 60 °C ± 5 °C kan worden gehouden.
5. Streepjescode-etiketten (geschikt voor de negatieve reagenscontrole en het primaire antilichaam dat wordt getest)
6. Xyleen (histologische kwaliteit)
7. Ethanol of reagensalcohol (histologische kwaliteit)
 - 100%-oplossing: Onverdunde ethanol of reagensalcohol
 - 95%-oplossing: Meng 95 delen ethanol of reagensalcohol met 5 delen gedeïoniseerd water
 - 80%-oplossing: Meng 80 delen ethanol of reagensalcohol met 20 delen gedeïoniseerd water
8. Gedeïoniseerd of gedestilleerd water
9. OptiView DAB IHC Detection Kit (cat.nr. 760-700 / 06396500001)
10. EZ Prep Concentrate (10X) (cat.nr. 950-102 / 05279771001)
11. Reaction Buffer Concentrate (10X) (cat.nr. 950-300 / 05353955001)
12. ULTRA LCS (Predilute) (cat.nr. 650-210 / 05424534001)
13. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (cat.nr. 950-224 / 05424569001)
14. LCS (Predilute) (cat.nr. 650-010 / 05264839001)
15. Cell Conditioning Solution (CC1) (cat.nr. 950-124 / 05279801001)
16. Hematoxylin II tegenkleuring (cat.nr. 790-2208 / 05277965001)
17. Bluing Reagent (cat.nr. 760-2037 / 05266769001)
18. Permanent afdekmedium (Permount Fisher cat.nr. SP15-500 of gelijkwaardig)
19. Dekglaasje (toereikend om weefsel te bedekken, zoals VWR cat.nr. 48393-060)
20. Geautomatiseerde coverslipper (zoals de Tissue-Tek SCA Automated Coverslipper)
21. Lichtmicroscop
22. Absorberende doekjes

OPSLAG EN STABILITEIT

Opslaan bij 2–8 °C na ontvangst en wanneer het product niet wordt gebruikt. Niet invriezen.

Doe telkens nadat de dispenser is gebruikt de dop er weer op en zet de dispenser vervolgens onmiddellijk rechtop in de koelkast om een juiste afgifte van het reagens en de stabiliteit van het antilichaam te waarborgen.

Op elke antilichaamdispenser wordt de uiterste gebruiksdatum vermeld. Bij juiste opslag is het reagens stabiel tot de op het etiket aangegeven datum. Gebruik het reagens niet na de uiterste gebruiksdatum.

MONSTERPREPARATIE

Routinematig verwerkte FFPE-weefsels zijn geschikt voor gebruik met dit primaire antilichaam bij gebruik met de OptiView DAB Detection Kit en BenchMark IHC/ISH-instrumenten. Het aanbevolen weefselfixatief is 10% neutraal gebufferde formaline.⁵ Fixatieven met een hoge concentratie alcohol (bv. 95% ethanol) of fixatieven op basis van glyoxal (bv. PREFER-fixatief) moeten worden vermeden. Objectglaasjes dienen onmiddellijk te worden gekleurd, aangezien de antigeniciteit van vrije weefselcoupes na verloop van tijd kan verminderen.

Het wordt aangeraden om in de kleuringsronde van onbekende monsters ook positieve en negatieve controles uit te voeren.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Voor in-vitrodiagnostisch (IVD) gebruik.
2. Uitsluitend voor professioneel gebruik.

- LET OP:** Volgens de Amerikaanse wetgeving mag dit hulpmiddel uitsluitend door of op voorschrift van een arts worden gekocht. (Rx Only)
- Niet gebruiken na het gespecificeerde aantal tests.
- Als conserveermiddel wordt in dit reagens een ProClin 300-oplossing gebruikt. Het is geclassificeerd als een middel dat irritatie en overgevoeligheid kan veroorzaken wanneer het in aanraking komt met de huid. Neem de benodigde voorzorgsmaatregelen bij de hantering. Vermijd contact van reagentia met de ogen, huid en slijmvliezen. Draag beschermende kleding en handschoenen.
- Positief geladen objectglaasjes kunnen gevoelig zijn voor omgevingsspanningen die kunnen leiden tot onjuiste kleuring van een IHC-assay (bijvoorbeeld gebrek aan primair antilichaam of tegenkleuring op het weefsel). Vraag uw vertegenwoordiger van Roche om een exemplaar van 'Impacts of Environmental Stresses on IHC Positively Charged Slides' om beter te begrijpen hoe u deze soorten objectglaasjes kunt gebruiken.
- Menselijk of dierlijk materiaal moet als biologisch gevaarlijk materiaal worden behandeld en met gepaste voorzorgsmaatregelen worden afgevoerd.
- Zorg ervoor dat reagentia niet met de ogen en slijmvliezen in aanraking komen. Indien de reagentia met gevoelige lichaamsdelen in aanraking komen, dient u deze met veel water te spoelen.
- Voorkom microbiële verontreiniging van reagentia; onjuiste resultaten kunnen hiervan het gevolg zijn.
- Raadpleeg voor meer informatie over het gebruik van dit hulpmiddel de gebruikershandleiding van het BenchMark IHC/ISH-instrument en de instructies voor het gebruik van alle benodigde componenten op dialog.roche.com.
- Raadpleeg de plaatselijke en/of nationale autoriteiten voor de aanbevolen afvoermethode.
- De productveiligheidskettering volgt voornamelijk de GHS-richtlijnen van de EU. Veiligheidsinformatieblad op verzoek verkrijgbaar voor professionele gebruikers.
- Neem contact op met de plaatselijke vertegenwoordiger van Roche en de bevoegde autoriteit van de lidstaat of het land waarin de gebruiker is gevestigd om ernstige incidenten met betrekking tot dit apparaat te melden.

Dit product bevat onderdelen die als volgt zijn geclassificeerd volgens de richtlijn (EG) nr. 1272/2008:

Tab. 1. Gevareninformatie.

Gevaar	Code	Verklaring
	H317	Kan een allergische huidreactie veroorzaken.
	H412	Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen.
	P261	Vermijd het inademen van damp of nevel.
	P273	Voorkom lozing in het milieu.
	P280	Draag beschermende handschoenen.
	P333 + P313	Bij huidirritatie of uitslag: onmiddellijk medisch advies/medische hulp inroepen.
	P362 + P364	Trek verontreinigde kleding uit en was deze voordat u ze opnieuw aantrekt.
	P501	Inhoud/verpakking afvoeren naar een erkende afvalverwerkingsinstallatie.

Dit product bevat CAS-nr. 55965-84-9, een reactiemassa van: 5-chloor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on en 2-methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1).

KLEURINGSPROCEDURE

Primair antilichamen van VENTANA zijn ontwikkeld voor gebruik op BenchMark IHC/ISH-instrumenten in combinatie met OptiView DAB IHC-detectiekits en accessoires. Raadpleeg Tab. 2 voor de aanbevolen kleuringsprotocollen.

Dit antilichaam is geoptimaliseerd voor incubatie waarvan de duur vastligt, maar de gebruiker moet de met dit reagens verkregen resultaten valideren.

De parameters voor de geautomatiseerde procedures kunnen worden getoond, afgedrukt en bewerkt overeenkomstig de procedure in de gebruiksaanwijzing van het instrument. Raadpleeg de bijsluiters van de gebruikte VENTANA-detectiekits voor meer informatie over immunohistochemische kleuringsprocedures.

Tab. 2. Aanbevolen kleuringsprotocol voor de DLL3 (SP347) Assay met OptiView DAB IHC Detection Kit op een BenchMark XT-instrument, BenchMark GX-instrument en BenchMark ULTRA-instrument.

Soort procedure	Methode
Bakken	Optioneel
Deparaffineren	Geselecteerd
Celconditionering (Antigeendemaskering)	BenchMark GX-instrument CC1, 88 minuten BenchMark XT-instrument CC1, 88 minuten BenchMark ULTRA-instrument ULTRA CC1, 80 minuten, 100 °C
Antilichaam (primair) of Rabbit Monoclonal Negative Control Ig	BenchMark GX-instrument 48 minuten, 37 °C BenchMark XT-instrument 32 minuten, 37 °C BenchMark ULTRA-instrument 32 minuten, 36 °C
Voorbereidende peroxidaseremmer	Geselecteerd
Tegenkleuring	Hematoxylin II, 4 minuten
Tegenkleuring achteraf	Bluing, 4 minuten

Wegens variatie in weefselfixatie en -bewerking en de algemene instrumenten en omgevingsomstandigheden in het lab, kan het nodig zijn de incubatietijd van het primaire antilichaam en de celconditionering of de proteasevoorbehandeling te verlengen of te bekorten, gebaseerd op de eigenschappen van het individuele monster, de toegepaste detectiemethode en de voorkeur van de beoordelaar. Raadpleeg 'Immunohistochemistry Principles and Advances' voor meer informatie over fixatievariabelen.⁶

POSITIEVE EN NEGATIEVE WEEFSELCONTROLE

Een voorbeeld van een positieve weefselcontrole is kleincellig longcarcinoomweefsel. Wanneer er sprake is van kleuring, vertonen de tumorcellen een gespikkelde en/of diffuse cytoplasmatische en/of DLL3-membraankleuring die gedeeltelijk of rondom kan zijn. Normaal longweefsel kan worden gebruikt als negatieve weefselcontrole, omdat het geen DLL3-kleuring vertoont. Pigment en bloed kunnen positief kleuren voor DLL3 en kunnen zelfs worden opgepikt in alveolaire macrofagen waardoor ze positief lijken te kleuren. Dit moet niet worden beschouwd als achtergrond- of onaanvaardbare kleuring.

INTERPRETATIE VAN DE KLEURING / TE VERWACHTEN RESULTATEN

De geautomatiseerde immunokleuringsprocedure van VENTANA veroorzaakt een bruin gekleurd (DAB) reactieproduct dat neerslaat op de antigeenlocaties die door de DLL3 (SP347) Assay worden gelokaliseerd.

Het cellulaire kleuringspatroon van de DLL3 (SP347) Assay is gespikkelde en/of diffuse cytoplasmatische en/of membraankleuring die gedeeltelijk of rondom kan zijn.

SPECIFIEKE BEPERKINGEN

- Histologische monsters moeten binnen 24 uur na afname gefixeerd worden met 10% neutrale gebufferde formaline gedurende 6-72 uur.
- Weefselcoupes met een dikte van ongeveer 4-6 µm moeten worden gesneden en op positief geladen objectglaasjes worden gemonteerd.
- Immunohistochemie is een diagnostisch proces dat uit meerdere stappen bestaat en waarvoor een gespecialiseerde training is vereist voor de selectie van de juiste reagentia, weefselselecties, de fixatie, de verwerking, de voorbereiding van het immunohistochemische objectglaasje en de interpretatie van de kleuringsresultaten.
- Weefselkleuring is afhankelijk van de manier waarop het weefsel voor de kleuring wordt behandeld en verwerkt. Door onjuist(e) fixatie, bevriezen, ontdooien, wassen, drogen, verwarming, opdelen, of contaminatie met andere weefsels of vloeistoffen kunnen artefacten ontstaan, antilichamen worden vastgehouden, of fout-negatieve resultaten worden verkregen. Inconsistente resultaten kunnen het gevolg zijn van

variaties in fixatie- en inbeddingsmethoden, of van inherente onregelmatigheden in het weefsel.

PRESTATIEKENMERKEN

Er zijn kleuringstests voor specificiteit, gevoeligheid en herhaalbaarheid uitgevoerd en de resultaten daarvan worden vermeld in Tab. 3 en Tab. 4 en in het gedeelte Herhaalbaarheid.

Specificiteit

Tab. 3. De specificiteit van de DLL3 (SP347) Assay is bepaald door het testen van in formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde normale weefsels.

Weefsel	Aantal positieve/totaal aantal gevallen	Weefsel	Aantal positieve/totaal aantal gevallen
Cerebrum (grote hersenen)	1/9	Maag	1/5
Cerebellum (kleine hersenen)	0/6	Dunne darm	0/6
Bijnier	5/6	Dikke darm	0/6
Ovarium	0/6	Lever	4/5
Pancreas	3/5	Tong (speekselklierweefsel)	0/6
Lymfeklier	0/2	Nier	0/6
Hypofyse	6/6	Prostaat	0/6
Testis	1/6	Uterus	0/2
Schildklier	1/6	Baarmoederhals	0/1
Thymusklier	0/6	Skeletspierweefsel	0/3
Borst	0/4	Huid	0/1
Milt	0/6	Perifeer zenuwweefsel	0/2
Amandel	0/6	Pleuraal mesothelweefsel	0/3
Beenmerg	0/4	Oog	1/3
Long	0/5	Larynx	2/3
Hart	0/6	Bijschildklier	0/3
Slokdarm	0/6	Blaas	0/3

Gevoeligheid

Tab. 4. De gevoeligheid van de DLL3 (SP347) Assay werd bepaald door het testen van verschillende in formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde neoplastische weefsels.

Pathologische bevinding	Aantal positieve/totaal aantal gevallen
Cerebrum – glioblastoom	1/1
Cerebrum – atypisch meningeoom	0/1
Cerebrum – kwaadaardige ependymoom	1/1

Pathologische bevinding	Aantal positieve/totaal aantal gevallen
Cerebrum – oligodendroglioom	1/1
Sereus ovariumadenocarcinoom	0/1
Ovariumadenocarcinoom	0/1
Pancreas – eilandceltumor	1/1
Pancreasadenocarcinoom	0/1
Testis – seminoom	1/1
Testis – embryonaal carcinoom	1/1
Schildklier – medullair carcinoom	1/1
Schildklier – papillair carcinoom	0/1
Borst – intraductaal carcinoom	0/1
Borst – invasief ductaal carcinoom	0/2
Milt – diffuus B-cellymfoom	0/1
Long – kleincellig carcinoom	1/1
Long – plaveiselcelcarcinoom	0/1
Long – adenocarcinoom	0/1
Slokdarm – plaveiselcelcarcinoom	0/1
Slokdarm – adenocarcinoom	0/1
Maag – mucineus adenocarcinoom	0/1
Adenocarcinoom van de dunne darm	0/1
Kwaadaardige stromale tumor in de dunne darm	1/1
Dikke darm – adenocarcinoom	0/1
Dikke darm – stromale tumor	0/1
Rectum – adenocarcinoom	0/1
Rectum – matig kwaadaardige stromale tumor	1/1
Lever – hepatocellulair carcinoom	1/1
Lever – hepatoblastoom	0/1
Nier – heldercellig carcinoom	0/1
Prostaat – adenocarcinoom	0/2
Uterus – adenocarcinoom	0/1
Uterus – heldercellig carcinoom	0/1
Cervix – plaveiselcelcarcinoom	1/2
Gestreept spierweefsel – embryonaal rhabdomyosarcoom	0/1
Rectum – kwaadaardig melanoom	1/1
Huid – basaalcelcarcinoom	0/1
Retroperitoneum – neuroblastoom	0/1
Peritoneum – kwaadaardig mesothelioom	0/1

Pathologische bevinding	Aantal positieve/totaal aantal gevallen
Lymfeklier – diffuus B-cellymfoom	1/2
Lymfeklier – Hodgkinlymfoom	1/1
Blaas – urotheelcarcinoom	0/1
Blaas – kwaadaardig leiomyosarcoom	0/1
Gladde spier – leiomyosarcoom	0/1

Herhaalbaarheid

Er werden herhaalbaarheidsstudies uitgevoerd voor DLL3 (SP347) Assay om het volgende aan te tonen:

- De reproduceerbaarheid van het antilichaam tussen partijen.
- De reproduceerbaarheid binnen en tussen runs op een BenchMark GX-instrument.
- De reproduceerbaarheid binnen en tussen runs op een BenchMark XT-instrument.
- De reproduceerbaarheid binnen en tussen runs op een BenchMark ULTRA-instrument.
- De reproduceerbaarheid tussen platforms van het BenchMark GX-, BenchMark XT- en BenchMark ULTRA-instrument.

Bij alle onderzoeken werd aan de aanvaardbaarheidscriteria voldaan.

LITERATUUR

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.

OPMERKING: Er wordt in dit document altijd een punt gebruikt als het decimaal scheidingsteken om de grens tussen het gehele getal en de fracties van een decimaal cijfer weer te geven. Er worden geen scheidingstekens gebruikt voor duizenden.

Symbolen

Ventana gebruikt de volgende symbolen en tekens in aanvulling op de symbolen en tekens in de norm ISO 15223-1 (voor de VS: zie dialog.roche.com voor een verklaring van de gebruikte symbolen):



Wereldwijd handelsproductnummer



Unieke hulpmiddelenidentificatie



Geeft de entiteit aan die verantwoordelijk is voor de import van het medisch hulpmiddel in de Europese Unie

REVISIEGESCHIEDENIS

Rev.	Aanpassingen
C	Aangepast: Geleverde materialen; Benodigde, niet meegeleverde materialen; Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen; Symbolen en intellectueel eigendom

INTELLECTUEEL EIGENDOM

VENTANA, BENCHMARK, OPTIVIEW en het VENTANA-logo zijn handelsmerken van Roche.

Alle andere handelsmerken zijn eigendom van hun respectievelijke eigenaren.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

CONTACTGEGEVENS



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

www.roche.com

