

OptiView DAB IHC Detection Kit

REF

760-700

06396500001

IVD

Σ 250

AVSEDD ANVÄNDNING

OptiView DAB IHC Detection Kit (OptiView) är ett indirekt, biotinfritt system för detektion av primärantikroppar från mus-IgG-, mus-IgM- och kanin. Kitet är avsett att identifiera mål genom immunhistokemi (IHC) i sektioner av formalinfixerad, paraffinbäddad och frusen vävnad som färgas på VENTANA automatiserat färgningsinstrument för objektglas och visualiseras med ljusmikroskop. Den kliniska tolkningen av en färgning, eller frånvaron av färgning, måste kompletteras med morfologiska studier och utvärdering av korrekta kontroller.

Denna produkt bör tolkas av en kvalificerad patolog tillsammans med en histologisk undersökning, relevant klinisk information och lämpliga kontroller.

Den här produkten är avsedd för *in vitro*-diagnostik (IVD).

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Immunhistokemi (IHC) är en teknik som används i laboratorier för diagnostiska ändamål. IHC använder sig av specifika primärantikroppar för att lokalisera och binda till antigener i fasta eller frysta vävnadssnitt. Bindningen av antikroppen till antigenet visualiseras med en indirekt detektionsmetod. De mest vanliga teknikerna av indirekta metoder använder en andra antikropp riktad mot arten av primärantikropp och ett enzym, med ett motsvarande substrat-kromogent system. Denna kombination resulterar i en färgad fällning vid platsen för specifik antikroppsbindning. OptiView DAB IHC Detection Kit använder en indirekt metod för att visualisera specifika antikroppar bundna till antigener genom att deponera en brunfärgad fällning.

PRINCIPER FÖR PROCEDUREN

OptiView DAB IHC Detection Kit detekterar specifika primära antikroppar av mus och kanin som är bundna till ett antigen i formalinfixerade, paraffinbäddade (FFPE) eller frysta vävnadssnitt. Den specifika antikroppen identifieras med en specifik sekundärantikropp som är bunden av en enzymmarkerad tertiärantikropp. Komplexet visualiseras sedan med ett väteperoxidsubstrat och 3, 3'-diaminobensidintetrahydroklorid (DAB) kromogen, vilket ger en brun fällning som lätt kan observeras genom ett ljusmikroskop.

Färgningsprotokollet består av flera steg där reagenser inkuberas under förutbestämda tider vid specifika temperaturer. Vid slutet av varje inkubationssteg tvättar BenchMark IHC/ISH-instrumentet sektionerna för att ta bort obundet material och applicerar ett flytande täckglas som minimerar avdunstningen av de vattenhaltiga reagenserna från objektglaset.¹ Resultaten tolkas med hjälp av ett ljusmikroskop och hjälper till med differentiell diagnos av patofysiologiska processer, som kanske är eller inte är associerade med ett visst antigen.

Se respektive användarhandbok för mer detaljerad information om instrumentets användning.

Figur 1 illustrerar den indirekta detektionsmetoden.

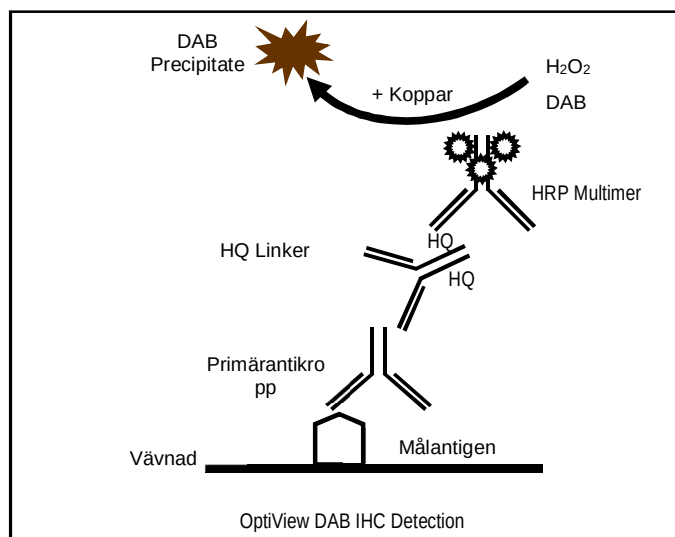


Fig.1 OptiView DAB IHC Detection Kit.

MATERIAL OCH METODER

Medföljande material

OptiView DAB IHC Detection Kit innehåller tillräckligt med reagens för 250 tester.

En 25 mL dispenser	OptiView Peroxidase Inhibitor innehåller 3.0 % väteperoxidlösning.
En 25 mL dispenser	OptiView HQ Universal Linker innehåller en cocktail av HQ-märkta (HQ är en självständig haptens som är kovalent fäst vid get-antikropparna) antikroppar (get-anti-mus IgG, get-anti-mus IgM och get-anti-kanin) (ca 50 µg/mL) i en buffert som innehåller protein med 0.05 % ProClin 300, ett konserveringsmedel.
En 25 mL dispenser	OptiView HRP Multimer innehåller en musmonoklonal anti-HQ-märkt HRP-tertiärantikropp med en linker som innehåller (cirka 40 µg/mL) i en buffert med protein och 0.05 % ProClin 300, ett konserveringsmedel.
En 25 mL dispenser	OptiView DAB innehåller 0.2 % w/v 3,3'-diaminobensidintetrahydroklorid (DAB) i en patentskyddad stabilisatorlösning med ett patentskyddat konserveringsmedel.
En 25 mL dispenser	OptiView H2O2 innehåller 0.04 % väteperoxid i en fosfatbuffertlösning.
En 25 mL dispenser	OptiView Copper innehåller kopparsulfat (5.0 g/L) i en acetatbuffert med proprietärt konserveringsmedel.

Rekonstituering, blandning, spädning, titrering

Detektionskitet är optimerat för anvning med BenchMark IHC/ISH-instrument. Ingen rekonstituering, blandning, spädning eller titrering av kitreagenser behövs. Ytterligare spädning kan leda till att färgningen går förlorad.

Nödvändigt material som inte medföljer

Färgningsreagens som VENTANA-primärantikroppar och tillhörande komponenter, inklusive objektglas med negativa och positiva vävnadskontroller, medföljer inte.

Eventuellt är inte alla produkter i metodbladet tillgängliga i alla länder. Rådfråga din lokala supportrepresentant.

Följande reagenser och material kan behövas vid färgning men medföljer inte i detektionskitet:

1. Primärantikropp
2. Negativ kontrollreagens
3. Rekommenderade vävnadskontroller
4. OptiView Amplification Kit (kat. nr 760-099 / 06396518001 (50 tester) eller 860-099 / 06718863001 (250 tester))
5. Protease 1 (kat.nr 760-2018 / 05266688001)
6. Protease 2 (kat.nr 760-2019 / 05266696001)
7. Protease 3 (kat.nr 760-2020 / 05266718001)
8. Hematoxylin (kat.nr 760-2021 / 05266726001)
9. Hematoxylin II (kat. Nr. 790-2208 / 05277965001)
10. Bluing Reagent (kat. nr 760-2037 / 05266769001)
11. Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat. nr 950-300 / 05353955001)
12. Cell Conditioning Solution (CC1) (kat. nr 950-124 / 05279801001)
13. Cell Conditioning Solution (CC2) (kat. nr 950-123 / 05279798001)
14. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (kat. nr 950-224 / 05424569001)
15. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (kat. nr 950-223 / 05424542001)
16. Antibody Diluent (kat. nr 251-018 / 05261899001)
17. EZ Prep Concentrate (10X) (kat. nr 950-102 / 05279771001)
18. LCS (Predilute) (kat. nr 650-010 / 05264839001)
19. ULTRA LCS (Predilute) (kat. nr 650-210 / 05424534001)
20. BenchMark IHC/ISH-instrument
21. Objektglas för mikroskop, positivt laddade
22. Täckglas och täckglasmetod tillräcklig för att täcka vävnad
23. Laboratorieutrustning för allmänt bruk

Förvaring och stabilitet

Förvara vid 2–8 °C vid mottagandet och när den inte används. Får inte frysas. Användaren måste validera alla andra lagringsförhållanden än de som anges i metodbladet. Detektionskitet kan användas omedelbart efter att ha tagits ur kylskåpet.

För att garantera korrekt reagenstillförsel och varje reagens stabilitet måste locket på dispensern sättas på igen efter varje användning, och dispensern omedelbart placeras i kylskåp i upprätt läge.

Varje detektionskit är märkt med utgångsdatum. Vid korrekt förvaring är produkten stabil fram till det datum som anges på etiketten. Använd inte produkten efter utgångsdatumet för den föreskrivna lagringsmetoden. Det finns inga definitiva tecken som indikerar instabilitet för denna produkt, därför bör positiva och negativa kontroller köras samtidigt med okända prover. Kontakta den lokala supportrepresentanten omedelbart om det finns indikation på reagensinstabilitet.

Provtagning och beredning för analys

FFPE-vävnader lämpar sig för användning med OptiView DAB Detection Kit och BenchMark IHC/ISH-instrument (se avsnittet Nödvändigt material som inte medföljer). Det rekommenderade vävnadsfixeringsmedlet är 10 % neutralbuffrad formalin(NBF).² Varierande resultat kan uppstå till följd av vävnadssnittstjocklek, fixeringstyp, ofullständig förlängd fixering eller speciella processer såsom avkalkning av benmärgspreparat.

Varje snitt ska skäras till lämplig tjocklek (2–5 µm) för den primärantikropp som används och placeras på ett positivt laddat mikroskopobjektglas. Objektglasen som innehåller vävnadssnitt ska torka i upprätt position i minst 15 minuter vid rumstemperatur för att få bort överflödigt vatten från sektionen före bakning. Objektglasen får bakas/värmas upp i en timme i en ugn vid 60 °C ± 5 °C eller lufttorkas vid 37 °C i upp till 24 timmar. Objektglastorkning och -uppvärmning används för att torka vävnaden efter objektglasmontering och för att förbättra vävnadsvidhäftningen till glasat. Se primärantikroppens metodblad för att identifiera begränsningar för uppvärmning. Förlängd uppvärmning av vävnaden kan leda till minskad antigen tillgänglighet.

Korrekt fixerade och inbäddade vävnader som uttrycker antigenet förblir stabila om de förvaras på en sval plats (15–25 °C). Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) från 1988, 42CFR493.1259 (b) kräver att "Laboratoriet måste behålla objektglas i minst tio år

från undersökningsdatumet och behålla provblock i minst två år från undersökningsdatumet". Varje laboratorie ska validera stabiliteten för snittat objektglas för sina egna procedurer och miljömässiga förvaringsförhållanden.

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. För användning vid in vitro-diagnostik (IVD).
2. Endast för yrkesmässigt bruk.
3. Varning: Möjlig cancerframkallande. International Agency for Research on Cancer (IARC) och US National Toxicology Program (NTP) har listat bensidin, en förening nära besläktad med 3, 3'-diaminobensidintetrahedroklorid (DAB), som ett känt humant cancerframkallande ämne.
4. Använd inte fler gånger än det angivna antalet tester.
5. ProClin 300-lösning används som konserveringsmedel i denna lösning. Det har klassificerats som ett irriterande ämne och kan orsaka sensibilisering genom hudkontakt. Iaktta rimliga försiktighetsåtgärder vid hantering. Undvik att reagenser kommer i kontakt med ögon, hud och slemhinnor. Använd skyddskläder och handskar.
6. Material av humant eller animaliskt ursprung ska hanteras som potentiellt biologiskt farligt och omhändertas i enlighet med tillämpliga försiktighetsåtgärder. Vid exponering ska de ansvariga myndigheternas hälsodirektiv följas.^{3,4}
7. Vidta rimliga försiktighetsåtgärder vid hantering av reagenser. Undvik att reagenser kommer i kontakt med ögon, hud och slemhinnor. Använd engångshandskar och använd lämpliga skyddskläder när du hanterar misstänkta cancerframkallande ämnen eller toxiskt material.
8. Om reagenser kommer i kontakt med känsliga områden ska dessa sköljas med stora mängder vatten. Undvik inandning av reagenser.
9. Se till att avfallsbehållaren är tom innan du startar en körning på instrumentet. Om denna försiktighetsåtgärd inte vidtas kan avfallsbehållaren bli överfylld och användaren riskerar att halka och ramla.
10. Undvik mikrobiell kontaminering av reagenser eftersom detta kan orsaka felaktiga resultat.
11. För ytterligare information om användningen av den här enheten, se i bruksanvisningen för BenchMark IHC/ISH-instrument och metodbladen för alla nödvändiga komponenter på navifyportal.roche.com.
12. Kontakta lokala och/eller statliga myndigheter för att fastställa rekommenderad metod för avfallshantering.
13. Produktsäkerhetsmärkingen följer främst EU:s GHS-vägledning. Säkerhetsdatablad finns tillgängligt för professionella användare på begäran.
14. För att rapportera misstänkta allvariga händelser relaterade till den här enheten ska man kontakta den lokala Roche-representanten och den behöriga myndigheten i den medlemsstat eller land där användaren är etablerad.

Denna produkt innehåller komponenter som klassificeras enligt följande i enlighet med Förordning (EG) nr 1272/2008:

Tab.1 Information om risker.

Risk	Kod	Uttalande
	H350	Kan orsaka cancer.
	H412	Skadligt för vattenlevande organismer med långvariga effekter.
	P201	Följ specialinstruktioner före användning.
	P202	Hantera inte förrän alla säkerhetsåtgärder har lästs och förstås.
	P273	Undvik utsläpp i miljön.
	P280	Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd/hörselskydd.
	P308 + P313	Vid exponering eller oro: Sök läkarhjälp.
	P501	Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning.

EUH208: Innehåller blandning av: 5-kloro-2-metyl-4-isotiazolin-3-on och 2-metyl-2H-isotiazol-3-on (3:1). Kan framkalla allergisk reaktion.

PROCEDUR

OptiView DAB IHC Detection Kit har utvecklats för användning på BenchMark IHC/ISH-instrument i kombination med VENTANA-primärantikroppar och tillbehör. Parametrarna för de automatiserade procedurerna kan visas, skrivas ut och redigeras i enlighet med metoden i instrumentets användarhandbok. Instrumentets övriga driftsparametrar har ställts in i förväg på fabriken.

Procedurerna för färgning på BenchMark IHC/ISH-instrument är följande. Mer detaljerade instruktioner och ytterligare protokollalternativ finns i användarhandboken. Huruvida ett prov kräver Cell Conditioning är antikroppsb beroende. Se antikroppens metodblad för anvisningar.

BenchMark IHC/ISH-instrument

1. Applicera en streckkodsetikett för objektglaset som motsvarar det protokoll som ska användas.
2. Ladda primärantikroppen, lämplig dispenserering för detektionskit och nödvändigt tillbehörsreagens på reagensbrickan och placera dem på instrumentet.
3. Kontrollera bulkvätska och töm avfall.
4. Ladda objektglaset på instrumentet.
5. Starta färgningskörningen.
6. När körningen är klar tar du bort objektglaset från instrumentet.
7. Försatt till Rekommenderade procedurer för efterbehandling av instrument.

Rekommenderade procedurer för efterbehandling av instrument

1. Tvätta objektglaset med ett mildt diskmedel för att ta bort täckglaslösningen.
2. Skölj objektglaset noggrant i destillerat vatten för att ta bort allt tvättmedel.
3. Torka, rensa och applicera täckglas med permanent monteringsmedia.

PROCEDUR FÖR KVALITETSKONTROLL

Positiv vävnadskontroll

En positiv vävnadskontroll måste köras med varje färgningsprocedur som utförs. Det är optimal laboratoriepraxis att använda ett snitt för positiv kontroll på samma objektglas som patientvävnaden. Denna praxis hjälper till att identifiera ett misslyckande med att applicera primärantikropp eller annan kritiskt reagens på patientens testobjektglas. En vävnad med svag positiv färgning är bäst lämpad för optimal kvalitetskontroll. De positivt färgade vävnadskomponenterna används för att bekräfta att antikroppen applicerades och instrumentet fungerade korrekt. Denna vävnad kan innehålla både positivt och negativt färgade celler eller vävnadskomponenter och fungera som både positiv och negativ kontrollvävnad. Kontrollvävnad bör utgöras av färiska obduktions-, biopsi- eller kirurgiska prover, vilka preparerats eller fixerats så tidigt som möjligt på ett sätt som är identiskt med behandlingen av testsnittet. Sådana vävnader kan kontrollera alla steg i proceduren från vävnadsberedning till färgning. Användning av ett vävnadssnitt som är fixerat eller bearbetat på ett annat sätt än testprovet kommer att ge kontroll för alla reagens- och metodsteg utom fixering och vävnadsbearbetning.

Kända positiva vävnadskontroller bör endast användas för att kontrollera korrekt prestanda för bearbetade vävnader och testreagenser, inte som hjälpmedel vid fastställande av en specifik diagnos för testprov. Om de positiva vävnadskontrollerna inte uppvisar positiv färgning, bör testprovernas resultat anses ogiltiga.

Negativ vävnadskontroll

Samma vävnad som används för den positiva vävnadskontrollen kan användas som den negativa vävnadskontrollen. De många celltyper som finns i de flesta vävnadssnitt erbjuder interna negativa kontrollplatser, men detta bör verifieras av användaren. Komponenterna som inte färgar bör visa frånvaro av specifik färgning och ge en indikation på bakgrundsfärgning. Om specifik färgning inträffar på de negativa vävnadskontrollplatserna, bör resultaten med patientproverna betraktas som ogiltiga.

Oförklarliga avvikelser

Oförklarliga avvikelser i kontrollerna bör omedelbart rapporteras till din lokala supportrepresentant. Om kvalitetskontrollresultaten inte uppfyller specifikationerna är patientresultaten ogiltiga. Se avsnittet Felsökning i detta metodblad. Identifiera och åtgärda problemet och upprepa sedan patientproverna.

Negativ reagenskontroll

En negativ reagenskontroll måste köras för varje prov för att underlätta tolkningen av resultaten. En negativ reagenskontroll används i stället för primärantikroppen för att utvärdera icke-specifik färgning. Objektglaset bör färgas med Negative Control Mouse eller Negative Control Rabbit, såsom lämpligt. Spädningsvätskan kan ensam användas som ett alternativ till de tidigare beskrivna negativa reagenskontrollerna.

Inkubationsperioden för den negativa reagenskontrollen bör vara samma som primärantikroppens inkubationsperiod.

När paneler med flera antikroppar används vid seriell snittning kan en negativ reagenskontroll på ett objektglas fungera som en negativ eller ospecifik bindningskontroll för andra antikroppar.

Analysverifiering

Före den första användningen av en primärantikropp eller ett färgningssystem i en diagnostisk procedur bör primärantikroppens specificitet verifieras genom att testa den på en serie vävnader med kända prestandaegenskaper för immunhistokemi som representerar kända positiva och negativa vävnader (se avsnittet Positiv vävnadskontroll i primärantikroppens metodblad och rekommendationerna för kvalitetskontroll från College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist,⁵ eller CLSI Approved Guideline⁶ eller båda dokumenten). Dessa procedurer för kvalitetskontroll bör upprepas för varje ny antikroppslot eller när det uppkommer en ändring i analysparametrarna. Vävnader angivna i avsnittet Prestandaegenskaper i primärantikroppen är lämpliga för analysverifiering.

Tolkning av resultaten

OptiView DAB IHC Detection Kit orsakar en brun eller rödfärgad reaktionsprodukt som fälls ut vid antigen-platserna som lokaliserats av primärantikroppen. En kvalificerad patolog med erfarenhet av immunhistokemiska procedurer måste utvärdera kontroller och kvalificera den färgade produkten innan resultaten tolkas. Färgning av negativa kontroller måste antecknas först och dessa resultat ska jämföras med färgat material för att verifiera att den genererade signalen inte är resultatet av ospecifika interaktioner.

Positiv vävnadskontroll

Den färgade positiva vävnadskontrollen bör undersökas först för att säkerställa att alla reagenser fungerar korrekt. Förekomst av en lämpligt färgad reaktionsprodukt i målcellen är en indikation på positiv reaktivitet. Beroende på inkubationslängden och styrkan hos det använda hematoxylinet kommer kontrastfärgning att resultera i en blek till mörkblå färgning av cellkärnor. Överdriven eller ofullständig kontrastfärgning kan förhindra korrekt tolkning av resultat.

Om den positiva vävnadskontrollen inte uppvisar positiv färgning, bör alla testprovernas resultat anses ogiltiga.

Negativ vävnadskontroll

Den negativa vävnadskontrollen bör undersökas efter den positiva vävnadskontrollen för att verifiera den specifika märkningen av målantigenet med primärantikroppen. Frånvaron av specifik färgning i den negativa vävnadskontrollen bekräftar avsaknad av korsreaktivitet för antikropp för celler eller cellulära komponenter. Om specifik färgning inträffar på den negativa vävnadskontrollen, bör resultaten med patientproverna betraktas som ogiltiga. Icke-specifik färgning, om sådan förekommer, kommer att ha ett diffus utseende. Sporadisk ljus färgning av bindväv kan också observeras i snitt från alltför formalinfixerade vävnader. Intakta celler bör användas för tolkning av färgningsresultat. Nekrotiska eller degenererade celler färgar ofta ospecifikt.

Patientvävnad

Patientprover ska undersökas sist. Positiv färgningsintensitet bör bedömas inom ramen för eventuell icke-specifik bakgrundsfärgning av den negativa reagenskontrollen. Som med alla immunhistokemiska test betyder ett negativt resultat att antigenet i fråga inte detekterades, inte att antigenet inte finns i cellerna eller analyserad vävnad. Använd vid behov en panel av antikroppar för att hjälpa till att identifiera falska negativa reaktioner. Morfologin för varje vävnadsprov bör också undersökas med hjälp av en hematoxylin- och eosinfärgade snitt vid tolkning av eventuella immunhistokemiska resultat. Patientens morfologiska resultat och relevanta kliniska data måste tolkas av en kvalificerad patolog.

BEGRÄNSNINGAR

Allmänna begränsningar

1. IHC är en diagnostisk process i flera steg som kräver specialutbildning i valet av lämpliga reagenser, vävnadssnitt, fixering, bearbetning, beredning av immunhistokemiobjektglaset och tolkning av färgningsresultaten.
2. Vävnadsfärgning är beroende av hantering och behandling av vävnaden innan färgning. Felaktig fixering, frysning, upptining, tvättning, torkning, uppvärmning, snittning eller kontaminering med andra vävnader eller vätskor kan ge artefakter, bindande antikroppar eller falska negativa resultat. Inkonsekventa resultat kan fås vid variationer i fixerings- och inbäddningsmetoder eller från inneboende oregelbundenheter i vävnaden.

- Överdriven eller ofullständig kontrastfärgning kan förhindra korrekt tolkning av resultat.
- Den kliniska tolkningen av positiv färgning eller frånvaro därav, måste utvärderas inom ramen för klinisk historik, morfologi och andra histopatologiska kriterier. Den kliniska tolkningen av eventuell färgning eller frånvaro därav, måste kompletteras med morfologiska studier och korrekta kontroller samt andra diagnostiska tester. Det är en kvalificerad patologs ansvar att känna till antikropparna, reagenserna och metoderna som används för att tolka det färgade preparatet. Färgning måste utföras i ett certifierat licensierat laboratorium under överinseende av en patolog som ansvarar för att granska de färgade objektglasen och säkerställa att de positiva och negativa kontrollerna är tillräckliga.
- Antikroppar och reagenser från VENTANA tillhandahålls med optimal utspädning för användning när de medföljande instruktionerna följs. Avvikelser från rekommenderade testförfaranden kan ogiltigförklara förväntade resultat. Lämpliga kontroller måste användas och dokumenteras. Användare som avviker från rekommenderade testförfaranden måste ta ansvar för tolkningen av patientresultaten.
- Reagenser kan visa oväntade reaktioner i tidigare otestade vävnader. Risken för oväntade reaktioner även i testade vävnadsgrupper kan inte elimineras fullständigt på grund av biologisk variation av antigenuttryck i neoplasmer eller andra patologiska vävnader.^{7,8} Kontakta din lokala supportrepresentant med dokumenterade oväntade reaktioner.
- Vävnader från personer som är infekterade med hepatit B-virus och som innehåller hepatit B-yntigen (HBsAg) kan uppvisa icke-specifik färgning med pepparrotsperoxidas.⁹
- Vid användning i blockeringssteg kan normala serum från samma djurkälla som sekundära antiserum orsaka falskt negativa eller falskt positiva resultat på grund av autoantikroppar eller naturliga antikroppar.
- Som med alla immunhistokemiska test betyder ett negativt resultat att antigenet i fråga inte detekterades, inte att antigenet inte fanns i cellerna eller analyserad vävnad.

Specifika begränsningar

- Varje steg i proceduren för detektionskitet har optimerats på BenchMark IHC/ISH-instrument och är förinställt. På grund av variation i vävnadsfixering och bearbetning kan det vara nödvändigt att öka eller minska primärantikroppens inkuberingstid på enskilda prover. Primärantikroppens inkuberingstid beror på graden av vävnadsfixering och kan variera från 4 till 120 minuter. Ytterligare information om fixeringsvariabler finns i "Immunohistochemistry Principles and Advances".¹⁰ eller "Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist".¹¹
- Detektionskitet, i kombination med VENTANA-primärantikroppar och tillbehör, detekterar antigen som överlever rutinmässig vävnadsbearbetning och snittning.
- Detektionskitet har optimerats för användning med Reaction Buffer-tvättlösning, primärantikropp, tillbehör och BenchMark IHC/ISH-instrument. Användning av Reaction Buffer tvättlösning är viktigt för att detektionskitet ska fungera korrekt. Användare som avviker från rekommenderade testförfaranden är ansvariga för tolkningen av patientresultat under dessa omständigheter.
- Det här detektionskitet har optimerats för användning med LCS (Predilute) eller ULTRA LCS (Predilute). LCS är en förspädd täckglaslösning som används både som en barriär mellan vattenhaltiga reagenser och luften samt som en reagens för att avlägsna paraffin från vävnadsprover under avparaffinering. Denna LCS-barriär minskar avdunstning och ger en stabil vattenhaltig miljö för IHC- eller in situ-hybridisering (ISH)-reaktioner som utförs på BenchMark IHC/ISH-instrument.
- Inkuberingstider och andra temperaturer än de angivna kan ge felaktiga resultat. Användaren måste validera alla sådana ändringar.
- Alla detektionskit kanske inte registreras på varje instrument. Kontakta din lokala supportrepresentant för mer information.
- Det rekommenderade fixeringsmedlet för OptiView detektionssystem är 10 % Neutral Buffered Formalin (NBF). Om fixeringsmedlet Modified Davidson används kan detta leda till oacceptabla färgningsresultat.

PRESTANDAEGENSKAPER

ANALYTISK PRESTANDA

Prestandan för OptiView DAB IHC Detection Kit utvärderades genom reproducerbarhet och andra relevanta studier. All färgning utfördes med hjälp av protokollet enligt det som

anges i antikroppens metodblad för BenchMark IHC/ISH-instrument om inget annat anges.

Testning pågår:

Sensitivitet och specificitet

Specificitetstest för att påvisa specifik detektion av mus- och kaninprimärantikroppar och acceptabla nivåer av icke-specifik bakgrunds-färgning för att säkerställa tolkning av positiva och negativa resultat äventyras inte.

Sensitivitetstest för att påvisa förmågan att detektera primärantikroppar som är bundna till låga nivåer av antigener med lämpliga färgningsmönster.

Precision

- Precision inom och mellan körningar
- Precision inom plattform och mellan plattformar

I samtliga fall lästes vävnadsproverna och bedömdes som godtagbara för färgningslämplighet och kvalitet för morfologisk cellfärgning. Samtliga studier uppfyllde sina acceptanskriterier.

FELSÖKNING

- Om den positiva kontrollen uppvisar svagare färgning än väntat, ska andra positiva kontroller som körts i samma instrumentkörning, kontrolleras för att avgöra om det beror på primärantikroppen eller en av de vanliga sekundära reagenserna.
- Kontrollera att objektglaset har rätt streckodsetikett om den positiva kontrollen är negativ. Om objektglaset är märkt ordentligt, ska andra positiva kontroller som körts i samma instrumentkörning kontrolleras för att avgöra om det beror på primärantikroppen eller en av de vanliga sekundära reagenserna. Vävnader kan ha samlats in på fel sätt, fixerats eller avparaffinerats. Rätt procedur för insamling, lagring och fixering ska följas.
- Otillräcklig avparaffinering kan resultera i färgning av artefakter eller ingen färgning.
 - Om allt paraffin inte har tagits bort från objektglaset bör färgningskörningen upprepas med alternativet förlängd avparaffinering, om tillgängligt.
 - Alternativt kan en manuell avparaffinering utanför instrumentet utföras. Om det manuella alternativet används, avmarkera avparaffinering online från färgningsprotokollet innan du laddar objektglasen på instrumentet. Extra försiktighet bör vidtas för att säkerställa att objektglasen inte torkar ut före färgningskörningen.
- Om specifik antikropps-färgning är för intensiv, bör körningen upprepas med inkuberingstid förkortad med 4 minuters intervall tills önskad färgningsintensitet uppnås.
- Om vävnadssnitt sköljs av objektglaset, bör objektglasen kontrolleras för att säkerställa att de är positivt laddade.
- Korrigerande åtgärder finns i avsnittet för procedurer, instrumentets bruksanvisning eller kan fås av din lokala supportrepresentant.
- Om en reagens-dispenser inte dispenserar vätska, kontrollera priming-kammaren eller menisk för främmande material eller partiklar, såsom fibrer eller fällningar. Om dispensern är blockerad, använd inte dispensern utan kontakta din lokala supportrepresentant. Annars ska du fälla in dispensern igen genom att rikta dispensern över en avfallsbehållare, ta bort munstyckslocket och trycka ner på toppen av dispensern. Se tillhörande metodblad för inline-dispensern kopplat till art.nr 760-700 för information om korrekt användning.
- Endogen peroxidaktivitet kan förekomma om Peroxidasehämmare inte väljs före eller efter primärantikroppen. Standardreceptinställningen är ingen applikation. Operatören måste välja när Peroxidasehämmaren ska appliceras då ett protokoll upprättas, om så önskas.
- Oönskad färgning av plasma och mastceller kan uppstå vid nedbrytning av proteas. Den negativa vävnadskontrollen ska utvärderas för att ange bakgrunds-färgningens nivå jämfört med det positivt färgade resultatet.⁸

REFERENSER

- 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.

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. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2009.
6. 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.
7. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem. 1991;66(4):194-199.
8. Hautzer NW, Wittkuhn JF, Elliott-McCaughey WT. Trypsin Digestion in Immunoperoxidase Staining. Jour of Histochem and Cytochem. 1980;28:52-53.
9. 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.
10. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
11. Taylor C, Cote RJ. Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist. 2nd Edition. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company; 1986.

OBS! En punkt används i detta dokument alltid som decimalavskiljare för att markera gränsen mellan integralen och bråkdelarna i ett decimaltal. Tusentalsavgränsare används inte.

Symboler

Ventana använder följande symboler och tecken utöver de som anges i standarden ISO 15223-1 (för USA: se elabdoc.roche.com/symbols för ytterligare information).



GS1-artikelnr

Rx only

För USA: Försiktighet Federal lag begränsar denna enhet till försäljning av eller på ordination av läkare.

VERSIONSHISTORIK

Rev	Uppdateringar
F	Uppdateringar av avsnittet Varningar och försiktighetsåtgärder och uppdaterad till aktuell mall.

IMMATERIALRÄTT

VENTANA, BENCHMARK och OPTIVIEW är varumärken som tillhör Roche.

Alla andra produktnamn och varumärken tillhör sina respektive ägare.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

KONTAKTUPPGIFTER



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

