

ultraView Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit

REF 760-501
05269814001

IVD Σ 250

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Το ultraView Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit (ultraView AP Red detection kit) είναι ένα έμμεσο σύστημα, χωρίς βιοτίνη, για την ανίχνευση πρωτογενών αντισωμάτων IgG ποντικού, IgM ποντικού και κουνελιού με τη χρήση μικροσκοπίου φωτός. Το kit προορίζεται για εργαστηριακή χρήση για την ταυτοποίηση στόχων μέσω ανοσοϊστοχημείας (IHC) σε τομές ιστών μονιμοποιημένων με φορμαλίνη και εγκλεισμένων σε παραφίνη, οι οποίοι έχουν υποβληθεί σε χρώση σε όργανα BenchMark IHC/ISH.

Το προϊόν αυτό πρέπει να ερμηνεύεται από εξειδικευμένο παθολογοανατόμο, σε συνδυασμό με ιστολογική εξέταση, σχετικές κλινικές πληροφορίες και κατάλληλους μάρτυρες.

Αυτό το προϊόν προορίζεται για in vitro διαγνωστική (IVD) χρήση.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Η ανοσοϊστοχημεία είναι μια τεχνική που χρησιμοποιείται σε εργαστήρια για διαγνωστικούς σκοπούς. Στην IHC χρησιμοποιούνται ειδικά πρωτογενή αντισώματα για τον εντοπισμό και τη δέσμευση αντιγόνων σε μονιμοποιημένες ή κατεψυγμένες τομές ιστών. Η δέσμευση του αντισώματος στο αντιγόνο οπτικοποιείται με μια έμμεση μέθοδο ανίχνευσης. Στις συνηθέστερες τεχνικές για έμμεσες μεθόδους χρησιμοποιείται ένα δευτερογενές αντίσωμα που στοχεύει κατά του είδους του πρωτογενούς αντισώματος και ένα ένζυμο με αντίστοιχο σύστημα υποστρώματος-χρωμογόνου. Αυτός ο συνδυασμός έχει ως αποτέλεσμα ένα έγχρωμο ίζημα στη θέση δέσμευσης του ειδικού αντισώματος. Το ultraView AP Red detection kit χρησιμοποιεί μια έμμεση μέθοδο για την οπτικοποίηση των ειδικών αντισωμάτων που δεσμεύονται στα αντιγόνα με την εναπόθεση ενός κόκκινου χρωματιστού ιζήματος.

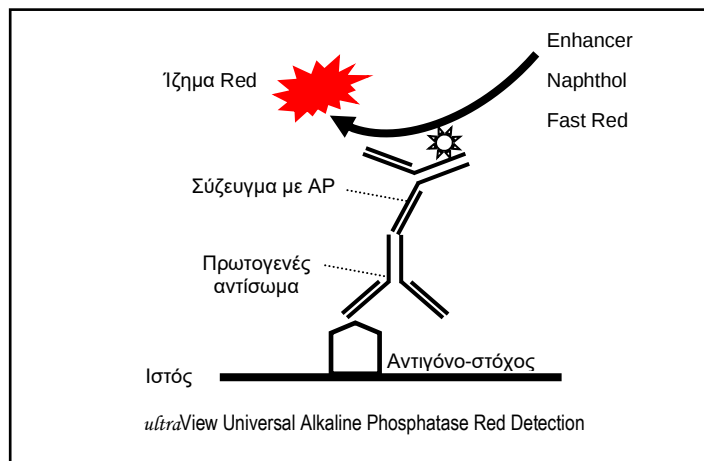
ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Το ultraView AP Red detection kit ανιχνεύει ειδικά αντισώματα ποντικού και κουνελιού που δεσμεύονται σε ένα αντιγόνο σε τομές ιστών μονιμοποιημένων με φορμαλίνη και εγκλεισμένων σε παραφίνη (FFPE). Το ειδικό αντίσωμα εντοπίζεται από ένα κοκτέιλ σηματοδότη με ένζυμο δευτερογενών αντισωμάτων, τα οποία εντοπίζουν το δεσμευμένο πρωτογενές αντίσωμα. Το σύμπλοκο οπτικοποιείται κατόπιν με υπόστρωμα Naphthol και χρωμογόνο Fast Red, που παράγει ένα κόκκινο ίζημα το οποίο είναι εύκολο να παρατηρηθεί με μικροσκόπιο φωτός.

Το πρωτόκολλο χρώσης περιλαμβάνει πολυάριθμα βήματα στα οποία τα αντιδραστήρια επωάζονται για προκαθορισμένους χρόνους σε συγκεκριμένες θερμοκρασίες. Στο τέλος κάθε βήματος επώασης, το όργανο BenchMark IHC/ISH πλένει τις τομές για να απομακρυνθεί το μη δεσμευμένο υλικό και εφαρμόζει μια υγρή καλυπτρίδα η οποία ελαχιστοποιεί την εξάτμιση των υδατικών αντιδραστηρίων από την αντικειμενοφόρο. Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων γίνεται με τη χρήση μικροσκοπίου φωτός και βοηθούν στη διαφορική διάγνωση παθολογικών διεργασιών, οι οποίες μπορεί να σχετίζονται ή να μη σχετίζονται με ένα συγκεκριμένο αντιγόνο.

Για λεπτομερέστερες πληροφορίες σχετικά με τη λειτουργία του οργάνου, ανατρέξτε στο κατάλληλο εγχειρίδιο χρήσης.

Στην Εικόνα 1 απεικονίζεται η έμμεση μέθοδος ανίχνευσης.



Εικ. 1. Αντίδραση του ultraView Universal Alkaline Phosphatase Red Detection.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Υλικά που παρέχονται

Το ultraView AP Red detection kit περιέχει ποσότητα αντιδραστηρίων που επαρκεί για 250 εξετάσεις.

Ένας διανεμητής των 25 mL

Το ultraView Universal AP Red Enhancer περιέχει περίπου 3% (v/v) MgCl₂ σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris, με διάλυμα ProClin 300 0.05% ως συντηρητικό.

Ένας διανεμητής των 25 mL

Το ultraView Universal AP Red Multimer περιέχει ένα κοκτέιλ σηματοδότη με αλκαλική φωσφατάση (AP) αντισωμάτων (περίπου 50 µg/mL) σε ρυθμιστικό διάλυμα με διάλυμα ProClin 300 0.05% ως συντηρητικό.

Ένας διανεμητής των 25 mL

Το ultraView Universal AP Red Naphthol περιέχει περίπου 1.0% (w/v) Naphthol σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris, με διάλυμα ProClin 300 0.10% ως συντηρητικό.

Ένας διανεμητής των 25 mL

Το ultraView Universal AP Red Fast Red A περιέχει περίπου 1.0% (w/v) Fast Red σε ρυθμιστικό διάλυμα οξικών, με διάλυμα ProClin 300 0.05% ως συντηρητικό.

Ένας διανεμητής των 25 mL

Το ultraView Universal AP Red Fast Red B περιέχει περίπου 1.0% (w/v) Fast Red σε ρυθμιστικό διάλυμα οξικών, με διάλυμα ProClin 300 0.05% ως συντηρητικό.

Ανασύσταση, ανάμιξη, αραιώση, τιτλοδότηση

Το ultraView AP Red detection kit έχει βελτιστοποιηθεί για χρήση σε όργανα BenchMark IHC/ISH. Δεν απαιτείται καμία ανασύσταση, ανάμιξη, αραιώση ή τιτλοδότηση των αντιδραστηρίων του kit.

Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Αντιδραστήρια χρώσης, όπως τα kit ανίχνευσης και τα συμπληρωματικά συστατικά της VENTANA, συμπεριλαμβανομένων των αντικειμενοφόρων αρνητικού και θετικού μάρτυρα ιστού, δεν παρέχονται.

Ενδέχεται να μην είναι διαθέσιμα σε όλες τις περιοχές όλα τα προϊόντα που παρατίθενται στο φύλλο μεθόδου. Συμβουλευτείτε τον τοπικό αντιπρόσωπο υποστήριξης.

Τα παρακάτω αντιδραστήρια και υλικά ενδέχεται να απαιτούνται για τη χρώση, αλλά δεν παρέχονται μαζί με το kit ανίχνευσης:

1. Πρωτογενές αντίσωμα
2. Αντιδραστήριο αρνητικού μάρτυρα
3. Θετικό και αρνητικό μάρτυρες ιστού (συμβουλευτείτε τα φύλλα μεθόδου των αντισωμάτων για τους συνιστώμενους τύπους)
4. Amplification Kit (αρ. καταλόγου 760-080 / 05266114001)
5. OptiView DAB IHC Detection Kit (αρ. καταλόγου 760-700 / 06396500001)

6. OptiView Amplification Kit (αρ. καταλόγου 760-099 / 06396518001 (50 εξετάσεις) ή αρ. καταλόγου 860-099 / 06718663001 (250 εξετάσεις))
7. ultraView Universal DAB Detection Kit (αρ. καταλόγου 760-500 / 05269806001)
8. Protease 1 (αρ. καταλόγου 760-2018 / 05266688001)
9. Protease 2 (αρ. καταλόγου 760-2019 / 05266696001)
10. Protease 3 (αρ. καταλόγου 760-2020 / 05266718001)
11. Hematoxylin (αρ. καταλόγου 760-2021 / 05266726001)
12. Hematoxylin II (αρ. καταλόγου 790-2208 / 05277965001)
13. Bluing Reagent (αρ. καταλόγου 760-2037 / 05266769001)
14. Reaction Buffer Concentrate (10X) (αρ. καταλόγου 950-300 / 05353955001)
15. Cell Conditioning Solution (CC1) (αρ. καταλόγου 950-124 / 05279801001)
16. Cell Conditioning Solution (CC2) (αρ. καταλόγου 950-123 / 05279798001)
17. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (αρ. καταλόγου 950-224 / 05424569001)
18. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (αρ. καταλόγου 950-223 / 05424542001)
19. Antibody Diluent (αρ. καταλόγου 251-018 / 05261899001)
20. EZ Prep Concentrate (10X) (αρ. καταλόγου 950-102 / 05279771001)
21. LCS (Predilute) (αρ. καταλόγου 650-010 / 05264839001)
22. ULTRA LCS (Predilute) (αρ. καταλόγου 650-210/05424534001)
23. Όργανο BenchMark IHC/ISH
24. Αντικειμενοφόροι μικροσκοπίου, θετικά φορτισμένοι
25. Καλυπτρίδα ή μέθοδος καλυπτρίδας επαρκής για την κάλυψη του ιστού
26. Εργαστηριακός εξοπλισμός γενικού σκοπού

Αποθήκευση και σταθερότητα

Αποθηκεύετε το προϊόν σε θερμοκρασία 2–8 °C κατά την παραλαβή και όταν δεν το χρησιμοποιείτε. Να μην καταψύχεται. Ο χρήστης πρέπει να επικυρώσει οποιοσδήποτε συνθήκες αποθήκευσης διαφέρουν από αυτές που ορίζονται στο φύλλο μεθόδου. Αυτό το kit ανίχνευσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί αμέσως μετά την απομάκρυνσή του από το ψυγείο.

Για να διασφαλιστεί η ορθή διανομή αντιδραστηρίου και η σταθερότητα του κάθε αντιδραστηρίου, να επαναπωματίσετε τον διανεμητή μετά από κάθε χρήση και να τοποθετείτε αμέσως τον διανεμητή μέσα στο ψυγείο σε όρθια θέση.

Κάθε kit ανίχνευσης έχει ημερομηνία λήξης. Εφόσον αποθηκεύεται σύμφωνα με τις προβλεπόμενες οδηγίες αποθήκευσης, το προϊόν παραμένει αναλλοίωτο μέχρι την ημερομηνία που αναγράφεται στην ετικέτα. Μην χρησιμοποιείτε το προϊόν μετά την ημερομηνία λήξης για την συσταθείσα μέθοδο αποθήκευσης. Δεν υπάρχουν οριστικές ενδείξεις που να υποδεικνύουν την αστάθεια αυτού του προϊόντος, συνεπώς, ταυτόχρονα με τα άγνωστα δείγματα θα πρέπει να αναλύονται θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες. Επικοινωνήστε αμέσως με τον τοπικό αντιπρόσωπο υποστήριξης εάν υπάρχει ένδειξη αστάθειας του αντιδραστηρίου.

Συλλογή δειγμάτων και προετοιμασία για ανάλυση

Οι ιστοί FFPE είναι κατάλληλοι για χρήση με το ultraView AP Red detection kit και το όργανο BenchMark IHC/ISH (δείτε την ενότητα Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται). Το συνιστώμενο μονιμοποιητικό ιστού είναι ουδέτερο ρυθμιστικό διάλυμα φορμαλίνης (NBF) 10%.² Ενδέχεται να προκύψουν ποικίλα αποτελέσματα, ως αποτέλεσμα του πάχους της τομής ιστού, του τύπου μονιμοποίησης, της ατελούς μακροχρόνιας μονιμοποίησης ή μετά από ειδικές διαδικασίες, όπως η αφαλάτωση παρασκευασμάτων μυελού των οστών.

Κάθε τομή πρέπει να κόβεται στο κατάλληλο πάχος για το χρησιμοποιούμενο πρωτογενές αντίσωμα και να τοποθετείται σε θετικά φορτισμένη γυάλινη αντικειμενοφόρο μικροσκοπίου. Οι αντικειμενοφόροι με την τομή ιστού πρέπει να στεγνώσουν σε όρθια θέση για τουλάχιστον 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου ώστε τυχόν περίσσεια νερού κάτω από την τομή να αποστραγγιστεί πριν από τη θέρμανση. Οι αντικειμενοφόροι πρέπει να ψηθούν/θερμανθούν για τουλάχιστον 1 ώρα σε κλίβανο θερμοκρασίας 60 °C ± 5 °C ή να στεγνώσουν στον αέρα σε θερμοκρασία 37 °C για έως 24 ώρες. Η ξήρανση και θέρμανση των αντικειμενοφόρων χρησιμοποιείται για να στεγνώσει ο ιστός μετά την επικάλυψη της αντικειμενοφόρου και για να ενισχυθεί η προσκόλληση του ιστού στο γυαλί. Ανατρέξτε στο φύλλο μεθόδου του πρωτογενούς αντισώματος για να δείτε τους περιορισμούς κατά τη θέρμανση. Η παρατεταμένη θέρμανση του ιστού θα μπορούσε να οδηγήσει σε μειωμένη διαθεσιμότητα του αντιγόνου.

Σωστά μονιμοποιημένοι και εγκλεισμένοι ιστοί που εκφράζουν το αντιγόνο θα παραμείνουν σταθεροί εφόσον αποθηκευτούν σε δροσερό χώρο (15–25 °C). Σύμφωνα με

τον νόμο Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) του 1988, 42CFR493.1259 (b) «Το εργαστήριο πρέπει να διατηρεί τις αντικειμενοφόρους για τουλάχιστον δέκα έτη μετά την ημερομηνία της εξέτασης και να διατηρεί τα ιστοτεμάχια των δειγμάτων για τουλάχιστον δύο έτη μετά την ημερομηνία της εξέτασης». Κάθε εργαστήριο πρέπει να επικυρώνει τη σταθερότητα των κομμένων αντικειμενοφόρων για τις δικές του διαδικασίες και περιβαλλοντικές συνθήκες αποθήκευσης.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

1. Για in vitro διαγνωστική (IVD) χρήση.
2. Μόνο για επαγγελματική χρήση.
3. Να μην χρησιμοποιείται πέραν του καθορισμένου αριθμού εξετάσεων.
4. Το διάλυμα ProClin 300 χρησιμοποιείται ως συντηρητικό σε αυτό το διάλυμα. Είναι ταξινομημένο ως ουσία που προκαλεί ερεθισμούς και μπορεί να προκαλέσει ευαισθητοποίηση μέσω της επαφής με το δέρμα. Λάβετε τις δέουσες προφυλάξεις κατά τον χειρισμό. Αποφύγετε την επαφή των αντιδραστηρίων με τους οφθαλμούς, το δέρμα και τις βλεννογόνους μεμβράνες. Χρησιμοποιήστε προστατευτικό ρουχισμό και γάντια.
5. Τα υλικά ανθρώπινης ή ζωικής προέλευσης πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικά βιολογικά επικίνδυνα υλικά και να απορρίπτονται με τη λήψη των κατάλληλων προφυλάξεων. Σε περίπτωση έκθεσης, θα πρέπει να τηρούνται οι οδηγίες υγείας των αρμόδιων αρχών.^{3,4}
6. Λάβετε τις δέουσες προφυλάξεις κατά τον χειρισμό των αντιδραστηρίων. Αποφύγετε την επαφή των αντιδραστηρίων με τους οφθαλμούς, το δέρμα και τις βλεννογόνους μεμβράνες. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και φοράτε κατάλληλο προστατευτικό εξοπλισμό κατά τον χειρισμό ενδεχομένων καρκινογόνων ή τοξικών υλικών.
7. Αν τα αντιδραστήρια έλθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, ξεπλύνετε με άφθονο νερό. Αποφύγετε την εισπνοή των αντιδραστηρίων.
8. Βεβαιωθείτε ότι το δοχείο αποβλήτων είναι κενό προτού ξεκινήσετε μια διαδικασία στο όργανο. Εάν δεν ληφθεί αυτή η προφύλαξη, το δοχείο αποβλήτων θα μπορούσε να υπερχειλίσει και ο χρήστης κινδυνεύει να γλιστρήσει και να πέσει.
9. Αποφύγετε τη μικροβιακή μόλυνση του αντιδραστηρίων καθώς κάτι τέτοιο θα μπορούσε να παράγει εσφαλμένα αποτελέσματα.
10. Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τη χρήση αυτής της συσκευής, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήσης του οργάνου BenchMark IHC/ISH, καθώς και στα φύλλα μεθόδου όλων των απαραίτητων συστατικών.
11. Συμβουλευτείτε τις τοπικές ή/και κρατικές αρχές για τον προσδιορισμό της συνιστώμενης μεθόδου απόρριψης.
12. Η σήμανση ασφάλειας του προϊόντος συμμορφώνεται κυρίως με τις οδηγίες GHS της ΕΕ. Το δελτίο δεδομένων ασφάλειας είναι διαθέσιμο για επαγγελματίες χρήστες κατόπιν αιτήματος.
13. Για να αναφέρετε πιθανολογούμενα σοβαρά συμβάντα που σχετίζονται με αυτήν τη συσκευή, επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της Roche και την αρμόδια αρχή του κράτους μέλους ή της χώρας όπου εδρεύει ο χρήστης.

Το παρόν kit ανίχνευσης περιέχει συστατικά που ταξινομούνται ως ακολούθως σύμφωνα με τον υπ. αριθ. 1272/2008 κανονισμό (ΕΚ):

Πίν. 1. Πληροφορίες περί επικινδυνότητας.

Κίνδυνος	Κωδικός	Δήλωση
	H317	Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση.
	P261	Αποφεύγετε να αναπνέετε σκόνη/αναθυμιάσεις/αέρια/σταγονίδια/ατμούς/εκνεφώματα.
	P272	Τα μολυσμένα ενδύματα εργασίας δεν πρέπει να βγαίνουν από το χώρο εργασίας.
	P280	Να φοράτε προστατευτικά γάντια.
	P333 + P313	Εάν παρατηρηθεί ερεθισμός του δέρματος ή εμφανιστεί εξάνθημα: Συμβουλευθείτε/Επισκεφθείτε γιατρό.
	P362 + P364	Βγάλτε τα μολυσμένα ρούχα και πλύντε τα πριν τα ξαναχρησιμοποιήσετε.

Κίνδυνος	Κωδικός	Δήλωση
	P501	Διάθεση του περιεχομένου/περιέκτη σε εγκεκριμένη μονάδα διάθεσης αποβλήτων.

Το παρόν προϊόν περιέχει CAS # 55965-84-9, μάζα αντίδρασης 5-χλωρο-2-μεθυλο-2H-ισοθειαζολ-3-όνης και 2-μεθυλο-2H-ισοθειαζολ-3-όνης (3:1).

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Το *ultraView* AP Red detection kit έχει σχεδιαστεί για χρήση σε όργανα BenchMark IHC/ISH σε συνδυασμό με πρωτογενή αντισώματα και συμπληρωματικά συστατικά της VENTANA. Οι παράμετροι για τις αυτοματοποιημένες διαδικασίες μπορούν να προβληθούν, να εκτυπωθούν και να διαμορφωθούν σύμφωνα με τη διαδικασία που περιγράφεται στο εγχειρίδιο χρήσης του οργάνου. Οι λοιπές παράμετροι λειτουργίας του οργάνου είναι προρρυθμισμένες εργοστασιακά.

Οι διαδικασίες χρώσης σε όργανα BenchMark IHC/ISH είναι ως ακολούθως. Για πιο λεπτομερείς οδηγίες και πρόσθετες επιλογές πρωτοκόλλων, ανατρέξτε στο αντίστοιχο εγχειρίδιο χρήσης. Το κατά πόσον ένα δείγμα απαιτεί Cell Conditioning εξαρτάται από το αντίσωμα. Ελέγξτε το φύλλο μεθόδου του αντισώματος για οδηγίες.

Όργανα BenchMark IHC/ISH

1. Τοποθετήστε την ετικέτα γραμμωτού κώδικα αντικειμενοφόρου που αντιστοιχεί στο πρωτόκολλο που πρόκειται να εκτελεστεί.
2. Φορτώστε το πρωτογενές αντίσωμα, τους κατάλληλους διανεμητές κιτ ανίχνευσης και τα απαιτούμενα βοηθητικά αντιδραστήρια στον δίσκο αντιδραστηρίων και τοποθετήστε τα στο όργανο.
3. Ελέγξτε τα ειδικά υγρά και αδειάστε τα απόβλητα.
4. Φορτώστε τις αντικειμενοφόρους στο όργανο.
5. Ξεκινήστε τη διαδικασία χρώσης.
6. Μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας, αφαιρέστε τις αντικειμενοφόρους από το όργανο.
7. Συνεχίστε με τις Συνιστώμενες διαδικασίες μετά από την επεξεργασία από το όργανο.

Ικανότητα χρώσης Dual

Η διαμόρφωση διπλής χρώσης συνίσταται σε μια διαδοχική χρώση, όπου το πρώτο πρωτογενές αντίσωμα υποβάλλεται σε χρώση με ανίχνευση DAB με χρήση είτε του *ultraView* Universal DAB Detection Kit (κιτ ανίχνευσης *ultraView* DAB) είτε του OptiView DAB IHC Detection Kit (κιτ ανίχνευσης OptiView DAB) και ακολουθεί ανίχνευση του δεύτερου πρωτογενούς αντισώματος με χρήση του *ultraView* AP Red detection kit. Στη διαμόρφωση διπλής χρώσης, το κιτ ανίχνευσης *ultraView* DAB και το κιτ ανίχνευσης OptiView DAB βελτιστοποιήθηκαν για συγκεκριμένους χρόνους επώασης με χρήση του CONFIRM anti-CD20 (L26) Primary Antibody [αντίσωμα CONFIRM anti-CD20 (L26)]. Το *ultraView* AP Red detection kit βελτιστοποιήθηκε για συγκεκριμένους χρόνους επώασης με χρήση του CONFIRM anti-CD3 (2GV6) Rabbit Monoclonal Primary Antibody [αντίσωμα CONFIRM anti-CD3 (2GV6)]. Ο χρήστης πρέπει να επικυρώσει τα αποτελέσματα που λαμβάνονται με αυτό το αντιδραστήριο. Για τα συνιστώμενα πρωτόκολλα διπλής χρώσης, ανατρέξτε στους παρακάτω πίνακες.

Πίν. 2. Συνιστώμενο πρωτόκολλο χρώσης για το κιτ ανίχνευσης *ultraView* DAB [με χρήση του αντισώματος CONFIRM anti-CD20 (L26)] και του *ultraView* AP Red detection kit [με χρήση του αντισώματος CONFIRM anti-CD3 (2GV6)] σε όργανο BenchMark IHC/ISH.

Τύπος διαδικασίας	Μέθοδος		
	GX	XT	ULTRA ή ULTRA PLUS*
Αποπαραφίνωση	Επιλεγμένη	Επιλεγμένη	Επιλεγμένη
Cell Conditioning (Αποκάλυψη αντιγόνου)	CC1, Ήπια	CC1, Ήπια	ULTRA CC1 36 λεπτά, 95 °C
Αντίσωμα (DAB)	6 λεπτά, 37 °C	16 λεπτά, 37 °C	16 λεπτά, 36 °C
Αντίσωμα DS (Red)	20 λεπτά, 37 °C	20 λεπτά, 37 °C	20 λεπτά, 36 °C
Αντίχρωση	Hematoxylin II, 4 λεπτά		
Μετά την αντίχρωση	Bluing, 4 λεπτά		

* Η συμφωνία μεταξύ των οργάνων BenchMark ULTRA και BenchMark ULTRA PLUS καταδείχθηκε με τη χρήση αντιπροσωπευτικών δοκιμασιών.

Πίν. 3. Συνιστώμενο πρωτόκολλο χρώσης για το κιτ ανίχνευσης OptiView DAB [με χρήση του αντισώματος CONFIRM anti-CD20 (L26)] και του *ultraView* AP Red detection kit [με χρήση του αντισώματος CONFIRM anti-CD3 (2GV6)] σε όργανο BenchMark IHC/ISH.

Τύπος διαδικασίας	Μέθοδος		
	GX	XT	ULTRA ή ULTRA PLUS*
Αποπαραφίνωση	Επιλεγμένη	Επιλεγμένη	Τυπική
Cell Conditioning (Αποκάλυψη αντιγόνου)	CC1, 32 λεπτά	CC1, 32 λεπτά	ULTRA CC1, 32 λεπτά, 100 °C
Αναστολέας υπεροξειδάσης πριν από το πρωτογενές αντίσωμα	Επιλεγμένη	Επιλεγμένη	Επιλεγμένη
Αντίσωμα (DAB)	6 λεπτά, 37 °C	8 λεπτά, 37 °C	16 λεπτά, 36 °C
OptiView HQ Linker	8 λεπτά (προεπιλογή)	8 λεπτά (προεπιλογή)	8 λεπτά (προεπιλογή)
OptiView HRP Multimer	8 λεπτά (προεπιλογή)	8 λεπτά (προεπιλογή)	8 λεπτά (προεπιλογή)
Αντίσωμα DS (Red)	20 λεπτά, 37 °C	20 λεπτά, 37 °C	20 λεπτά, 36 °C
Αντίχρωση	Hematoxylin II, 4 λεπτά		
Μετά την αντίχρωση	Bluing, 4 λεπτά		

* Η συμφωνία μεταξύ των οργάνων BenchMark ULTRA και BenchMark ULTRA PLUS καταδείχθηκε με τη χρήση αντιπροσωπευτικών δοκιμασιών.

Λόγω ποικιλίας στη μονιμοποίηση και την επεξεργασία του ιστού, καθώς και λόγω των γενικών καταστάσεων του οργάνου και του περιβάλλοντος του εργαστηρίου, ενδέχεται να χρειαστεί να αυξηθεί ή να μειωθεί η επώαση πρωτογενούς αντισώματος ή η κυτταρική προετοιμασία ανάλογα με το κάθε ξεχωριστό δείγμα, την ανίχνευση που χρησιμοποιείται

και την προτίμηση του εμπειρογνώμονα. Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τους παράγοντες που επηρεάζουν τη μονιμοποίηση, ανατρέξτε στο έγγραφο «Immunohistochemistry Principles and Advances».⁵

Συνιστώμενες διαδικασίες μετά από την επεξεργασία από το όργανο

Σημείωση: Το χρωμογόνο Fast Red είναι διαλυτό σε αλκοόλη και ακετόνη. Μη χρησιμοποιείτε λουτρά αλκοόλης ή ακετόνης ή παρατεταμένες πλύσεις με ξυλόλη για την ξήρανση και τον καθαρισμό των αντικειμενοφόρων πλακών.

1. Για να απομακρύνετε το διάλυμα Liquid Coverslip, πλύνετε τις αντικειμενοφόρους σε 2 διαδοχικά διαλύματα ενός ήπιου απορρυπαντικού πιάτων (μη χρησιμοποιείτε απορρυπαντικό που έχει σχεδιαστεί για αυτοματοποιημένα πλυντήρια πιάτων).
2. Εκπλύνετε τις αντικειμενοφόρους με αποιονισμένο νερό, για 1 λεπτό περίπου. Τινάζτε την περίσσεια νερού.
3. Στεγνώστε τις αντικειμενοφόρους σε κλίβανο (συνιστάται να τοποθετηθούν για 15–30 λεπτά τουλάχιστον σε κλίβανο με θερμοκρασία 45–60 °C) ή αφήστε τις να στεγνώσουν στον αέρα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ο χρόνος και η θερμοκρασία ξήρανσης διαφέρει ανάλογα με τις συνθήκες περιβάλλοντος. Βεβαιωθείτε ότι οι αντικειμενοφόροι έχουν στεγνώσει εντελώς προτού τις επικαλύψετε με καλυπτρίδες.
4. Μεταφέρετε τις αντικειμενοφόρους σε λουτρό ξυλόλης για ένα γρήγορο πλύσιμο, περίπου 30 δευτερολέπτων.
5. Τοποθετήστε την καλυπτρίδα στην αντικειμενοφόρο. Για βέλτιστα αποτελέσματα, χρησιμοποιήστε ένα επικαλυπτικό μέσο που να είναι συμβατό με υποστρώματα αλκαλικής φωσφατάσης.

Διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου

Θετικός μάρτυρας ιστού

Πρέπει να αναλύεται ένας θετικός μάρτυρας ιστού για κάθε διαδικασία χρώσης που εκτελείται. Η βέλτιστη εργαστηριακή πρακτική είναι να συμπεριλαμβάνεται μια τομή θετικού μάρτυρα στην ίδια αντικειμενοφόρο με τον προς εξέταση ιστό του ασθενούς. Αυτή η πρακτική βοηθά να εντοπιστεί τυχόν αποτυχία στην εφαρμογή του πρωτογενούς αντισώματος ή άλλου κρίσιμου αντιδραστήριου στην αντικειμενοφόρο ασθενούς προς εξέταση. Ένας ιστός με ασθενή θετική χρώση είναι καταλληλότερος για βέλτιστο ποιοτικό έλεγχο. Τα συστατικά ιστού με θετική χρώση χρησιμοποιούνται για την επιβεβαίωση της εφαρμογής του αντισώματος και της σωστής λειτουργίας του οργάνου. Ο ιστός αυτός μπορεί να περιέχει κύτταρα ή συστατικά ιστού με θετική όσο και αρνητική χρώση και να λειτουργεί ως θετικός και αρνητικός ιστός-μάρτυρας ταυτόχρονα. Οι ιστοί-μάρτυρες θα πρέπει να προέρχονται από πρόσφατη νεκρωσία ή βιοψία ή να είναι χειρουργικά δείγματα και να έχουν παρασκευασθεί ή μονιμοποιηθεί το συντομότερο δυνατό κατά τρόπο πανομοιότυπο με τις προς εξέταση τομές ιστών. Τέτοιου είδους ιστοί μπορεί να ελέγχουν όλα τα βήματα της διαδικασίας από την προετοιμασία του ιστού έως τη χρώση. Με τη χρήση τομής ιστού μονιμοποιημένου ή επεξεργασμένου διαφορετικά από το προς εξέταση δείγμα, θα υπάρχει μάρτυρας για όλα τα αντιδραστήρια και τα βήματα της μεθόδου εκτός από τη μονιμοποίηση και την επεξεργασία ιστού.

Οι γνωστοί θετικοί μάρτυρες ιστού θα πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο για την παρακολούθηση της σωστής απόδοσης των επεξεργασμένων ιστών των αντιδραστηρίων εξέτασης και όχι ως βοήθημα για τον προσδιορισμό ειδικής διάγνωσης των δειγμάτων ασθενών. Εάν οι θετικοί μάρτυρες ιστού δεν εμφανίσουν θετική χρώση, τα αποτελέσματα των εξεταζόμενων δειγμάτων θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

Αρνητικός μάρτυρας ιστού

Ο ίδιος ιστός που χρησιμοποιείται για τον θετικό μάρτυρα ιστού μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αρνητικός μάρτυρας ιστού. Η ποικιλία τύπων κυτάρων στις περισσότερες τομές ιστού παρέχει θέσεις εσωτερικού αρνητικού μάρτυρα, αλλά αυτό θα πρέπει να επαληθεύεται από τον χρήστη. Τα συστατικά που δεν προκαλούν χρώση θα πρέπει να καταδεικνύουν την απουσία ειδικής χρώσης και να παρέχουν μια ένδειξη χρώσης υποβάθρου (δηλ. κηλίδωση ή οπαλισμός). Σε περίπτωση ειδικής χρώσης στις θέσεις αρνητικού μάρτυρα ιστού, τα αποτελέσματα των δειγμάτων ασθενούς θα πρέπει να θεωρηθούν άκυρα.

Ανεξήγητες ασυμφωνίες

Τυχόν ανεξήγητες ασυμφωνίες στους μάρτυρες θα πρέπει να αναφέρονται αμέσως στον τοπικό αντιπρόσωπο υποστήριξης. Εάν τα αποτελέσματα του ποιοτικού ελέγχου δεν πληρούν τις προδιαγραφές, τα αποτελέσματα των ασθενών είναι άκυρα. Δείτε την ενότητα Αντιμετώπιση προβλημάτων στο παρόν φύλλο μεθόδου. Εντοπίστε και διορθώστε το πρόβλημα, κατόπιν επαναλάβετε την εξέταση των δειγμάτων των ασθενών.

Αντιδραστήριο αρνητικού μάρτυρα

Ένα αντιδραστήριο αρνητικού μάρτυρα πρέπει να αναλύεται για κάθε δείγμα, ώστε να διευκολύνεται η ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Αντί πρωτογενούς αντισώματος, χρησιμοποιείται ένας αρνητικός μάρτυρας αντιδραστήριου για την αξιολόγηση της μη ειδικής χρώσης (δηλ. κηλίδωση ή οπαλισμός). Η αντικειμενοφόρος πρέπει να υποβάλλεται σε χρώση με τον κατάλληλο αρνητικό μάρτυρα αντιδραστήριου. Το αραιωτικό μόνο του μπορεί να χρησιμοποιηθεί εναλλακτικά αντί για τους αρνητικούς μάρτυρες αντιδραστήριου που περιγράφηκαν προηγουμένως. Η περίοδος επώασης για τον αρνητικό μάρτυρα αντιδραστήριου πρέπει να είναι πανομοιότυπη με την περίοδο επώασης του πρωτογενούς αντισώματος.

Όταν χρησιμοποιούνται ομάδες με αρκετά αντισώματα σε σειριακές τομές, ένας αρνητικός μάρτυρας αντιδραστήριου σε μια αντικειμενοφόρο μπορεί να λειτουργήσει ως αρνητικός ή μη ειδικός δεσμευτικός μάρτυρας υποβάθρου για άλλα αντισώματα.

Επαλήθευση της δοκιμασίας

Πριν από την αρχική χρήση ενός πρωτογενούς αντισώματος ή συστήματος χρώσης σε μια διαγνωστική διαδικασία, η ειδικότητα του πρωτογενούς αντισώματος θα πρέπει να επαληθευτεί με την εξέταση μιας σειράς ιστών με γνωστά χαρακτηριστικά απόδοσης ανοσοστοχμείας που αντιπροσωπεύουν γνωστούς θετικούς και αρνητικούς ιστούς (ανατρέξτε στην ενότητα Θετικός μάρτυρας ιστού στο φύλλο μεθόδου του πρωτογενούς αντισώματος, καθώς και στις συστάσεις ποιοτικού ελέγχου των College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist,⁶ ή CLSI Approved Guideline⁷ ή και των δύο εγγράφων). Αυτές οι διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου πρέπει να επαναλαμβάνονται για κάθε νέα παρτίδα αντισωμάτων ή κάθε φορά που υπάρχει αλλαγή στις παραμέτρους της δοκιμασίας. Οι ιστοί που παρατίθενται στην ενότητα Χαρακτηριστικά απόδοσης του πρωτογενούς αντισώματος είναι κατάλληλοι για επαλήθευση της δοκιμασίας.

Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Το *ultraView* AP Red detection kit προκαλεί την ιζηματοποίηση ενός κόκκινου χρωματιστού προϊόντος αντίδρασης στις θέσεις αντιγόνου που εντοπίζονται από το πρωτογενές αντίσωμα. Η αξιολόγηση των μαρτύρων και του προϊόντος που υποβλήθηκε σε χρώση πρέπει να προηγηθεί της ερμηνείας των αποτελεσμάτων και πρέπει να γίνει από εξειδικευμένο παθολογοανατόμο, εξοικειωμένο με τις διαδικασίες ανοσοστοχμείας. Η χρώση των αρνητικών μαρτύρων πρέπει να σημειωθεί πρώτη, και αυτά τα αποτελέσματα να συγκριθούν με το υλικό που έχει υποβληθεί σε χρώση για να επαληθευτεί ότι το σήμα που παράγεται δεν είναι το αποτέλεσμα μη ειδικών αλληλεπιδράσεων.

Θετικός μάρτυρας ιστού

Ο μάρτυρας ιστού με θετική χρώση θα πρέπει να εξετάζεται πρώτα ώστε να διασφαλιστεί η σωστή λειτουργία όλων των αντιδραστηρίων. Η παρουσία ενός προϊόντος αντίδρασης του ενδεξιμένου χρώματος εντός των κυττάρων-στόχων υποδεικνύει θετική αντιδραστικότητα. Ανάλογα με τη διάρκεια της επώασης και την ισχύ της αιματοξυλίνης που χρησιμοποιήθηκε, η διαδικασία αντίχρωσης θα οδηγήσει σε ανοιχτό έως σκούρο μπλε χρωματισμό των πυρήνων των κυττάρων. Η υπερβολική ή ανεπαρκής αντίχρωση μπορεί να επηρεάσει την ορθή ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Εάν ο θετικός μάρτυρας ιστού δεν εμφανίσει θετική χρώση, οποιαδήποτε αποτελέσματα των υπό εξέταση δειγμάτων θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

Αρνητικός μάρτυρας ιστού

Ο αρνητικός μάρτυρας ιστού πρέπει να εξεταστεί μετά τον θετικό μάρτυρα ιστού ώστε να επαληθευτεί η ειδική σήμανση του αντιγόνου-στόχου από το πρωτογενές αντίσωμα. Η απουσία ειδικής χρώσης στον αρνητικό μάρτυρα ιστού επιβεβαιώνει την έλλειψη διασταυρούμενης αντιδραστικότητας αντισώματος στα κύτταρα ή στα κυτταρικά συστατικά. Σε περίπτωση ειδικής χρώσης του αρνητικού μάρτυρα ιστού, τα αποτελέσματα του δείγματος ασθενούς θα πρέπει να θεωρηθούν άκυρα.

Η μη ειδική χρώση, εφόσον υπάρχει, θα είναι διάχυτη. Επίσης, ενδέχεται να παρατηρηθεί σποραδική ελαφριά χρώση συνδετικού ιστού σε τομές ιστών που έχουν υποστεί υπερβολική μονιμοποίηση σε φορμαλίνη. Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της χρώσης θα πρέπει να χρησιμοποιούνται τα άθικτα κύτταρα. Τα νεκρωτικά ή αλλοιωμένα κύτταρα συχνά χρωματίζονται κατά μη ειδικό τρόπο.

Ιστός ασθενούς

Τα δείγματα του ασθενούς θα πρέπει να εξετάζονται τελευταία. Η ένταση της θετικής χρώσης θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο τυχόν μη ειδικής χρώσης υποβάθρου (δηλ. κηλίδωση ή οπαλισμός) του αρνητικού μάρτυρα αντιδραστήριου. Όπως συμβαίνει με κάθε ανοσοστοχμική εξέταση, ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το εν λόγω αντιγόνο δεν ανιχνεύτηκε και όχι ότι το αντιγόνο δεν υπάρχει στα κύτταρα ή στον ιστό

που υποβλήθηκε στη δοκιμασία. Εάν είναι απαραίτητο, χρησιμοποιήστε μια ομάδα αντισωμάτων ως βοήθημα στην αναγνώριση των ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων. Κατά την ερμηνεία οποιουδήποτε ανοσοϊστοχημικού αποτελέσματος, η μορφολογία του κάθε δείγματος ιστού θα πρέπει επίσης να εξετάζεται με τη χρήση τομής που έχει υποβληθεί σε χρώση με αιματοξυλίνη και ηωσίνη. Τα μορφολογικά ευρήματα του ασθενούς και τα σχετικά κλινικά δεδομένα πρέπει να ερμηνεύονται από εξειδικευμένο παθολογοανατόμο.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Γενικοί περιορισμοί

1. Η IHC είναι μια διαγνωστική διαδικασία πολλαπλών βημάτων που απαιτεί εξειδικευμένη εκπαίδευση στην επιλογή των κατάλληλων αντιδραστηρίων, στην επιλογή των ιστών, στη μονιμοποίηση, επεξεργασία και προετοιμασία της αντικειμενοφόρου ανοσοϊστοχημείας και στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων χρώσης.
2. Η χρώση ιστού εξαρτάται από τον χειρισμό και την επεξεργασία του ιστού πριν από τη χρώση. Η ακατάλληλη μονιμοποίηση, κατάψυξη, απόψυξη, πλύση, ζήρανση, θέρμανση, τομή ή μόλυνση από άλλους ιστούς ή υγρά μπορεί να οδηγήσει σε τεχνουργήματα, παγίδευση αντισώματος ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Τυχόν ασυνεπή αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται στις διαφορετικές μεθόδους μονιμοποίησης και έγκλεισης ή σε εγγενείς ανωμαλίες εντός του ιστού.
3. Η υπερβολική ή ανεπαρκής αντίχρωση μπορεί να επηρεάσει την ορθή ερμηνεία των αποτελεσμάτων.
4. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε θετικής χρώσης ή απουσίας θετικής χρώσης πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού, της μορφολογίας και άλλων ιστοπαθολογικών κριτηρίων. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή απουσίας χρώσης πρέπει να συμπληρώνεται με μελέτες μορφολογίας και κατάλληλους μάρτυρες, καθώς και άλλες διαγνωστικές εξετάσεις. Αποτελεί ευθύνη του εκάστοτε εξειδικευμένου παθολογοανατόμου να είναι εξοικειωμένος με τα αντισώματα, τα αντιδραστήρια και τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την ερμηνεία του παρασκευασμένου προϊόντος χρώσης. Η χρώση πρέπει να εκτελεστεί σε ένα πιστοποιημένο εργαστήριο με άδεια λειτουργίας υπό την εποπτεία ενός παθολογοανατόμου που έχει ευθύνη να ελέγχει τις αντικειμενοφόρους που υποβάλλονται σε χρώση και να διασφαλίζει την καταλληλότητα θετικών και αρνητικών μαρτύρων.
5. Τα αντισώματα και αντιδραστήρια της VENTANA παρέχονται σε βέλτιστη αραιώση για χρήση όταν ακολουθούνται οι παρεχόμενες οδηγίες. Οποιαδήποτε παρέκκλιση από τις συνιστώμενες διαδικασίες εξέτασης μπορεί να καταστήσει άκυρα τα αναμενόμενα αποτελέσματα. Πρέπει να εφαρμόζονται και να τηρούνται οι κατάλληλοι έλεγχοι. Οι χρήστες που παρεκκλίνουν από τις συνιστώμενες διαδικασίες εξέτασης πρέπει να αναλάβουν την ευθύνη για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων ασθενών.
6. Τα αντιδραστήρια μπορεί να εκδηλώσουν μη αναμενόμενες αντιδράσεις σε ιστούς που δεν έχουν εξεταστεί στο παρελθόν. Η πιθανότητα μη αναμενόμενων αντιδράσεων ακόμα και σε ομάδες ιστών που έχουν εξεταστεί δεν μπορεί να αποκλειστεί εντελώς λόγω της βιολογικής ποικιλομορφίας της έκφρασης αντιγόνου σε νεοπλασμάτα ή άλλους παθολογικούς ιστούς.⁸ Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο υποστήριξης για να αναφέρετε τις μη αναμενόμενες αντιδράσεις που έχετε καταγράψει.
7. Όταν χρησιμοποιούνται σε βήματα αποκλεισμού, οι φυσιολογικοί οροί που προέρχονται από την ίδια ζωική πηγή με τους δευτερεύοντες αντιορούς μπορεί να προκαλέσουν ψευδώς αρνητικά ή ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω των αυτοαντισωμάτων ή των φυσικών αντισωμάτων.
8. Μπορεί να προκύψουν ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω μη ανοσολογικής δέσμευσης πρωτεϊνών ή προϊόντων αντίδρασης υποστρώματος. Επίσης, μπορεί να προκύψουν λόγω της δράσης ψευδοπυροξείδωσης (ερυθροκύτταρα) ή της ενδογενούς υπεροξειδωσίας⁹ ή της ενδογενούς αλκαλικής φωσφατάσης.
9. Όπως συμβαίνει με κάθε ανοσοϊστοχημική εξέταση, ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το αντιγόνο δεν ανιχνεύθηκε και όχι ότι το αντιγόνο δεν υπάρχει στα κύτταρα ή στον ιστό που υποβλήθηκε στη δοκιμασία.

Ειδικό περιορισμό

1. Κάθε βήμα της διαδικασίας του kit ανίχνευσης έχει βελτιστοποιηθεί σε όργανα BenchMark IHC/ISH είναι προκαθορισμένο. Λόγω αποκλίσεων στη μονιμοποίηση και την επεξεργασία των ιστών, ενδεχομένως να είναι αναγκαία η αύξηση ή η μείωση του χρόνου επώασης πρωτογενούς αντισώματος σε μεμονωμένα δείγματα. Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τους παράγοντες που επηρεάζουν τη

μονιμοποίηση; ανατρέξτε στα έγγραφα «Immunohistochemistry Principles and Advances»⁵ ή «Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist.»¹⁰

2. Το kit ανίχνευσης, σε συνδυασμό με τα πρωτογενή αντισώματα και τα παρεκκόμενα της VENTANA, ανιχνεύει το αντιγόνο που επιβιώνει από τη συνήθη μονιμοποίηση με φορμαλίνη, την επεξεργασία και την τομή του ιστού.
3. Αυτό το kit ανίχνευσης έχει βελτιστοποιηθεί για χρήση με το διάλυμα πλύσης Reaction Buffer, με πρωτογενή αντισώματα, παρεκκόμενα και όργανα BenchMark IHC/ISH. Η χρήση του διαλύματος πλύσης Reaction Buffer είναι σημαντική για τη σωστή λειτουργία αυτού του kit ανίχνευσης. Οι χρήστες που παρεκκλίνουν από τις συνιστώμενες διαδικασίες εξέτασης έχουν την ευθύνη για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων ασθενών υπό αυτές τις περιστάσεις.
4. Αυτό το kit ανίχνευσης έχει βελτιστοποιηθεί για χρήση με το LCS (Predilute) ή με το ULTRA LCS (Predilute). Ο φραγμός του LCS μειώνει την εξάτμιση και παρέχει ένα σταθερό υδατικό περιβάλλον για τις αντιδράσεις IHC που πραγματοποιούνται σε όργανα BenchMark IHC/ISH.
5. Μπορεί να παρατηρηθούν ελαφριές αποκλίσεις στην απόχρωση μεταξύ των ξεχωριστών χρωμογόνων, λόγω της διασταυρούμενης αντιδραστικότητας μεταξύ των αντιδράσεων των χρωμογόνων με χρήση της διπλής χρώσης.
6. Ενδέχεται να μην έχουν καταχωρηθεί όλες οι δοκιμασίες σε κάθε όργανο. Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο υποστήριξης της Roche για περισσότερες πληροφορίες.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Η απόδοση του *ultraView* AP Red detection kit αξιολογήθηκε μέσω μελετών ακρίβειας και άλλων σχετικών μελετών. Ολόκληρη η διαδικασία χρώσης πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρωτόκολλο που περιγράφεται στο φύλλο μεθόδου του *ultraView* AP Red detection kit σε όργανα BenchMark IHC/ISH, εκτός εάν δηλώνεται διαφορετικά.

Μελέτες ακρίβειας — Μονή χρώση

Η εξέταση ακρίβειας πραγματοποιήθηκε με τη χρώση σειρών τομών ιστού αμυγδαλής μονιμοποιημένων με ουδέτερο ρυθμιστικό διάλυμα φορμαλίνης και εγκλεισμένων σε παραφίνη (FFPE) με πρωτογενές αντίσωμα anti-Ki67 σε όργανα BenchMark IHC/ISH εκτός εάν δηλώνεται διαφορετικά.

Ο χρόνος επώασης πρωτογενούς αντισώματος ήταν 16 λεπτά και όλες οι αντικειμενοφόροι υποβλήθηκαν σε αντίχρωση με χρήση του Hematoxylin II και, στη συνέχεια, του Bluing Reagent. Όλες οι αντικειμενοφόροι που υποβλήθηκαν σε χρώση με πρωτογενές αντίσωμα συγκρίθηκαν μεταξύ τους ως προς την καταλληλότητα και την ένταση της χρώσης και βαθμολογήθηκαν από εξειδικευμένο εμπειρογνώμονα αντικειμενοφόρων.

1. Για την ακρίβεια κατά τη διεξαγωγή μιας διαδικασίας χρώσης (ίδιο πρωτογενές αντίσωμα υποβάλλεται σε χρώση σε μια πλατφόρμα) συγκρίθηκαν αντικειμενοφόροι που υποβλήθηκαν σε χρώση την ίδια ημέρα εντός μιας διαδικασίας σε μία πλατφόρμα. Για το κριτήριο αυτό, οι αντικειμενοφόροι υποβλήθηκαν σε χρώση σε όργανο BenchMark XT και τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν. Η ακρίβεια κατά τη διεξαγωγή μιας διαδικασίας ήταν 100% για το όργανο BenchMark XT.
2. Η ακρίβεια μεταξύ διαδικασιών υπολογίστηκε με βάση τον αριθμό των αντικειμενοφόρων που υποβλήθηκαν σε χρώση σε 3 διαδικασίες ανά έναν τύπο οργάνου. Οι διαδικασίες χρώσης πραγματοποιήθηκαν μία ανά ημέρα σε 3 ξεχωριστές ημέρες με χρήση ενός οργάνου BenchMark XT. Η ακρίβεια μεταξύ διαδικασιών για το όργανο BenchMark XT ήταν 100% (30 από 30 αντικειμενοφόροι, 10 αντικειμενοφόροι υποβλήθηκαν σε χρώση για ένα πρωτογενές αντίσωμα με 3 ξεχωριστές διαδικασίες).
3. Η ακρίβεια μεταξύ οργάνων υπολογίστηκε με βάση τον αριθμό των αντικειμενοφόρων που υποβλήθηκαν σε χρώση σε 9 διαδικασίες σε όλα τα όργανα. Οι διαδικασίες χρώσης πραγματοποιήθηκαν 1 ανά ημέρα σε 3 ξεχωριστές ημέρες με χρήση 3 διαφορετικών οργάνων: Όργανα BenchMark GX, BenchMark XT και BenchMark ULTRA για IHC. Η ακρίβεια μεταξύ οργάνων του *ultraView* AP Red detection kit ήταν 100% (90 από 90 αντικειμενοφόρους που υποβλήθηκαν σε χρώση).

Πολλαπλά πρωτογενή αντισώματα VENTANA έχουν σχεδιαστεί με το *ultraView* AP Red detection kit. Στο πλαίσιο της εξέτασης για αυτές τις δοκιμασίες, παρατηρήθηκαν τα ακόλουθα χαρακτηριστικά απόδοσης για το *ultraView* AP Red detection kit:

1. Ακρίβεια κατά τη διεξαγωγή μιας διαδικασίας, μεταξύ ημερών, μεταξύ οργάνων και μεταξύ πλατφορμών στα όργανα BenchMark GX, BenchMark XT και BenchMark ULTRA.
2. Η ευαισθησία και ειδικότητα χρώσης σε ένα εύρος φυσιολογικών και νεοπλασματικών ιστών και ειδικών για τη δοκιμασία ιστών-στόχος.

Όλες οι μελέτες ανταποκρίθηκαν στα κριτήρια αποδοχής.

Η ακρίβεια του οργάνου BenchMark ULTRA PLUS καταδείχθηκε με τη χρήση αντιπροσωπευτικών δοκιμασιών. Οι μελέτες περιλάμβαναν επαναληψιμότητα εντός διαδικασίας και ενδιάμεση ακρίβεια μεταξύ ημερών και μεταξύ διαδικασιών. Όλες οι μελέτες ανταποκρίθηκαν στα κριτήρια αποδοχής.

Μελέτες ακρίβειας — Χρώση Dual

Πραγματοποιήθηκαν μελέτες ακρίβειας για το *ultraView* AP Red detection kit [με χρήση του αντισώματος CONFIRM anti-CD3 (2GV6)] με το kit ανίχνευσης *ultraView* DAB [με χρήση του αντισώματος CONFIRM anti-CD20 (L26)], προκειμένου να καταδειχθούν τα εξής:

- Η ακρίβεια εντός διαδικασίας και μεταξύ διαδικασιών σε όργανα BenchMark IHC/ISH.
- Η ακρίβεια εντός πλατφόρμας στα όργανα BenchMark IHC/ISH.
- Ακρίβεια μεταξύ πλατφορμών στα όργανα BenchMark GX, BenchMark XT και BenchMark ULTRA.

Όλες οι μελέτες ανταποκρίθηκαν στα κριτήρια αποδοχής.

Πραγματοποιήθηκαν μελέτες ακρίβειας για το *ultraView* AP Red detection kit [με χρήση του αντισώματος CONFIRM anti-CD3 (2GV6)] με το kit ανίχνευσης *OptiView* DAB IHC [με χρήση του αντισώματος CONFIRM anti-CD20 (L26)], προκειμένου να καταδειχθούν τα εξής:

- Η ακρίβεια εντός διαδικασίας και μεταξύ διαδικασιών σε όργανα BenchMark IHC/ISH.
- Η ακρίβεια εντός πλατφόρμας στα όργανα BenchMark IHC/ISH.
- Ακρίβεια μεταξύ πλατφορμών στα όργανα BenchMark GX, BenchMark XT και BenchMark ULTRA.

Όλες οι μελέτες ανταποκρίθηκαν στα κριτήρια αποδοχής.

Μελέτες συμφωνίας — Χρώση Dual

Πραγματοποιήθηκε μια μελέτη σε όργανα BenchMark GX, BenchMark XT και BenchMark ULTRA προκειμένου να καταδειχθεί η συμφωνία μεταξύ αντικειμενοφόρων με διπλή χρώση με χρήση του kit ανίχνευσης *ultraView* DAB [με χρήση του αντισώματος CONFIRM anti-CD20 (L26)] με το *ultraView* AP Red detection kit [με χρήση του αντισώματος CONFIRM anti-CD3 (2GV6)] και αντικειμενοφόρων με μονή χρώση με το αντίσωμα CONFIRM anti-CD3 (2GV6) και το αντίσωμα CONFIRM anti-CD20 (L26). Οι αντικειμενοφόροι με μονή χρώση εκτελέστηκαν με χρήση του kit ανίχνευσης *ultraView* DAB σε συνθήκες που ορίζονται στο φύλλο μεθόδου.

Πραγματοποιήθηκε μια μελέτη σε όργανα BenchMark GX, BenchMark XT και BenchMark ULTRA προκειμένου να καταδειχθεί η συμφωνία μεταξύ αντικειμενοφόρων με διπλή χρώση με χρήση του kit ανίχνευσης *OptiView* DAB [με χρήση του αντισώματος CONFIRM anti-CD20 (L26)] με το *ultraView* AP Red detection kit [με χρήση του αντισώματος CONFIRM anti-CD3 (2GV6)] και αντικειμενοφόρων με μονή χρώση με το αντίσωμα CONFIRM anti-CD3 (2GV6) και το αντίσωμα CONFIRM anti-CD20 (L26). Οι αντικειμενοφόροι με μονή χρώση εκτελέστηκαν με χρήση του kit ανίχνευσης *ultraView* DAB σε συνθήκες που ορίζονται στο φύλλο μεθόδου.

Όλες οι μελέτες ανταποκρίθηκαν στα κριτήρια αποδοχής.

ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ

1. Εάν ο θετικός μάρτυρας εμφανίσει ασθενέστερη χρώση από την αναμενόμενη, θα πρέπει να ελεγχθούν οι υπόλοιποι θετικοί μάρτυρες που αναλύονται στην ίδια διαδικασία οργάνου, ώστε να προσδιοριστεί εάν αυτό οφείλεται στο πρωτογενές αντίσωμα ή σε ένα από τα κοινά δευτερογενή αντιδραστήρια.
2. Εάν ο θετικός μάρτυρας είναι αρνητικός, θα πρέπει να ελεγχθεί για να επιβεβαιωθεί ότι η αντικειμενοφόρος έχει τη σωστή ετικέτα γραμμωτού κώδικα. Εάν η αντικειμενοφόρος έχει την κατάλληλη ετικέτα, θα πρέπει να ελεγχθούν οι υπόλοιποι θετικοί μάρτυρες που αναλύονται στην ίδια διαδικασία οργάνου, ώστε να προσδιοριστεί εάν αυτό οφείλεται στο πρωτογενές αντίσωμα ή σε ένα από τα κοινά δευτερογενή αντιδραστήρια. Ενδέχεται να έχει γίνει εσφαλμένη συλλογή, μονιμοποίηση ή αποπαραφίνωση των ιστών. Θα πρέπει να ακολουθείται η κατάλληλη διαδικασία για τη συλλογή, αποθήκευση και μονιμοποίηση.

3. Η ατελής απομάκρυνση της παραφίνης θα μπορούσε να οδηγήσει σε τεχνουργήματα χρώσης ή σε απουσία χρώσης.

- Εάν δεν έχει απομακρυνθεί όλη η ποσότητα της παραφίνης από την αντικειμενοφόρο, η διαδικασία χρώσης θα πρέπει να επαναληφθεί με τη χρήση της επιλογής παρατεταμένης αποπαραφίνωσης, εφόσον είναι διαθέσιμη.
- Εναλλακτικά, μπορεί να εκτελεστεί μια μη αυτόματη αποπαραφίνωση εκτός του οργάνου. Εάν χρησιμοποιηθεί η μη αυτόματη επιλογή, καταργήστε την επιλογή της επί του οργάνου αποπαραφίνωσης από το πρωτόκολλο χρώσης προτού φορτώσετε τις αντικειμενοφόρους στο όργανο. Χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή για να διασφαλιστεί ότι οι αντικειμενοφόροι δεν θα στεγνώσουν πριν από τη διαδικασία χρώσης.

4. Εάν η ειδική χρώση με αντίσωμα είναι πολύ έντονη, η διαδικασία θα πρέπει να επαναληφθεί με μείωση του χρόνου επώασης κατά διαστήματα των 4 λεπτών, έως ότου επιτευχθεί η επιθυμητή ένταση χρώσης.
5. Εάν οι τομές ιστών απομακρύνονται από την αντικειμενοφόρο, οι αντικειμενοφόροι θα πρέπει να ελεγχθούν για να επιβεβαιωθεί ότι είναι θετικά φορτισμένες.
6. Για τυχόν διορθωτικές ενέργειες, ανατρέξτε στην ενότητα Διαδικασία ή στο εγχειρίδιο χρήσης του οργάνου ή επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο υποστήριξης.
7. Εάν ο διανεμητής αντιδραστήριου δεν διανέμει υγρό, ελέγξτε τον θάλαμο πλήρωσης ή τον μηχανισμό για ξένα υλικά ή σωματίδια, όπως ίνες ή ιζήματα. Εάν ο διανεμητής είναι φραγμένος, μην τον χρησιμοποιείτε και επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο υποστήριξης. Διαφορετικά, επαναπληρώστε τον διανεμητή, φέρνοντας τον κατευθείαν επάνω από ένα δοχείο αποβλήτων, αφαιρώντας το πώμα του ακροφυσίου και πατώντας προς τα κάτω το επάνω μέρος του διανεμητή. Ανατρέξτε στο φύλλο μεθόδου του σχετικού διανεμητή inline, για πληροφορίες σχετικά με την ορθή χρήση.
8. Περιστασιακά, μπορεί να παρατηρηθεί κρυστάλλωση που προκαλείται από τον διανεμητή φωσφορικού Naphthol. Έρευνες έχουν δείξει ότι οι κρύσταλλοι δεν παρεμποδίζουν την ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Εάν παρατηρηθούν κρύσταλλοι στις αντικειμενοφόρους, καθαρίστε το ακροφύσιο και εκπλύνετε τον διανεμητή ώστε να διασφαλιστεί ότι έχουν απομακρυνθεί οποιαδήποτε ξένα κρυσταλλικά σωματίδια. Εάν οι κρύσταλλοι επιμένουν, διακόψτε τη χρήση και επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο υποστήριξης για να αντικαταστήσετε τον διανεμητή.
9. Το χρωμογόνο Fast Red είναι διαλυτό σε αλκοόλη και ακετόνη. Η έκθεση των χρωσμένων αντικειμενοφόρων σε αλκοόλη ή/και ακετόνη μπορεί να προκαλέσει απώλεια του ειδικού σήματος.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Elias JM, Gown AM, Nakamura RM, Wilbur DC, Herman GE, Jaffe ES, Battifora H, Brigati DJ. Quality control in immunohistochemistry. Report of a workshop sponsored by the Biological Stain Commission. Am J Clin Pathol. 1989;92(6):836-843.
2. Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. 2nd edition. St. Louis, MO: The C.V. Mosby Company; 1980.
3. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
4. 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.
5. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry: Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
6. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2009.
7. (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.
8. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem. 1991;66(4):194-199.
9. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. Lab Med. 1983;14:767.
10. Taylor C, Cote RJ. Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist. 2nd Edition. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company; 1986.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Στο παρόν έγγραφο χρησιμοποιείται πάντα τελεία ως σύμβολο υποδιαστολής για τον διαχωρισμό μεταξύ των ακεραίων και δεκαδικών αριθμών. Δεν χρησιμοποιείται σύμβολο διαχωρισμού της χιλιάδας.

Σύμβολα

Η Ventana χρησιμοποιεί τα ακόλουθα σύμβολα και σημεία εκτός από εκείνα που παρατίθενται στο πρότυπο ISO 15223-1 (για τις ΗΠΑ: βλ. [dialog.roche.com](https://www.dialog.roche.com) για ορισμό των συμβόλων που χρησιμοποιούνται):



Διεθνής κωδικός μονάδων εμπορίας

Rx only

Για τις ΗΠΑ: Προσοχή: Η ομοσπονδιακή νομοθεσία επιτρέπει την πώληση αυτής της συσκευής μόνο από ιατρό ή κατόπιν εντολής ιατρού.

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗΣ

Αναθ.	Ενημερώσεις
Λ	Ενημερώσεις στις ενότητες Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις. Ενημέρωση στο τρέχον πρότυπο.

ΠΝΕΥΜΑΤΙΚΉ ΙΔΙΟΚΤΗΣΙΑ

Οι επωνυμίες VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM, OPTIVIEW και ULTRAVIEW είναι εμπορικά σήματα της Roche. Όλα τα άλλα ονόματα προϊόντων και εμπορικά σήματα αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων τους.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ

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

