LCS (Predilute)

REF 650-010

05264839001

НАЗНАЧЕНИЕ И СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Назначение

Реагент Ventana Medical Systems' (Ventana) LCS (Predilute), известный также под названиями LCS и Liquid Coverslip (High Temperature), является предварительно разведенным покровным раствором (жидким покровным стеклом) для применения при высоких температурах. Раствор используется при окрашивании микропрепаратов в качестве барьера между водными реагентами и воздухом. Такой барьер предотвращает испарение жидкостей, создавая стабильную водную среду для иммунохимических реакций и реакций гибридизации *in situ* при окрашивании микропрепаратов на Ventana automated slide stainer.

Данный реактив предназначен для использования со стейнерами серий BenchMark и BenchMark XT automated slide stainers. Данный реагент не следует использовать со стейнерами серий Ventana NexES IHC, NexES Special Stains и ES automated slide stainers.

Данный реагент предназначен для диагностического использования *in vitro* (IVD).

ПРИНЦИП МЕТОДИКИ

Раствор LCS (Predilute) состоит из органических молекул жиров, плотность которых значительно ниже плотности воды. При нанесении раствора на поверхность водного буфера он за счет более низкой плотности и поверхностного натяжения растекается тонкой пленкой по поверхности буфера, заключая его в замкнутое пространство. Таким образом формируется эффективный барьер между буфером и воздухом, что предотвращает испарение водного раствора реагентов. Кроме того, на поверхность пленки раствора LCS можно наносить дополнительные водные реагенты, которые проникают сквозь пленку и поступают в буферный раствор на предметном стекле. При окрашивании препаратов на стейнерах Ventana's automated slide stainer раствор LCS (Predilute) автоматически наносится стейнером на препарат по мере необходимости в ходе выполнения протоколов окрашивания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Реактивы в комплекте поставки

Одна двухлитровая емкость (2 л) с реагентом LCS (Predilute) содержит парафиновые углеводороды низкой плотности и минеральные масла.

Восстановление раствора, смешивание, разведение и титрация

Реагент поставляется в готовой к применению форме. Разводить реагент не следует.

Обращение и хранение

Хранить при комнатной температуре (15–30 °C). Не замораживать.

На емкости с реагентом указан срок годности. При соблюдении условий хранения свойства реагента остаются неизменными до даты, указанной на маркировке. Запрещается использовать реагент по истечении срока годности при хранении согласно приведенным инструкциям.

СПЕЦИАЛЬНЫЕ УКАЗАНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Для диагностики *in vitro* (IVD).
2. Реагент LCS (Predilute) разработан для использования со стейнерами Ventana BenchMark Series automated slide stainers. Данный реагент не следует использовать со стейнерами NexES Special Stains automated slide stainers.
3. Не допускайте утечки реагента. При невыполнении этой предосторожности жидкость может вытекать на пол, что может привести к несчастному случаю.
4. Данный реагент может быть вреден при приеме внутрь или вдыхании паров. Он может вызывать непродолжительное раздражение глаз, слизистых оболочек и воздушно-дыхательных путей. При попадании реактивов на чувствительные участки промойте их большим количеством воды. Используйте защитную одежду и перчатки. Не вдыхать пары.
5. Не допускайте микробной контаминации реагентов, поскольку это может привести к получению недостоверных результатов.
6. По вопросам рекомендованного метода утилизации обращаться за консультацией в соответствующие местные или государственные органы.
7. Более подробная информация по мерам предосторожностей содержится в сертификате безопасности материала (MSDS).

ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Реагент LCS (Predilute) заливается непосредственно в двухлитровую емкость (2 л) для LCS соответствующего отсека для жидкостей автоматического стейнера. Реагент LCS (Predilute) автоматически наносится стейнером на препарат в соответствии с выполняемым протоколом окрашивания.

Перед началом использования раствора LCS (Predilute) в лаборатории пользователя необходимо провести проверку правильности окрашивания на нескольких положительных и отрицательных контрольных препаратах. Ventana рекомендует помещать ткань, служащую в качестве положительного контроля, на одно предметное стекло с исследуемой пробой ткани пациента. При окрашивании возможна вариабельность результатов вследствие различий в процедурах фиксации тканей. Клиническая интерпретация любого окрашивания либо его отсутствия должна дополняться морфологическими исследованиями и сравнением с соответствующими контрольными образцами. Оценка должна проводиться квалифицированным патоморфологом с учетом данных истории болезни пациента и результатов других диагностических тестов.

Реагенты марки Ventana разработаны для использования со стейнерами Ventana automated slide stainers, наборами визуализации, первичными антителами, зондами и вспомогательными принадлежностями производства Ventana. Рекомендуемые протоколы окрашивания для стейнеров приведены в инструкциях к соответствующим первичным антителам и зондам. Параметры автоматизированных процедур можно выводить на дисплей, распечатывать и редактировать в соответствии с процедурой, приведенной в Руководстве по эксплуатации прибора. Остальные операционные параметры автоматического стейнера предварительно запрограммированы производителем. Более подробная информация и дополнительные опции при выполнении протоколов окрашивания содержатся в инструкциях к соответствующим аналитическим реагентам и к автоматическому стейнеру.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Раствор LCS (Predilute) перед использованием следует проверить на предмет микробного загрязнения. Микробное загрязнение либо нестабильность данного реагента может проявляться следующими признаками: мутность раствора, появление запаха или выпадение осадка. При появлении признаков возможного микробного загрязнения или нестабильности реагента свяжитесь с местным представительством производителя.
2. Раствор LCS (Predilute) имеет оптимальный состав для использования на стейнерах Ventana automated slide stainers. Разведение данного реагента может привести к ненадлежащей работе стейнера и низкому качеству окрашивания.
3. Имеются сообщения о том, что продукты нефтепереработки, входящие в состав реагента LCS, способствуют процессу депарафинизации тканевых проб. Возможность использования реагента в данных целях зависит от конкретных образцов и процедур окрашивания, и должна определяться в каждом конкретном случае конечным пользователем.

ПОИСК И УСТРАНЕНИЕ ПРОБЛЕМ

Для получения информации по устранению проблем свяжитесь с местным представительством производителя.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

BENCHMARK, NEXES, VENTANA и логотип Ventana являются товарными знаками компании Roche.

Все другие товарные знаки являются собственностью соответствующих владельцев.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.ventana.com

EC REP

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

Уполномоченный
представитель
в Республике Беларусь: ООО
"Алмазмед" 220040, г.Минск
ул. Восточная 33
пом.3, к.1.

CE

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Bluing Reagent

Номер по каталогу 760-2037 05266769001

НАЗНАЧЕНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ

Область применения

Данный реагент предназначен для диагностики *in vitro*.

Bluing Reagent компании Ventana Medical Systems является забуференным водным раствором карбоната лития. Реагент предназначен для использования на автоматических приспособлениях для окраски гистологических препаратов компании Ventana и для окрашивания в синий цвет окрашенных гематоксилином срезов на предметных стеклах.

Клиническая интерпретация какого-либо окрашивания или отсутствия окрашивания должна дополняться морфологическими исследованиями и оценкой соответствующих контролей. Оценка должна проводиться квалифицированным патоморфологом в контексте истории болезни пациента и данных других диагностических тестов. Предостережение: Федеральное законодательство США разрешает продажу этой продукции только медицинским работникам или по их заказу.

Краткое описание и пояснения

Bluing Reagent работает за счет совместного действия ионов лития и увеличения значения pH промывочного буферного раствора с целью окрашивания в синий цвет окрашенных гематоксилином срезов тканей.[1] Bluing Reagent наносится после гематоксилина и изменяет цветовой оттенок гематоксилина в сторону синего цвета.

Принципы и процедуры

После контрастного окрашивания гематоксилином окрашивающий в синий цвет реагент наносят на предметное стекло и размешивают по всей поверхности образца. Реагент окрашивает в синий цвет окрашенные гематоксилином срезы, и в конце стадии инкубации автоматическое приспособление для окраски гистологических препаратов компании Ventana промывает стекла, чтобы остановить реакцию и удалить несвязавшийся материал. Более подробную информацию см. в соответствующем Руководстве пользователя автоматического приспособления для окраски гистологических препаратов компании Ventana.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реагенты, входящие в комплект поставки

Один флакон-дозатор с Bluing Reagent содержит 25 мл заранее разведенного реагента. Флакон-дозатор содержит 0,1 М раствор карбоната лития в 0,5 М растворе карбоната натрия.

Разведение перед использованием, смешивание, разбавление, титрование

Не требуется никакого разведения, смешивания, разбавления или титрования. Реагент оптимизирован для использования с автоматическим приспособлением для окраски гистологических препаратов компании Ventana в сочетании с диагностическими наборами компании Ventana, антителами и вспомогательными реагентами

Материалы и реагенты, необходимые для работы, но не входящие в комплект поставки

Для окрашивания могут потребоваться следующие реагенты и материалы, не поставляемые с реагентом:

1. Ventana Negative Control Reagent или Rabbit Negative Control
2. Первичное антитело
3. Antibody Diluent
4. Предметные стекла, положительно заряженные
5. Положительные и отрицательные гистологические контроли
6. Сушильный шкаф, способный поддерживать температуру 70 ± 5 °C
7. Этикетки со штрих-кодами (требуются для отрицательного контроля и для исследуемого первичного антитела)
8. 10 % нейтральный забуференный раствор формалина
9. Сосуды или кюветы для окрашивания микропрепаратов
10. Таймер
11. Ксилол
12. Этанол или спиртовой реактив
13. Деионизованная или дистиллированная вода
14. Decloaking Chamber* компании Biocare Medical (автоматические приспособления для окраски гистологических препаратов ES® и NexES® IHC)
15. Автоматические приспособления для окраски гистологических препаратов ES, NexES IHC, BenchMark® или BenchMark® XT
16. Диагностические наборы iVIEW™ DAB, AEC, V Red (ALK PHOS) или Enhanced V Red
17. Ventana Endogenous Biotin Blocking Kit*
18. Ventana Amplification Kit*
19. Специальное программное обеспечение к диагностическому набору (только для автоматического приспособления для окраски гистологических препаратов ES)
20. Ventana APK Wash Solution (для автоматических приспособлений для окраски гистологических препаратов ES и NexES IHC)
21. Ventana Liquid Coverslip™ solution (для автоматических приспособлений для окраски гистологических препаратов ES и NexES IHC)
22. Ventana EZ Prep™ solution* (для автоматических приспособлений для окраски гистологических препаратов BenchMark и BenchMark XT)
23. Ventana Reaction Buffer (для автоматических приспособлений для окраски гистологических препаратов BenchMark и BenchMark XT)
24. Ventana LCS (для автоматических приспособлений для окраски гистологических препаратов BenchMark и BenchMark XT)
25. Ventana Cell Conditioning 1 (CC1), Cell Conditioning 2 (CC2) (для автоматических приспособлений для окраски гистологических препаратов BenchMark и BenchMark XT)*
26. Ventana Protease I, II, или III*
27. Ventana Hematoxylin Counterstain
28. Заключающая среда
29. Покровное стекло
30. Оптический микроскоп (20-80X)

* По мере необходимости для решения конкретных практических задач.

Хранение и обращение

Хранить при температуре от 2 до 8 °C. Не замораживать. Пользователь должен валидировать любые условия хранения, отличные от указанных на вкладыше в упаковку.

Для обеспечения надлежащего дозирования и сохранности реагента после каждого определения колпачок должен быть возвращен на место, а флакон-дозатор должен быть немедленно помещен в холодильник в вертикальном положении. На каждом флаконе-дозаторе указана дата окончания срока годности. При надлежащем хранении реагент сохраняет стабильность до даты, указанной на этикетке. Запрещено использовать реагент после окончания срока годности для предписанного способа хранения.

Признаком порчи данного продукта является осаждение реагента. При первых признаках возможной порчи реагента свяжитесь с вашим местным представительством компании Ventana.

Сбор образцов и подготовка к проведению анализа

Обработанные согласно установленным методикам, прошедшие фиксацию формалином и залитые парафином ткани пригодны для исследования с помощью данного реагента, если используются с первичными антителами, диагностическими наборами, вспомогательными материалами компании Ventana и автоматическим приспособлением для окраски гистологических препаратов Ventana (см. раздел Материалы и реагенты, необходимые для работы, но не входящие в комплект поставки). Рекомендуется использовать в качестве фиксатора для ткани 10 % нейтральный раствор формалина с буфером.[2] Результаты могут изменяться вследствие увеличения времени фиксации или в результате влияния специальных методов обработки, таких как декальцинирование препаратов костного мозга.

Каждый срез должен иметь надлежащую толщину и быть помещен на положительно заряженное предметное стекло. Стекла со срезами ткани могут быть прогреты, по меньшей мере, 2 часа (но не более 24 часов) в термостате при температуре 70 ± 5 °C.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Ручной метод депарафинирования

Требуется, если используются автоматические приспособления для окраски гистологических препаратов ES и NexES IHC или если не выбрано депарафинирование на автоматических приспособлениях для окраски гистологических препаратов BenchMark или BenchMark XT.

1. Указания относительно того, когда прикреплять этикетки со штрих-кодами к предметным стеклам – см. раздел Инструкции по применению соответствующего автоматического приспособления для окраски гистологических препаратов.
2. Погрузите стекла последовательно в 3 кюветы с ксилолом, на 5 ± 1 минут в каждую.
3. Перенесите стекла в 100 % этанол и погрузите последовательно в 2 кюветы, на 3 ± 1 минуты в каждую.
4. Перенесите стекла в 95 % этанол и погрузите их в кювету с этим раствором на 3 ± 1 минуты.
5. Перенесите стекла в 80% этанол и погрузите их в кювету с этим раствором на 3 ± 1 минуты.
6. Перенесите стекла в кювету с деионизованной или дистиллированной водой и окуните их не менее 10 раз.
7. Перенесите стекла в APK Wash (1X) solution или буферный раствор, если это требуется. В случае APK Wash solution стекла должны оставаться в нем вплоть до вашей готовности провести процесс окрашивания. В случае буферного раствора стекла должны оставаться в нем вплоть до вашей готовности провести процесс демаскирования антигенов. Не давайте стеклам высохнуть.

Стекла, окрашиваемые на автоматических приспособлениях для окраски гистологических препаратов BenchMark или BenchMark XT, могут быть депарафинированы на приборе. Если выбирается этот вариант, проведите считывание штрих-кода со стекол и поместите их в прибор. Если этот вариант не выбран, используйте Ручной метод депарафинирования, описанный выше.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Соблюдайте соответствующие меры предосторожности при обращении с реагентами. Используйте одноразовые перчатки при работе с предполагаемыми канцерогенами или токсичными материалами (например, ксилолом или формальдегидом).
2. Избегайте контакта реагентов с глазами или слизистыми оболочками. Если произошел контакт реагентов с чувствительными областями тела, промойте их большим количеством воды.
3. С образцами, взятыми у пациентов, и всеми материалами, которые имели контакт с ними, следует обращаться как с биологически опасными материалами, и их следует утилизировать с надлежащими мерами предосторожности. Запрещено набирать жидкость в пипетку ртом.
4. Избегайте микробиологического загрязнения реагентов, поскольку это может привести к получению неправильных результатов.
5. Использование значений времени инкубации и температуры, отличных от установленных, может привести к получению ошибочных результатов. Пользователь должен валидировать какие-либо изменения такого рода.
6. Реагенты поставляются в состоянии оптимального разбавления, и дополнительное их разбавление может привести к потере окраски антигена. Пользователь должен валидировать какие-либо изменения такого рода.
7. Bluing Reagent является сильнощелочным реагентом. Избегайте контакта с глазами, кожей и слизистыми оболочками. Если произойдет контакт реагента с какой-либо чувствительной частью тела, немедленно смойте или промойте пораженный участок большим количеством воды.
8. Симптомы чрезмерного воздействия могут включать раздражение кожи и слизистой оболочки глаз, раздражение слизистых оболочек и верхних дыхательных путей Другие острые эффекты включают угнетение дыхания, диарею, тошноту и рвоту. Нормы ACGIH (Американской ассоциации специалистов по промышленной гигиене) (Допустимое пороговое значение TLV): нет данных; Администрация Безопасности и Гигиены Труда США OSHA (допустимый уровень воздействия PEL): нет данных; Международное агентство по исследованию рака IARC: не включено в перечень. Нормы Национальной токсикологической программы США (NTP) - не включен в перечень.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Постадийная процедура

Bluing Reagent оптимизирован для придания окрашенных гематоксилином срезов синего цвета, если он наносится на четыре минуты и при использовании в сочетании с Ventana Hematoxylin. Манипуляции, выполняемые на автоматическом приспособлении для окраски гистологических препаратов, зависят от выбранного режима для каждой проводимой процедуры. Сведения о точной последовательности манипуляций см. в Руководстве пользователя. Параметры автоматических процедур могут быть отображены на дисплее, напечатаны и отредактированы согласно методике, описанной в Руководстве пользователя. Другие рабочие параметры приспособлений для окраски гистологических препаратов предварительно настроены на предприятии компании-изготовителя.

Методики окрашивания на автоматических приспособлениях для окраски гистологических препаратов компании Ventana приведены ниже. (Более подробную инструкцию и дополнительные варианты протоколов см. в вашем Руководстве пользователя).

Автоматические приспособления для окраски гистологических препаратов ES и NexES IHC

Если необходимо демаскирование антигенов:

1. Стекла депарафинируют в серии емкостей с ксилолом, проводят через батарею спиртов нисходящей крепости, воду и соответствующий буферный раствор. Проведите процедуру демаскирования антигенов и перенесите стекла в APK Wash (1X).
2. Загрузите первичные антитела, соответствующие флаконы-дозаторы диагностического набора и необходимые вспомогательные реагенты в лоток для реагентов и поместите их в автоматическое приспособление для окраски гистологических препаратов. Проверьте заполненность флаконов с жидкостями и состояние контейнеров для отходов.
3. Высушите окрашенный конец предметного стекла, а затем наклейте этикетку со штрих-кодом, которая соответствует выполняемому протоколу определения антител.
4. Загрузите депарафинированные, с демаскированными антигенами, снабженные этикетками стекла из APK Wash (1X). Избегайте высушивания ткани.

Если демаскирования антигенов не требуется:

1. Приклейте к стеклам этикетки со штрих-кодами. Стекла затем депарафинируют в серии емкостей с ксилолом, проводят через батарею спиртов нисходящей крепости, с водой и затем с APK Wash (1X).
2. Загрузите первичные антитела, соответствующие флаконы-дозаторы диагностического набора и необходимые вспомогательные реагенты в лоток для реагентов и поместите их в автоматическое приспособление для окраски гистологических препаратов.
3. Загрузите депарафинированные, снабженные этикетками стекла из APK Wash (1X). Избегайте высушивания ткани.

Автоматические приспособления для окраски гистологических препаратов BenchMark и BenchMark XT Automated Slide Stainers

1. Наклейте этикетку со штрих-кодом, которая соответствует выполняемому протоколу определения антител.
2. Загрузите первичные антитела, соответствующие флаконы-дозаторы диагностического набора и необходимые вспомогательные реагенты в лоток для реагентов и поместите их в автоматическое приспособление для окраски гистологических препаратов. Проверьте заполненность флаконов с жидкостями и состояние контейнеров для отходов.
3. Поместите стекла в автоматическое приспособление для окраски гистологических препаратов.

Для всех приборов

1. Начните проведение процесса окраски
2. По завершении процесса извлеките стекла из автоматического приспособления для окраски гистологических препаратов.
3. В случае наборов iVIEW DAB и Ventana Red промойте в мягком моющем средстве для мытья посуды или спирте для удаления жидкого покровного материала, проведите обезвоживание, очистите и покройте перманентной заключающей средой традиционным способом.
4. В случае хромогена AEC не проводите удаление воды и очистку. Заключите хромоген AEC в водорастворимую заключающую среду. Окрашенные стекла следует микроскопировать в течение двух-трех дней после окрашивания. Они стабильны, по меньшей мере, два года при надлежащем хранении при комнатной температуре (от 15 до 25 °C).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Процедуры контроля качества

Положительный гистологический контроль

Положительный гистологический контроль должен осуществляться при каждом процессе окрашивания. Примеры положительных контрольных материалов см. на вкладыше в упаковку соответствующего первичного антитела компании Ventana.

Положительные контроли используются для подтверждения того, что антитела были нанесены и что прибор работает надлежащим образом. Эта ткань может содержать как положительные, так и отрицательные окрашенные клетки или компоненты ткани и служить в качестве как положительных, так и отрицательных контрольных образцов. В качестве гистологических контролей следует использовать свежие образцы, взятые при аутопсии, биопсии или хирургические образцы, приготовленные и прошедшие фиксацию как можно быстрее после взятия, методом, аналогичным для исследуемых срезов. Эти ткани могут обеспечить контроль на всех этапах процедуры, от подготовки образцов ткани до окрашивания. Использование срезов тканей, прошедшей другой процесс фиксации или приготовленных иначе, чем исследуемые образцы, обеспечит контроль для всех реагентов и стадий метода, за исключением фиксации и обработки тканей.

Ткань со слабым положительным окрашиванием более пригодна для оптимального контроля качества и для обнаружения незначительной степени разложения реагентов.

Известные положительные гистологические контроли следует использовать только для контроля соответствия характеристик обработанных тканей и рабочих реагентов, а не как средство для постановки конкретного диагноза по образцам пациента. Если положительные гистологические контроли не обнаруживают положительного окрашивания, результаты, полученные для исследуемых образцов, считаются недействительными.

Отрицательный гистологический контроль

Та же ткань, которая используется как положительный гистологический контроль, может использоваться как отрицательный гистологический контроль. Различные виды клеток, присутствующие в большинстве срезов тканей, обеспечивают внутренний отрицательный контроль, но пользователь в этом должен убедиться. Компоненты, которые не окрашиваются, должны продемонстрировать отсутствие специфического окрашивания и дать свидетельства неспецифического фонового окрашивания. Если происходит специфическое окрашивание участков ткани, выбранных в качестве отрицательного контроля, результаты, полученные на образцах пациента, следует считать недействительными.

Необъяснимые расхождения

О необъяснимых расхождениях в контролях следует немедленно известить местное представительство компании Ventana. Если результаты контроля качества не соответствуют спецификациям, результаты, полученные на образцах пациента, следует считать недействительными. См. раздел Проблемы и их устранение в данном вкладыше. Идентифицируйте и устраните причину несоответствия, а затем повторите исследование образцов, взятых у пациента.

Реагент отрицательного контроля

С целью правильной трактовки результатов для каждого образца должен проводиться контроль по реагентам отрицательного контроля. Реагент отрицательного контроля используются взамен первичного антитела для оценки неспецифического окрашивания. Стекла следует окрашивать при помощи Negative Control Reagent (mouse) или Rabbit Negative Control, по обстоятельствам. Если используется альтернативный реагент отрицательного контроля, разбавьте до той же концентрации, что и антисыворотку (первичные антитела), при помощи Ventana Antibody Diluent. Сам раствор для разведения может использоваться в качестве альтернативы ранее описанным реагентам отрицательного контроля. Период инкубации для реагентов отрицательного контроля должен быть таким же, как период инкубации с первичными антителами.

Если используются панели нескольких антител при исследовании серий срезов, реагент отрицательного контроля на стекле может служить в качестве отрицательного контроля или контроля фонового сигнала неспецифического связывания для других антител.

Проверка качества метода определения

Перед первым использованием антитела или системы для окрашивания в диагностическом методе должна быть проверена специфичность антител на серии образцов тканей с установленными иммуногистохимическими характеристиками, представляющими собой известные положительные и отрицательные гистологические контроли (см. раздел Процедуры контроля качества, описанные на вкладыше в упаковку выбранных первичных антител компании Ventana и рекомендации по контролю качества Quality Control recommendations of the College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist[3] или руководстве NCCLS Approved Guideline[4]). Процедуры контроля качества следует повторять для каждой новой партии антител и в каждом случае, когда изменяются параметры исследования.

Интерпретация результатов

The Bluing Reagent окрашивает в синий цвет окрашенные гематоксилином срезы на предметных стеклах.

Положительный гистологический контроль

Окрашенный положительный гистологический контроль должен исследоваться в первую очередь для оценки надлежащего функционирования всех реагентов. Наличие надлежащим образом окрашенного продукта реакции на клетках-мишенях является показателем положительной реактивности. Ожидаемую цветную реакцию см. на вкладыше в упаковку используемого диагностического набора. В зависимости от продолжительности инкубации и концентрации используемого гематоксилина, контрастное окрашивание приведет к бледно- или темно-синему окрашиванию ядер клеток. Избыточное или неполное контрастное окрашивание может затруднить правильную интерпретацию результатов.

Если положительные гистологические контроли не обнаруживают положительного окрашивания, результаты, полученные для исследуемых образцов, считаются недействительными.

Отрицательный гистологический контроль

Отрицательный гистологический контроль должен исследоваться после положительного гистологического контроля для проверки специфического окрашивания целевого антигена первичными антителами. Отсутствие специфического окрашивания в случае отрицательного гистологического контроля подтверждает отсутствие кросс-реактивности антител по отношению к клеткам или клеточным компонентам. Если происходит специфическое окрашивание отрицательного гистологического контроля, результаты, полученные на образцах пациента, следует считать недействительными.

Неспецифическое окрашивание, если оно наблюдается, имеет размытый вид. Могут также наблюдаться отдельные светлые окрашенные участки соединительной ткани на срезах, передержанных в формалине. Для интерпретации результатов окрашивания следует использовать интактные клетки. Некротические и вырожденные клетки часто окрашиваются неспецифично.

Ткани пациента

Образцы тканей пациента следует исследовать последними. Интенсивность положительного окрашивания следует оценивать с учетом любого фонового окрашивания реагентами отрицательного контроля. Как и в случае любого иммуногистохимического исследования, отрицательный результат означает, что искомый антиген не обнаружен, а не то, что антиген отсутствует в исследуемых клетках или тканях. Если необходимо, используйте панель антител с целью идентификации ложно-отрицательных реакций. При интерпретации всех иммуногистохимических данных следует также исследовать морфологию каждого образца ткани при помощи среза, окрашенного гематоксилином и эозином. Данные морфологического исследования образцов тканей пациента и соответствующие клинические результаты должны анализироваться квалифицированным патоморфологом.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Иммуногистохимическая диагностика является многостадийным процессом, требующим специальной подготовки в области выбора соответствующих реагентов, тканей, их фиксации, обработки, подготовки иммуногистохимических образцов на предметных стеклах и интерпретации результатов окрашивания.
2. Окраска тканей зависит от обращения с тканями и их обработки перед окрашиванием. Неправильное проведение процесса фиксации, замораживания, оттаивания, промывки, сушки, нагрева, получения срезов или загрязнение другими тканями или жидкостями может привести к артефактам, захвату антител или ложно-отрицательным результатам. Несогласующиеся результаты могут быть получены вследствие несоблюдения режимов процессов фиксации и заливки или вследствие присущей ткани неоднородности.
3. Избыточное или неполное контрастное окрашивание может затруднить правильную интерпретацию результатов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4. Клиническая интерпретация любого положительного окрашивания или его отсутствия должна проводиться в контексте истории болезни, морфологии и прочих гистопатологических критериев. Клиническая интерпретация какого-либо окрашивания или отсутствия окрашивания должна дополняться морфологическими исследованиями и оценкой соответствующих контролей, а также другими диагностическими исследованиями. Это антитело предназначено для использования в панели антител. На квалифицированном патоморфологе лежит ответственность за достаточное знание свойств антител, реагентов и методов, используемых при получении окрашенных препаратов. Окрашивание должно проводиться в сертифицированной, имеющей соответствующую лицензию лаборатории под надзором патоморфолога, который несет ответственность за проверку окрашенных предметных стекол и обеспечение правильности положительных и отрицательных контролей.
5. Компания Ventana обеспечивает заказчика антителами и реагентами в их оптимальном для использования разведении, если соблюдаются прилагаемые инструкции. Любые отклонения от рекомендуемых методик проведения исследования могут обесценить ожидаемые результаты. Должны использоваться надлежащие контроли, что также должно регистрироваться документально. Пользователи, допускающие отклонения от рекомендуемых методик проведения исследования, должны нести ответственность за интерпретацию результатов, полученных на образцах ткани пациента.
6. Реагенты могут вступать в непредвиденные реакции при работе с ранее неисследованными тканями. Возможность протекания непредвиденных реакций даже в исследованных группах тканей нельзя полностью исключить ввиду биологической вариабельности экспрессии антигенов в неоплазмах или других патологических тканях.[5] Свяжитесь с вашим местным представительством компании Ventana и оповестите их о зарегистрированных документально непредвиденных реакциях.
7. Образцы тканей лиц, инфицированных вирусом гепатита B и содержащих поверхностный антиген (HBsAg) гепатита B, могут проявлять неспецифическое окрашивание пероксидазой хрена.[6]
8. При использовании на стадиях блокирования нормальная сыворотка из того же животного источника, что и вторичная антисыворотка, может привести к ложно-отрицательным или к ложно-положительным результатам вследствие наличия аутоиммунных антител или естественных антител.
9. Ложно-положительные результаты могут наблюдаться вследствие неиммунологического связывания белков или продуктов реакции субстрата. Они могут также объясняться псевдопероксидазной активностью (эритроциты), активностью эндогенной пероксидазы (цитохром C), активностью щелочной фосфатазы или эндогенного биотина (примеры: печень, головной мозг, молочные железы, почки), в зависимости от типа окраски с использованием иммуннохимического окрашивания.[7]
10. Как и в случае любого иммуногистохимического исследования, отрицательный результат означает, что антиген не обнаружен, а не то, что антиген отсутствует в исследуемых клетках или тканях.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ ОЖИДАЕМЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Нанесение Bluing Reagent при помощи автоматического приспособления для окраски гистологических препаратов компании Ventana после окрашивания гематоксилином приводит к изменению оттенка цвета с сине-фиолетового на синий. Информацию по ожидаемым результатам для образцов пациентов см. на вкладыше к упаковке соответствующего выбранного препарата первичных антител компании Ventana. Результаты, полученные на гистологических контролях, подтверждают, что реагенты и системы работают надлежащим образом.
2. Чувствительность зависит от сохранности антигена. Любое неправильное обращение с тканью в ходе фиксации, приготовления срезов, заливки или хранения, которые изменяют антигенность, ослабляют чувствительность определения антител и могут привести к ложно-отрицательным результатам.
3. При исследовании воспроизводимости для одного и того же реагента наблюдалось изменение цветового оттенка с сине-фиолетового на синее в 100 % случаев его использования.
4. При исследовании воспроизводимости для реагентов разных партий наблюдалось изменение цветового оттенка с сине-фиолетового на синее в 100 % случаев его использования.

ПРОБЛЕМЫ И ИХ УСТРАНЕНИЕ

1. Если положительный контроль обнаруживает более слабое окрашивание, чем ожидается, следует исследовать другие положительные контроли в одном и том же приборном исследовании с целью определения, связано ли это с первичным антителом или с одним из обычных вторичных реагентов.
2. Если положительный контроль дает отрицательный результат, следует проверить, имеет ли предметное стекло соответствующую этикетку со штрих-кодом. Если предметное стекло имеет соответствующую этикетку, следует исследовать другие положительные контроли в одном и том же приборном исследовании с целью определения, связано ли это с первичным антителом или с одним из обычных вторичных реагентов. Образцы тканей могут быть неправильно собраны, зафиксированы или депарафинированы. Следует придерживаться правильных методов сбора, хранения и фиксации.
3. Если наблюдается избыточное фоновое окрашивание, это может объясняться высокими уровнями эндогенного биотина. Следует ввести стадию блокирования биотина.
4. Если не весь парафин был удален, процедуру депарафинирования следует повторить.
5. Если специфичное окрашивание антитела слишком интенсивное, определение следует повторить со временами инкубации, последовательно уменьшаемыми на 4 минуты, вплоть до получения необходимой интенсивности окраски.
6. Если срезы тканей смываются со стекла, стекла следует проверить на наличие у них положительного заряда.
7. О корректирующем воздействии см. раздел Постадийная процедура, Руководство пользователя автоматического устройства для окраски препаратов или свяжитесь с вашим местным представительством компании Ventana.
8. Если предметные стекла с Bluing Reagent не приобретают синий цвет, убедитесь, что штрих-код стекла правилен. Если стекло имеет правильную этикетку, проверьте путем окрашивания окрашивающим в синий цвет реагентом других стекол на том же приборе, не связано ли это с дозатором Bluing Reagent. Свяжитесь с вашим местным представительством компании Ventana.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Luna, LG. Histopathologic methods and color atlas of special stains and tissue artifacts. Johnson Printers, Downers Grove, Illinois. 78-79, 1992.
2. Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and practice of histotechnology, 2nd Edition. The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1980.
3. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2001.
4. NCCLS. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. NCCLS document MM4-A- (ISBN 1-56238-396-5). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
5. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem 66(4): 194-199, 1991.
6. 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 73 (5): 626-32, 1980.
7. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. Lab Med 14: 767, 1983.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

CONFIRM™, EZ Prep™, iVIEW™ и Liquid Coverslip™ являются торговыми марками компании Ventana Medical Systems, Inc.; BenchMark®, ES®, Gen II®, NexES® и Ventana® являются зарегистрированными торговыми марками компании Ventana Medical Systems, Inc.

Защищено следующими патентами: патенты США №№ 6045 759, 6192 945 B1, 6416 713 B1 и их аналоги за границей.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.ventanamed.com

EC REP

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

Уполномоченный представитель в
Республике Беларусь:
ООО "Алмазмед"
220040, г.Минск ул. Восточная 33
пом.3, к.1.

CE

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Hematoxylin II

Номер по каталогу 790-2208 05277965001

НАЗНАЧЕНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ

Область применения

Данный реагент предназначен для диагностики *in vitro*.

Реагент для контр-окрашивания Hematoxylin II компании Ventana Medical Systems является модифицированным гематоксилином Майера и предназначен для окрашивания клеточных ядер на предметных стеклах, содержащих клетки замороженной ткани, обработанных формалином и залитых в парафин тканей или цитологических препаратов.

Клиническая интерпретация какого-либо окрашивания или отсутствия окрашивания должна дополняться морфологическими исследованиями и оценкой соответствующих контролей. Оценка должна проводиться квалифицированным патоморфологом в контексте истории болезни пациента и данных других диагностических тестов. Предостережение: Федеральное законодательство США разрешает продажу этой продукции только медицинским работникам или по их заказу.

Краткое описание и пояснения

Hematoxylin окрашивает множество компонентов тканей, включая клеточные ядра, митохондрии, муцин, гемоглобин, эластические волокна и коллаген. Красящий компонент, гематеин, связывается с тканью не напрямую, а через протраву, сульфат алюминия.

Принципы и процедуры

В целом, иммуногистохимическое окрашивание обеспечивает визуализацию антигенов посредством последовательного нанесения специфичного антитела (первичного антитела) к антигену, вторичного антитела (связывающего антитела) к первичному антителу, ферментного комплекса и хромогенного вещества с промежуточными стадиями промывки. Ферментативная активация хромогена приводит к образованию видимого продукта реакции в месте связывания антигена. Образец может затем подвергнуться контрастному окрашиванию раствором Hematoxylin, который наносят на стекло и размешивают по всей поверхности образца. Hematoxylin окрашивает ядра в синий цвет посредством связывания комплекса протравы и красителя с нуклеиновыми кислотами и белками гистонами гетерохроматина. В конце стадии инкубации автоматическое приспособление для окрашивания гистологических препаратов компании Ventana промывает стекла, чтобы остановить реакцию и удалить несвязавшийся материал. Затем образец может быть подвергнут контр-окрашиванию и накрыт покровным стеклом. Результаты интерпретируются при помощи оптического микроскопа и используются для дифференциальной диагностики патофизиологических процессов, связанных или не связанных с конкретным антигеном.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реагенты, входящие в комплект поставки

1 – флакон с Hematoxylin (≤60%) емкостью 25 мл; содержит стабилизирующий раствор гликоля и уксусной кислоты.

Разведение перед использованием, смешивание, разбавление, титрование

Не требуется никакого разведения, смешивания, разбавления или титрования. Реагент оптимизирован для использования с автоматическим приспособлением для окрашивания гистологических препаратов компании Ventana в сочетании с первичными антителами, диагностическими наборами и вспомогательными реагентами компании Ventana.

Материалы и реагенты, необходимые для работы, но не входящие в комплект поставки

Для окрашивания могут потребоваться следующие реагенты и материалы, не поставляемые с реагентом:

1. Ventana Negative Control (Monoclonal) или Negative Control (Polyoclonal)*
2. Первичные антитела
3. Предметные стекла, положительно заряженные
4. Положительные и отрицательные гистологические контроли
5. Сушильный шкаф, способный поддерживать температуру 70 ± 5 °C
6. Этикетки со штрих-кодами (требуются для отрицательного контроля и для исследуемого первичного антитела)
7. 10 % нейтральный забуференный раствор формалина
8. Сосуды или кюветы для окрашивания микропрепаратов
9. Таймер
10. Ксилол
11. Этанол или спиртовой реактив
12. Деионизованная или дистиллированная вода
13. Biocare Medical's Decloaking Chamber* (для автоматических приспособлений для окрашивания гистологических препаратов NexES® IHC)
14. Автоматические приспособления для окрашивания гистологических препаратов NexES® IHC и серии BenchMark®
15. Диагностические наборы Ventana *i*VIEW™ DAB, AEC, V Red (ALK PHOS) или Enhanced V Red
16. Ventana Amplification Kit*
17. Ventana Endogenous Biotin Blocking Kit*
18. Ventana APK Wash Solution Concentrate (10X)* (для автоматических приспособлений для окрашивания гистологических препаратов NexES IHC)
19. Ventana Low Temperature Liquid Coverslip™ Solution Pre-dilute (для автоматических приспособлений для окрашивания гистологических препаратов NexES IHC)
20. Ventana EZ Prep™ Solution Concentrate (10X)* (для автоматических приспособлений для окрашивания гистологических препаратов BenchMark)
21. Ventana Reaction Buffer Solution Concentrate (10X)* (для автоматических приспособлений для окрашивания гистологических препаратов серии BenchMark Series)
22. Ventana High Temperature Liquid Coverslip™ Solution Pre-dilute (для автоматических приспособлений для окрашивания гистологических препаратов серии BenchMark Series)
23. Ventana Cell Conditioning 1 Solution Pre-dilute (CC1), Cell Conditioning 2 Solution Pre-dilute (CC2) (для автоматических приспособлений для окрашивания гистологических препаратов серии BenchMark Series)*
24. Ventana Protease I, II, или III*
25. Ventana Bluing Reagent*
26. Заключающая среда
27. Покровное стекло
28. Оптический микроскоп (20-80X)

* По мере необходимости для решения конкретных практических задач.

Хранение и обращение

Хранить при температуре от 2 до 8 °C. Не замораживать. Пользователь должен валидировать любые условия хранения, отличные от указанных на вкладыше в упаковку.

Для обеспечения надлежащего дозирования и сохранности реагента после каждого определения колпачок должен быть возвращен на место, а флакон-дозатор должен быть немедленно помещен в холодильник в вертикальном положении. На каждом флаконе-дозаторе указана дата окончания срока годности. При надлежащем хранении реагент сохраняет стабильность до даты, указанной на этикетке. Запрещено использовать реагент после окончания срока годности для предписанного способа хранения.

Признаком порчи данного продукта является осаждение реагента с просветлением раствора. При первых признаках возможной порчи реагента свяжитесь с вашим местным представительством компании Ventana.

Сбор образцов и подготовка к проведению анализа

Замороженные срезы

Рекомендуется следующая методика: поместите свежие ткани в заключающую среду OCT и мгновенно заморозьте в жидком азоте или в изопентане, охлаждаемом сухим льдом. Замороженные ткани следует хранить при -80 °C до приготовления срезов. Из образцов, взятых при биопсии, приготавливают срезы толщиной от 4 до 6 мкм, размещают на чистых предметных стеклах и немедленно помещают в холодный ацетон (0-8 °C) на 10 - 30 минут. После извлечения из ацетона стеклам дают высохнуть на воздухе от 10 минут до 1 часа

Цитологические образцы

Приготовленные на оборудовании марки Cytospin клеточные мазки и мазки крови следует приготовить в соответствии со стандартными лабораторными методиками.

1. Высушите стекла на воздухе в течение 30 минут.
2. Проведите фиксацию в холодном ацетоне (от 0 до 8 °C) в течение 10 – 30 минут.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3. Извлеките из ацетона и высушите на воздухе в течение 10 минут – 1 часа.
4. Поместите в эксикатор с влагопоглотителем не более чем на 10 дней. Если срезы должны храниться более 10 дней, плотно заверните их в алюминиевую фольгу и храните при -80 °C.
5. Дайте стеклам нагреться до комнатной температуры после извлечения из среды с температурой -80 °C (стеклам, завернутым в алюминиевую фольгу, дайте нагреться до комнатной температуры перед удалением алюминиевой фольги во избежание конденсации влаги на образцах)
6. Приклейте этикетки со штрих-кодами к стеклам и загрузите в автоматическое приспособление для окрашивания гистологических препаратов

Обработанные формалином и залитые в парафин ткани

Обработанные согласно установленным методикам, прошедшие фиксацию формалином и залитые парафином ткани пригодны для исследования с помощью данного реагента, если используются с первичными антителами, диагностическими наборами, вспомогательными материалами компании Ventana и автоматическим приспособлением для окрашивания гистологических препаратов Ventana (см. раздел «Материалы и реагенты, необходимые для работы, но не входящие в комплект поставки»). Рекомендуется использовать в качестве фиксатора для ткани 10 % нейтральный забуференный раствор формалина.[1] Результаты могут изменяться вследствие увеличения времени фиксации или в результате влияния специальных методов обработки, таких как декальцификация препаратов костного мозга.

Каждый срез должен иметь надлежащую толщину и быть помещен на положительно заряженное предметное стекло. Стекла со срезами ткани могут быть прогреты по меньшей мере 2 часа (но не более 24 часов) в термостате при температуре 70 ± 5 °C.

Ручной метод депарафинирования

Требуется, если используются автоматические приспособления для окрашивания гистологических препаратов NexES IHC или если не выбрано депарафинирование на автоматическом приспособлении для окрашивания гистологических препаратов серии BenchMark.

1. Указания относительно того, когда прикреплять этикетки со штрих-кодами к предметным стеклам – см. раздел Инструкции по применению соответствующего автоматического приспособления для окрашивания гистологических препаратов.
2. Погрузите стекла последовательно в 3 кюветы с ксилолом, на 5 ± 1 минут в каждую.
3. Перенесите стекла в 100 % этанол и погрузите последовательно в 2 кюветы, на 3 ± 1 минуты в каждую.
4. Перенесите стекла в 95 % этанол и погрузите их в кювету с этим раствором на 3 ± 1 минуты.
5. Перенесите стекла в 80 % этанол и погрузите их в кювету с этим раствором на 3 ± 1 минуты.
6. Перенесите стекла в кювету с деионизированной или дистиллированной водой и окуните их не менее 10 раз.
7. Перенесите стекла в APK Wash (1X) solution или буферный раствор, если это требуется. В случае APK Wash solution стекла должны оставаться в нем вплоть до вашей готовности провести процесс окрашивания. В случае буферного раствора стекла должны оставаться в нем вплоть до вашей готовности провести процесс демаскирования антигенов. Не давайте стеклам высохнуть.

Стекла, окрашиваемые на автоматических приспособлениях для окрашивания гистологических препаратов серии BenchMark Series, могут быть депарафинированы на приборе. Если выбирается этот вариант, проведите считывание штрих-кода со стекол и поместите их в прибор. Если этот вариант не выбран, используйте Ручной метод депарафинирования, описанный выше.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Соблюдайте соответствующие меры предосторожности при обращении с реагентами. Используйте одноразовые перчатки при работе с предполагаемыми канцерогенами или токсичными материалами (например, ксилолом или формальдегидом).
2. Избегайте контакта реагентов с глазами или слизистыми оболочками. Если произошел контакт реагентов с чувствительными областями тела, промойте их большим количеством воды.
3. С образцами, взятыми у пациентов, и всеми материалами, которые имели контакт с ними, следует обращаться как с биологически опасными материалами, и их следует утилизировать с надлежащими мерами предосторожности. Запрещено набирать жидкость в пипетку ртом.
4. Избегайте микробиологического загрязнения реагентов, поскольку это может привести к получению неправильных результатов.
5. Использование значений времени инкубации и температуры, отличных от установленных, может привести к получению ошибочных результатов. Пользователь должен валидировать какие-либо изменения такого рода.
6. Реагенты поставляются в состоянии оптимального разбавления, и дополнительное их разбавление может привести к потере окрашивания антигена. Пользователь должен валидировать какие-либо изменения такого рода.
7. Симптомы чрезмерного воздействия могут включать раздражение кожи и слизистой оболочки глаз, раздражение слизистых оболочек и верхних дыхательных путей. Нормы ACGIH (Американской ассоциации специалистов по промышленной гигиене) (Допустимое пороговое значение TLV): не регламентируется; Администрация Безопасности и Гигиены Труда США OSHA (допустимый уровень воздействия PEL): нет данных; Международное агентство по исследованию рака IARC: не включено в перечень. Нормы Национальной токсикологической программы США (NTP) - не включен в перечень.
8. Обратитесь к местным или государственным органам власти для получения информации о рекомендуемом методе утилизации.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Постадийная процедура

Hematoxylin II оптимизирован для обеспечения небольшого разброса результатов при окрашивании ядер, когда он наносится на четыре минуты, при использовании в сочетании с первичными антителами, диагностическими наборами и вспомогательными материалами компании Ventana на автоматическом приспособлении для окрашивания гистологических препаратов компании Ventana. Манипуляции, выполняемые на автоматическом приспособлении для окрашивания гистологических препаратов, зависят от выбранного режима для каждой проводимой процедуры. Сведения о точной последовательности манипуляций см. в Руководстве пользователя. Параметры выполнения автоматических процедур можно просмотреть, распечатать и изменить в соответствии с руководством по эксплуатации. Другие рабочие параметры автоматических приспособлений для окрашивания гистологических препаратов предварительно настроены на предприятии компании-изготовителя.

Методики окрашивания на автоматических приспособлениях для окрашивания гистологических препаратов компании Ventana приведены ниже. (Более подробную инструкцию и дополнительные варианты протоколов см. в своем Руководстве пользователя).

Автоматические приспособления для окрашивания гистологических препаратов NexES IHC

Если необходимо демаскирование антигенов:

1. Стекла депарафинируют в серии емкостей с ксилолом, проводят через батарею спиртов нисходящей крепости, воду и соответствующий буферный раствор. Проведите процедуру демаскирования антигенов и перенесите стекла в APK Wash (1X).
2. Загрузите первичные антитела, соответствующие флаконы-дозаторы диагностического набора и необходимые вспомогательные реагенты в лоток для реагентов и поместите их в автоматическое приспособление для окрашивания гистологических препаратов. Проверьте заполненность флаконов с жидкостями и состояние контейнеров для отходов.
3. Высушите окрашенный конец предметного стекла, а затем наклейте этикетку со штрих-кодом, которая соответствует выполняемому протоколу определения антител.
4. Загрузите депарафинированные, с демаскированными антигенами, снабженные этикетками стекла из APK Wash (1X). Избегайте высушивания ткани.

Если демаскирования антигенов не требуется:

1. Приклейте к стеклам этикетки со штрих-кодами. Стекла затем депарафинируют в серии емкостей с ксилолом, проводят через батарею спиртов нисходящей крепости, с водой и затем с APK Wash (1X).
2. Загрузите первичные антитела, соответствующие флаконы-дозаторы диагностического набора и необходимые вспомогательные реагенты в лоток для реагентов и поместите их в автоматическое приспособление для окрашивания гистологических препаратов.
3. Загрузите депарафинированные, снабженные этикетками стекла из APK Wash (1X). Избегайте высушивания ткани.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Автоматические приспособления для окрашивания гистологических препаратов серии BenchMark

1. Наклейте этикетку со штрих-кодом, которая соответствует выполняемому протоколу определения антител.
2. Загрузите первичные антитела, соответствующие флаконы-дозаторы диагностического набора и необходимые вспомогательные реагенты в лоток для реагентов и поместите их в автоматическое приспособление для окрашивания гистологических препаратов. Проверьте заполненность флаконов с жидкостями и состояние контейнеров для отходов.
3. Поместите стекла в автоматическое приспособление для окрашивания гистологических препаратов.

Для всех приборов

1. Начните проведение процесса окрашивания.
2. По завершении процесса извлеките стекла из автоматического приспособления для окрашивания гистологических препаратов.
3. В случае наборов *i*VIEW DAB и Ventana Red промойте в мягком моющем средстве для мытья посуды или спирте для удаления жидкого покровного материала, проведите обезвоживание, очистите и покройте перманентной заключающей средой традиционным способом.
4. В случае хромогена AEC не проводите удаление воды и очистку. Заключите хромоген AEC в водорастворимую заключающую среду. Окрашенные стекла следует микроскопировать в течение двух-трех дней после окрашивания. Они стабильны, по меньшей мере, два года при надлежащем хранении при комнатной температуре (от 20 до 28 °C).

Процедуры контроля качества

Положительный гистологический контроль

Положительный гистологический контроль должен осуществляться при каждом процессе окрашивания. Примеры положительных контрольных материалов см. на вкладыше в упаковку соответствующего первичного антитела компании Ventana.

Положительные контроли используются для подтверждения того, что антитела были нанесены и что прибор работает надлежащим образом. Эта ткань может содержать как положительные, так и отрицательные окрашенные клетки или компоненты ткани и служить в качестве как положительных, так и отрицательных контрольных образцов. В качестве гистологических контролей следует использовать свежие образцы, взятые при аутопсии, биопсии или хирургические образцы, приготовленные и прошедшие фиксацию как можно быстрее после взятия, методом, аналогичным для исследуемых срезов. Эти ткани могут обеспечить контроль на всех этапах процедуры, от подготовки образцов ткани до окрашивания. Использование срезов ткани, прошедшей другой процесс фиксации или приготовленной иначе, чем исследуемые образцы, обеспечит контроль для всех реагентов и стадий метода, за исключением фиксации и обработки тканей.

Ткань со слабым положительным окрашиванием более пригодна для оптимального контроля качества и для обнаружения незначительной степени разложения реагентов.

Известные положительные гистологические контроли следует использовать только для контроля соответствия характеристик обработанных тканей и рабочих реагентов, а не как средство для постановки конкретного диагноза по образцам пациента. Если положительные гистологические контроли не обнаруживают положительного окрашивания, результаты, полученные для исследуемых образцов, считаются недействительными.

Отрицательный гистологический контроль

Та же ткань, которая используется как положительный гистологический контроль, может использоваться как отрицательный гистологический контроль. Различные виды клеток, присутствующие в большинстве срезов тканей, обеспечивают внутренний отрицательный контроль, но пользователь в этом должен убедиться. Компоненты, которые не окрашиваются, должны продемонстрировать отсутствие специфического окрашивания и дать свидетельства неспецифического фонового окрашивания. Если происходит специфическое окрашивание участков ткани, выбранных в качестве отрицательного контроля, результаты, полученные на образцах пациента, следует считать недействительными.

Необъяснимые расхождения

О необъяснимых расхождениях в контролях следует немедленно известить местное представительство компании Ventana. Если результаты контроля качества не соответствуют спецификациям, результаты, полученные на образцах пациента, следует считать недействительными. См. раздел «Проблемы и их устранение» в данном вкладыше. Идентифицируйте и устраните причину несоответствия, а затем повторите исследование образцов, взятых у пациента.

Реагент отрицательного контроля

С целью правильной трактовки результатов для каждого образца должен проводиться контроль по реагентам отрицательного контроля. Реагент отрицательного контроля используются взамен первичного антитела для оценки неспецифического окрашивания. Стекла следует окрашивать при помощи Negative Control (Monoclonal) или Negative Control (Polyclonal), по обстоятельствам. Если используется альтернативный реагент отрицательного контроля, разбавьте до той же концентрации, что и антисыворотку (первичные антитела), при помощи Ventana Antibody Diluent. Сам раствор для разведения может использоваться в качестве альтернативы ранее описанным реагентам отрицательного контроля. Период инкубации для реагентов отрицательного контроля должен быть таким же, как период инкубации с первичными антителами.

Если используются панели нескольких антител при исследовании серий срезов, реагент отрицательного контроля на стекле может служить в качестве отрицательного контроля или контроля фонового сигнала неспецифического связывания для других антител.

Проверка качества метода определения

Перед первым использованием антитела или системы для окрашивания в диагностическом методе должна быть проверена специфичность антител на серии образцов тканей с установленными иммуногистохимическими характеристиками, представляющими собой известные положительные и отрицательные гистологические контроли (см. раздел Процедуры контроля качества, описанные на вкладыше в упаковку выбранных первичных антител компании Ventana и рекомендации по контролю качества Quality Control recommendations of the College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist[2] или руководстве NCCLS Approved Guideline[3]). Процедуры контроля качества следует повторять для каждой новой партии антител и в каждом случае, когда изменяются параметры исследования.

Интерпретация результатов

Процедура автоматического иммуноокрашивания компании Ventana приводит к получению окрашенного продукта реакции, который осаждается в местах связывания антигена с первичным антителом. Ожидаемую цветную реакцию см. на вкладыше в упаковку используемого диагностического набора. Нанесение Hematoxylin II как реагента для контрастного окрашивания проводит к синему окрашиванию гетерохроматина в ядрах клеток. Квалифицированный патоморфолог, имеющий опыт иммуногистохимических исследований, должен оценить положительные и отрицательные контроли перед интерпретацией полученных результатов.

Положительный гистологический контроль

Окрашенный положительный гистологический контроль должен исследоваться в первую очередь для оценки надлежащего функционирования всех реагентов. Наличие надлежащим образом окрашенного продукта реакции на клетках-мишенях является показателем положительной реактивности. Ожидаемую цветную реакцию см. во вкладыше в упаковку используемого диагностического набора. В зависимости от продолжительности инкубации и концентрации используемого гематоксилина, контр-окрашивание приведет к бледно- или темно-синему окрашиванию ядер клеток. Избыточное или неполное контр-окрашивание может затруднить правильную интерпретацию результатов.

Если положительные гистологические контроли не обнаруживают положительного окрашивания, результаты, полученные для исследуемых образцов, считаются недействительными.

Отрицательный гистологический контроль

Отрицательный гистологический контроль должен исследоваться после положительного гистологического контроля для проверки специфического окрашивания целевого антигена первичными антителами. Отсутствие специфического окрашивания в случае отрицательного гистологического контроля подтверждает отсутствие кросс-реактивности антител по отношению к клеткам или клеточным компонентам. Если происходит специфическое окрашивание отрицательного гистологического контроля, результаты, полученные на образцах пациента, следует считать недействительными.

Неспецифическое окрашивание, если оно наблюдается, имеет размытый вид. Могут также наблюдаться отдельные светлые окрашенные участки соединительной ткани на срезах, передержанных в формалине. Для интерпретации результатов окрашивания следует использовать интактные клетки. Некротические и вырожденные клетки часто окрашиваются неспецифично.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Ткани пациента

Образцы тканей пациента следует исследовать последними. Интенсивность положительного окрашивания следует оценивать с учетом любого фонового окрашивания реагентами отрицательного контроля. Как и в случае любого иммуногистохимического исследования, отрицательный результат означает, что искомый антиген не обнаружен, а не то, что антиген отсутствует в исследуемых клетках или тканях. Если необходимо, используйте панель антител с целью идентификации ложно-отрицательных реакций. При интерпретации всех иммуногистохимических данных следует также исследовать морфологию каждого образца ткани при помощи среза, окрашенного гематоксилином и эозином. Данные морфологического исследования образцов тканей пациента и соответствующие клинические результаты должны анализироваться квалифицированным патоморфологом.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Иммуногистохимическая диагностика является многостадийным процессом, требующим специальной подготовки в области выбора соответствующих реагентов, тканей, их фиксации, обработки, подготовки иммуногистохимических образцов на предметных стеклах и интерпретации результатов окрашивания.
2. Окрашивание тканей зависит от обращения с тканями и их обработки перед окрашиванием. Неправильное проведение процесса фиксации, замораживания, оттаивания, промывки, сушки, нагрева, получения срезов или загрязнение другими тканями или жидкостями может привести к артефактам, захвату антител или ложно-отрицательным результатам. Несогласующиеся результаты могут быть получены вследствие несоблюдения режимов процессов фиксации и заливки или вследствие присущей ткани неоднородности.
3. Избыточное или неполное контр-окрашивание может затруднить правильную интерпретацию результатов.
4. Клиническая интерпретация любого положительного окрашивания или его отсутствия должна проводиться в контексте истории болезни, морфологии и прочих гистопатологических критериев. Клиническая интерпретация какого-либо окрашивания или отсутствия окрашивания должна дополняться морфологическими исследованиями и оценкой соответствующих контролей, а также другими диагностическими исследованиями. Это антитело предназначено для использования в панели антител. На квалифицированном патоморфологе лежит ответственность за достаточное знание свойств антител, реагентов и методов, используемых при получении окрашенных препаратов. Окрашивание должно проводиться в сертифицированной, имеющей соответствующую лицензию лаборатории под надзором патоморфолога, который несет ответственность за проверку окрашенных предметных стекол и обеспечение правильности положительных и отрицательных контролей.
5. Компания Ventana обеспечивает заказчика антителами и реагентами в их оптимальном для использования разведении, если соблюдаются прилагаемые инструкции. Любые отклонения от рекомендуемых методик проведения исследования могут обесценить ожидаемые результаты. Должны использоваться надлежащие контроли, что также должно регистрироваться документально. Пользователи, допускающие отклонения от рекомендуемых методик проведения исследования, должны нести ответственность за интерпретацию результатов, полученных на образцах ткани пациента.
6. Реагенты могут вступать в непредвиденные реакции при работе с ранее неисследованными тканями. Возможность протекания непредвиденных реакций даже в исследованных группах тканей нельзя полностью исключить ввиду биологической вариабельности экспрессии антигенов в неоплазмах или других патологических тканях.[4] Свяжитесь с вашим местным представительством компании Ventana и оповестите их о зарегистрированных документально непредвиденных реакциях.
7. Образцы тканей лиц, инфицированных вирусом гепатита B и содержащих поверхностный антиген (HBsAg) гепатита B, могут проявлять неспецифическое окрашивание пероксидазой хрена.[5]
8. При использовании на стадиях блокирования нормальная сыворотка из того же животного источника, что и вторичная антисыворотка, может привести к ложно-отрицательным или к ложно-положительным результатам вследствие наличия аутоиммунных антител или естественных антител.
9. Ложно-положительные результаты могут наблюдаться вследствие неиммунологического связывания белков или продуктов реакции субстрата. Они могут также объясняться псевдопероксидазной активностью (эритроциты), активностью эндогенной пероксидазы (цитохром C), активностью щелочной фосфатазы или эндогенного биотина (примеры: печень, головной мозг, молочные железы, почки), в зависимости от типа окрашивания с использованием иммунной метки.[6]
10. Как и в случае любого иммуногистохимического исследования, отрицательный результат означает, что антиген не обнаружен, а не то, что антиген отсутствует в исследуемых клетках или тканях.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ ОЖИДАЕМЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Нанесение Hematoxylin II при помощи автоматического приспособления для окрашивания гистологических препаратов компании Ventana приводит к синему окрашиванию гетерохроматина в ядрах клеток. Информацию по ожидаемым результатам для образцов пациентов см. на вкладыше к упаковке соответствующего препарата первичных антител компании Ventana. Результаты, полученные на гистологических контролях, подтверждают, что реагенты и системы работают надлежащим образом.
2. Чувствительность зависит от сохранности антигена. Любое неправильное обращение в ходе фиксации, приготовления срезов, заливки или хранения, которые изменяют антигенность, ослабляют чувствительность определения антител и может привести к ложно-положительным результатам.
3. При исследовании воспроизводимости для одного и того же реагента наблюдалось синее окрашивание гетерохроматина в ядрах клеток в 100 % случаев его использования.
4. При исследовании воспроизводимости между разными наборами реагента наблюдалось синее окрашивание гетерохроматина в ядрах клеток в 100 % случаев его использования.

ПРОБЛЕМЫ И ИХ УСТРАНЕНИЕ

1. Если положительный контроль обнаруживает более слабое окрашивание, чем ожидается, следует исследовать другие положительные контроли в одном и том же приборном исследовании с целью определения, связано ли это с первичным антителом или с одним из обычных вторичных реагентов.
2. Если положительный контроль дает отрицательный результат, следует проверить, имеет ли предметное стекло соответствующую этикетку со штрих-кодом. Если предметное стекло имеет соответствующую этикетку, следует исследовать другие положительные контроли в одном и том же приборном исследовании с целью определения, связано ли это с первичным антителом или с одним из обычных вторичных реагентов. Образцы тканей могут быть неправильно собраны, зафиксированы или депарафинированы. Следует придерживаться правильных методов сбора, хранения и фиксации.
3. Если наблюдается избыточное фоновое окрашивание, это может объясняться высокими уровнями эндогенного биотина. Следует ввести стадию блокирования биотина.
4. Если не весь парафин был удален, процедуру депарафинирования следует повторить.
5. Если специфичное окрашивание антитела слишком интенсивное, определение следует повторить со временами инкубации, последовательно уменьшаемыми на 4 минуты, вплоть до получения необходимой интенсивности окрашивания.
6. Если срезы тканей смываются со стекла, стекла следует проверить на наличие у них положительного заряда.
7. О корректирующем воздействии см. раздел «Постадийная процедура», Руководство по эксплуатации автоматического устройства для окрашивания препаратов или свяжитесь с вашим местным представительством компании Ventana.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and practice of histotechnology, 2nd Edition. The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1980.
2. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2001.
3. NCCLS. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. NCCLS document MM4-A- (ISBN 1-56238-396-5). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
4. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem 66(4): 194-199, 1991.
5. 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 73(5): 626-32, 1980.
6. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. Lab Med 14: 767, 1983.
7. Gill GW, Frost JK, Miller KA. A new formula for a half-oxidized hematoxylin that neither overstains nor requires differentiation. Acta Cytol 18(4): 300-311, 1974.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

CONFIRM™, EZ Prep™, *i*VIEW™ и Liquid Coverslip™ являются торговыми марками компании Ventana Medical Systems, Inc.; BenchMark®, NexES® и Ventana® являются зарегистрированными торговыми марками компании Ventana Medical Systems, Inc.

Компания Ventana гарантирует Покупателю одноразовую лицензию на использование следующих патентов: патенты США №№ 6045759, 6192945 B1, 6416713 B1 и их аналоги за границей.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.ventanamed.com

EC REP

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

Уполномоченный
представитель
в Республике Беларусь: ООО
"Алмазмед" 220040, г.Минск
ул. Восточная 33
пом.3, к.1.

CE

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

VENTANA®

EZ Prep Concentrate (10X)

REF 950-102

05279771001

IVD

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Раствор Ventana Medical Systems' (Ventana) EZ Prep Concentrate (10X) (EZ Prep) предназначен для удаления парафина из образцов тканей при проведении иммуногистохимических анализов *in situ* и реакций гибридизации, а также для разведения 2X SSC в ходе промывки в строгих условиях при проведении реакций гибридизации *in situ* на автоматических стейнерах марки Ventana.

Данный реагент предназначен для использования в автоматических стейнерах марки BenchMark Series.

Данный реагент предназначен для диагностики *in vitro*.

ПРИНЦИП МЕТОДИКИ

Удаление парафина из срезов залитых в парафин образцов тканей на автоматических стейнерах марки Ventana осуществляется путем сочетания нагрева, применения слабого моющего раствора (EZ Prep) и вихревого перемешивания. Нагревание приводит к расплавлению парафина в срезах. Моющий раствор снижает поверхностное натяжение водного раствора и облегчает удаление расплавленного парафина из ткани и с поверхности стекла, благодаря чему парафин всплывает на поверхность воды. Вихревое перемешивание препятствует повторному осаждению парафина на препаратах и способствует его эффективному удалению при промывке.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Реактивы в комплекте поставки

Одна бутыль EZ Prep Concentrate (10X) объемом 2 л содержит водный моющий раствор с 0,5% ProClin 300 в качестве консерванта.

Восстановление, смешивание, разведение и титрация

Перед употреблением раствор EZ Prep Concentrate (10X) следует разводить девятью частями дистиллированной или деионизированной воды.

1. Перед добавлением воды в бутыль убедитесь, что вентиль находится в положении «заперто».
2. Наполните градуированную бутыль объемом 20 л дистиллированной или деионизированной водой примерно на три четверти.
3. Вылейте все содержимое бутыли с раствором EZ Prep Concentrate (10X) (объемом 2 л) в большую градуированную бутыль.
4. Долейте дистиллированную или деионизированную воду в градуированную бутыль до метки 20 л. Если при наполнении бутыли образуется большое количество пузырьков, дайте раствору отстояться до их исчезновения.
5. Закупорьте бутыль и тщательно перемешайте полученный раствор, чтобы добиться полного разведения концентрата. Раствор EZ Prep (1X) готов к употреблению.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ

Для приготовления раствора требуется дистиллированная или деионизированная вода. Дополнительные материалы, включая первичные антитела производства Ventana, зонды, наборы для визуализации и вспомогательные компоненты, в комплект поставки не входят.

Хранение и обращение

Хранить при комнатной температуре (15–30 °C). Не замораживать.

На емкости с реагентом указан срок годности. При условии надлежащего хранения реактив сохраняет свои свойства до даты, указанной на этикетке. Не используйте реагент после даты истечения срока годности.

Раствор EZ Prep перед использованием следует проверить на предмет микробного загрязнения. Микробное загрязнение либо нестабильность данного реагента может проявляться следующими признаками: мутность раствора, появление запаха или выпадение осадка. При появлении признаков возможного микробного загрязнения или нестабильности реагента свяжитесь с местным представительством производителя.

СПЕЦИАЛЬНЫЕ УКАЗАНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Для диагностики *in vitro*.
2. Соблюдайте все обычные предосторожности при работе с реагентами. Избегайте попадания реагентов в глаза, на кожу или слизистые оболочки. Используйте защитную одежду и перчатки.
3. ProClin 300 используется в качестве консерванта. При попадании на кожу данное вещество может вызывать раздражение. Соблюдайте все обычные меры предосторожности при работе с реагентами. Избегайте попадания реагентов в глаза, на кожу или слизистые оболочки. Используйте защитную одежду и перчатки.
4. Необходимо избегать микробного заражения данного реагента, так как оно может привести к получению недостоверных результатов.
5. По вопросам рекомендованного метода утилизации обращаться за консультацией в соответствующие местные или государственные органы.
6. Более подробная информация содержится в Сертификате безопасности материала.

ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

Предварительно разведенный раствор EZ Prep (1X) заливают в соответствующую емкость отсека для жидкостей (EZ Prep) автоматического стейнера марки Ventana. Раствор EZ Prep (1X) применяется автоматически в соответствии с выполняемым протоколом.

Реагенты марки Ventana разработаны для использования с аппаратом автоматизированной окраски препаратов (стейнером) Ventana совместно с наборами визуализации Ventana и вспомогательными принадлежностями. Рекомендуемые протоколы окрашивания для стейнеров приведены в инструкциях к соответствующим первичным антителами и зондам. Параметры автоматизированных процедур можно выводить на дисплей, распечатывать и редактировать в соответствии с процедурой, приведенной в Руководстве по эксплуатации стейнера. Остальные операционные параметры автоматического стейнера предварительно запрограммированы производителем. Более подробная информация и дополнительные опции при выполнении протоколов окрашивания содержатся в инструкции к стейнеру.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Раствор EZ Prep применяется для депарафинизации образцов ткани в ходе иммуногистохимических анализов, проводимых исключительно на автоматических стейнерах марки BenchMark Series. Тестирование раствора EZ Prep было проведено на ряде панелей антител для тканей груди, лимфом и лейкемий при различной длительности инкубации для отдельных типов тканей. В число антител входили PR, ER, Ki67, p53, CD5, CD3, CD10, CD79a, Bcl-2, CD15, CD30, Cyclin D1, Synaptophysin, Keratin, CD8, CD4 и Vimentin.

Воспроизводимость в пределах одного подхода и между подходами на одном приборе определялась различием в интенсивности окрашивания для каждого из трех препаратов на подход между тремя подходами. Во всех случаях различия в интенсивности окрашивания между препаратами в пределах одного подхода и между отдельными подходами при оценке тремя специалистами-патоморфологами не отличались более чем на одну ступень оценки. Во всех случаях степень и качество морфологического окрашивания было признано удовлетворительным для всех просмотренных образцов тканей.

ПОИСК И УСТРАНЕНИЕ ПРОБЛЕМ

1. Если парафин не был удален полностью, повторите процедуру депарафинизации.
2. Более подробная информация приводится в руководстве пользователя стейнера. Кроме того, можно обратиться за помощью к местному представителю компании.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

BENCHMARK, VENTANA и логотип VENTANA являются торговыми марками Roche.

Все другие товарные знаки являются собственностью соответствующих владельцев.

©2012 Ventana Medical Systems, Inc.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.ventana.com

EC REP

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

Уполномоченный представитель
в Республике Беларусь:
ООО "Алмазмед"
220040, г.Минск ул. Восточная 33
пом.3, к.1.

CE

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Cell Conditioning Solution (CC1)

Номер по каталогу: 950-124 05279801001

НАЗНАЧЕНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ

Область применения

Данный реагент предназначен для диагностики *in vitro*.

Раствор для кондиционирования клеток Cell Conditioning Solution (CC1) компании Ventana® Medical Systems (Ventana) представляет собой готовый раствор, используемый в процессе предварительной подготовки образцов ткани, предназначенных для проведения иммуногистохимических (IHC) реакций при помощи автоматических устройств для окрашивания образцов BenchMark® и BenchMark XT компании Ventana.

Краткое описание и пояснения

CC1 представляет собой буфер на основе трис-(гидроксиметил)-аминометана, не подлежащий разбавлению. CC1 наливают в специально предназначенное место (сосуд для CC1) автоматизированного жидкостного модуля, расположенного в автоматическом устройстве для окрашивания гистологических препаратов. Прибор автоматически дозирует CC1 по мере необходимости, согласно исполняемой программе, заложенной в автоматическое устройство для окрашивания.

Принципы и процедуры

Фиксация ткани формалином приводит к образованию ковалентных связей между альдегидом и аминогруппами, имеющимися в ткани. Образование этих связей вызывает денатурацию белка и может привести к утрате антигенных свойств. Помимо этого, формальдегид способен образовывать метиленовые мостики, сшивающие протеины ткани в поперечном направлении; тем самым уменьшается проницаемость ткани по отношению к большим молекулам наподобие антител.

CC1 представляет собой буфер на основе трис-(гидроксиметил)-аминометана, имеющий слабощелочной pH; при повышенных температурах он способен гидролизовать ковалентные связи, образованные формалином в структуре ткани. Разрыв этих связей делает возможным ренатурацию молекул белка и повышает их доступность для антител. Зачастую эти изменения приводят к значительному приросту связывания антитела и повышению отношения сигнал/шум. Устройство для окрашивания автоматически нагревает срезы до нужной температуры с выдержкой в течение определенного времени, задаваемого пользователем.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реагенты, входящие в комплект поставки

1 - Бутыль емкостью 2 л с раствором CC1, содержит буфер на основе трис-(гидроксиметил)-аминометана с добавкой консерванта.

Разведение перед использованием, смешивание, разбавление, титрование

Данный реагент готов к употреблению непосредственно из флакона и не требует разбавления.

Материалы и реагенты, необходимые для работы, но не входящие в комплект поставки

Могут потребоваться следующие реагенты и материалы, не поставляемые с диагностическим набором

1. Ventana Negative Control Reagent или Rabbit Negative Control
2. Предметные стекла, положительно заряженные
3. Положительные и отрицательные гистологические контроли
4. Сушильный шкаф, способный поддерживать температуру 70 °C ± 5 °C
5. Этикетки с штрих-кодами (согласно соответствующему протоколу)
6. 10 % нейтральный забуференный раствор формалина
7. Сосуды или кюветы для окрашивания микропрепаратов
8. Таймер
9. Ксилол
10. Этанол или спиртовой реактив
11. Деионизованная или дистиллированная вода
12. Автоматические приспособления для окраски гистологических препаратов BenchMark и BenchMark XT
13. Диагностические наборы *i*VIEW™ DAB, AEC, V Red (ALK PHOS) или Enhanced V Red*
14. Ventana Endogenous Biotin Blocking Kit*
15. Primary Antibody
16. Раствор EZ Prep™ компании Ventana*
17. Жидкое покровное стекло Ventana LCS
18. Ventana Protease I, II, или III*
19. Краситель для контр-окрашивания Ventana Hematoxylin Counterstain*
20. Ventana Bluing Reagent*
21. Ventana Reaction Buffer
22. Заключающая среда
23. Покровное стекло
24. Оптический микроскоп (20-80X)

* По мере необходимости для решения конкретных практических задач.

Хранение и обращение

CC1 следует хранить при комнатной температуре (от 15 до 30 °C). Беречь от прямого солнечного света. Не замораживать. Пользователь должен валидировать любые условия хранения, отличные от указанных на вкладыше в упаковку.

На бутыли с реагентом указана дата окончания срока годности. При надлежащем хранении реагент сохраняет стабильность до даты, указанной на этикетке. Запрещено использовать реагент после окончания срока годности для предписанного способа хранения.

Сбор образцов и подготовка к проведению анализа

Для использования совместно с данным реагентом пригодны образцы ткани, обработанные обычным способом, зафиксированные формалином и залитые в парафин; предполагается одновременное использование диагностических наборов компании Ventana и автоматического устройства для окрашивания гистологических препаратов (см. раздел Материалы и реагенты, необходимые для работы, но не входящие в комплект поставки). Рекомендуется использовать в качестве фиксатора для ткани 10 % нейтральный забуференный раствор формалина. Результаты могут изменяться вследствие увеличения времени фиксации или в результате влияния специальных методов обработки, таких как декальцинирование препаратов костного мозга.

Каждый срез должен иметь надлежащую толщину и быть помещен на положительно заряженное предметное стекло. Стекла со срезами ткани можно прогреть, по меньшей мере, 2 часа (но не более 24 часов) в термостате при температуре 70 ± 5 °C.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Соблюдайте соответствующие меры предосторожности при обращении с реагентами. Используйте одноразовые перчатки при работе с предполагаемыми канцерогенами или токсичными материалами.
2. Избегайте контакта реагентов с глазами или слизистыми оболочками. Если произошел контакт реагентов с чувствительными областями тела, промойте их большим количеством воды.
3. Не курите, не употребляйте пищу или напитки в помещениях, где работают с образцами или реагентами.
4. С образцами, взятыми у пациентов, и всеми материалами, которые имели контакт с ними, следует обращаться как с биологически опасными материалами, и их следует утилизировать с надлежащими мерами предосторожности. Запрещено набирать жидкость в пипетку ртом.
5. Избегайте микробиологического загрязнения реагентов, поскольку это может привести к получению неправильных результатов.
6. Реагент может вызывать раздражение глаз и кожных покровов. Он также может оказывать раздражающее действие на слизистые оболочки и верхние дыхательные пути. У лиц с повышенной чувствительностью возможна аллергическая реакция кожных покровов и органов дыхания.
7. CC1 не относится к легковоспламеняющимся веществам.
8. При использовании в соответствии с инструкциями данный продукт не классифицируется как опасное вещество. Консервантом является реагент ProClin 5000, содержащий в качестве активных ингредиентов 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-он и 2-метил-4-изотиазолин-3-он. Симптомами чрезмерного воздействия ProClin 5000 являются раздражение кожи и слизистой оболочки глаз, раздражение слизистых оболочек и верхних дыхательных путей Концентрация консерванта ProClin 5000 в данном продукте составляет 0,05 %, что не превышает порогового критерия, установленного Управлением по охране труда США (OSHA) для опасных веществ. У чувствительных лиц возможны системные аллергические реакции.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

CC1 наливают в специально предназначенное место (сосуд для CC1) автоматизированного жидкостного модуля, расположенного в автоматическом устройстве для окрашивания гистологических препаратов компании Ventana. Образцы ткани обрабатывают CC1 после удаления парафина и перед нанесением других реагентов, используемых при определении искомого вещества или объекта в соответствии с исполняемым протоколом. Прибор осуществляет автоматическую дозировку CC1. Пользователю предоставляется возможность выбора мягкого (продолжительностью 30 минут), стандартного (60 минут) или продленного (90 минут) режима кондиционирования клеток.

Прежде чем использовать CC1 у себя в лаборатории, пользователю следует убедиться в приемлемом качестве окрашивания, для чего следует произвести окрашивание ряда положительных и отрицательных контрольных образцов ткани с известными характеристиками по отношению к антителам, которые требуют активации антигена. Для повседневного контроля достаточно выполнять своевременные тесты на положительных и отрицательных контролях. Компания Ventana рекомендует наносить положительные контроли на то же предметное стекло, что и образец пациента. Пользователи могут самостоятельно уточнять параметры методики с целью улучшения качества окрашивания при помощи опций мягкого, стандартного или продленного режима, а также варьируя время инкубации определенного первичного антитела и условия ферментации.

Постадийная процедура

Подобно другим рецептурам компании Ventana, данный реагент был разработан для использования в автоматических устройствах для окрашивания гистологических препаратов в сочетании с диагностическими наборами Ventana, а также вспомогательными реагентами и оборудованием. Рекомендуемые протоколы окрашивания для автоматических приспособлений для окраски гистологических препаратов описаны на вкладыше в упаковку выбранного первичного антитела. Параметры автоматических процедур могут быть отображены на дисплее, напечатаны и отредактированы согласно методике, описанной в Руководстве пользователя. Другие рабочие параметры автоматических приспособлений для окраски гистологических препаратов предварительно настроены на предприятии компании-изготовителя. Более подробную инструкцию и дополнительные варианты протоколов см. в вашем Руководстве пользователя.

Автоматические приспособления для окраски гистологических препаратов BenchMark и BenchMark XT Automated Slide Stainers

1. Нанесите на предметное стекло этикетку со штрих-кодом в соответствии с выполняемым протоколом.
2. Поместите первичные антитела, соответствующие флаконы-дозаторы диагностического набора и необходимые вспомогательные реагенты в лоток для реагентов, а затем установите лоток в автоматическое устройство для окрашивания препаратов. Проверьте заполненность флаконов с жидкостями и состояние контейнеров для отходов.
3. Поместите стекла в автоматическое приспособление для окраски гистологических препаратов.
4. Начните проведение процесса окраски
5. По завершении процесса извлеките стекла из автоматического приспособления для окраски гистологических препаратов.
6. В случае наборов *i*VIEW DAB и Ventana Red промойте в мягком моющем средстве для мытья посуды или спирте для удаления жидкого покровного материала, проведите обезвоживание, очистите и покройте перманентной заключающей средой традиционным способом.
7. В случае хромогена AEC не проводите удаление воды и очистку. Заключите хромоген AEC в водорастворимую заключающую среду. Окрашенные стекла следует микроскопировать в течение двух-трех дней после окрашивания. Они стабильны, по меньшей мере, два года при надлежащем хранении при комнатной температуре (от 20 до 28 °C).

Процедуры контроля качества

Положительный гистологический контроль

Положительный гистологический контроль должен осуществляться при каждом процессе окрашивания.

Компоненты положительного окрашивания тканей используются для подтверждения того, что реагенты были нанесены и что прибор работает надлежащим образом. Эта ткань может содержать как положительные, так и отрицательные окрашенные клетки или компоненты ткани и служить в качестве как положительных, так и отрицательных контрольных образцов. В качестве гистологических контролей следует использовать свежие образцы, взятые при аутопсии, биопсии или хирургические образцы, приготовленные и прошедшие фиксацию как можно быстрее после взятия, методом, аналогичным для исследуемых срезов. Эти ткани могут обеспечить контроль на всех этапах процедуры, от подготовки образцов ткани до окрашивания. Использование срезов тканей, прошедшей другой процесс фиксации или приготовленных иначе, чем исследуемые образцы, обеспечит контроль для всех реагентов и стадий метода, за исключением фиксации и обработки тканей.

Для оптимального контроля качества и для обнаружения незначительной степени разложения реагентов следует использовать ткань со слабым положительным окрашиванием.

Известные положительные гистологические контроли следует использовать только для контроля соответствия характеристик обработанных тканей и рабочих реагентов, а не как средство для постановки конкретного диагноза по образцам пациента. Если положительные гистологические контроли не обнаруживают положительного окрашивания, результаты, полученные для исследуемых образцов, считаются недействительными.

Отрицательный гистологический контроль

Та же ткань, которая используется как положительный гистологический контроль, может использоваться как отрицательный гистологический контроль. Различные виды клеток, присутствующие в большинстве срезов тканей, обеспечивают внутренний отрицательный контроль, но пользователь в этом должен убедиться. Компоненты, которые не окрашиваются, должны продемонстрировать отсутствие специфического окрашивания и дать свидетельства неспецифического фонового окрашивания. Если происходит специфическое окрашивание участков ткани, выбранных в качестве отрицательного контроля, результаты, полученные на образцах пациента, следует считать недействительными.

Необъяснимые расхождения

О необъяснимых расхождениях в контролях следует немедленно известить местное представительство компании Ventana. Если результаты контроля качества не соответствуют спецификациям, результаты, полученные на образцах пациента, следует считать недействительными. См. раздел Проблемы и их устранение в данном вкладыше. Идентифицируйте и устраните причину несоответствия, а затем повторите исследование образцов, взятых у пациента.

Реагент отрицательного контроля

С целью правильной интерпретации результатов иммуногистохимических исследований для каждого образца должен проводиться тест с использованием реагента для отрицательного контроля. Реагент отрицательного контроля используются взамен первичного антитела для оценки неспецифического окрашивания. Стекла следует окрашивать при помощи Negative Control Reagent (mouse) или Rabbit Negative Control, по обстоятельствам. Если используется альтернативный реагент отрицательного контроля, разбавьте до той же концентрации, что и антисыворотку (первичные антитела), при помощи Ventana Antibody Diluent. Сам раствор для разведения может использоваться в качестве альтернативы ранее описанным реагентам отрицательного контроля. Период инкубации для реагентов отрицательного контроля должен быть таким же, как период инкубации с первичными антителами.

Если используются панели нескольких антител при исследовании серий срезов, реагент отрицательного контроля на стекле может служить в качестве отрицательного контроля или контроля фонового сигнала неспецифического связывания для других антител.

Проверка качества метода определения

Перед первым использованием системы для окрашивания в диагностическом методе должна быть проверена специфичность системы на серии образцов тканей с установленными характеристиками процесса окрашивания, представляющей собой положительные и отрицательные гистологические контроли (см. Процедуры контроля качества, описанные в этом разделе вкладыша к продукту и рекомендации по контролю качества Quality Control recommendations of the College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist и руководство NCCLS Approved Guideline). Процедуры контроля качества следует повторять для каждой новой партии первичных антител и в каждом случае, когда изменяются параметры исследования.

Интерпретация результатов

Процедуры автоматического окрашивания компании Ventana приводят к получению окрашенных продуктов реакции. Ожидаемую цветную реакцию см. на вкладыше в упаковку используемого диагностического набора. Квалифицированный

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

патоморфолог должен оценить положительные и отрицательные контроли перед интерпретацией полученных результатов.

Положительный гистологический контроль

Окрашенный положительный гистологический контроль должен исследоваться в первую очередь для оценки надлежащего функционирования всех реагентов. Наличие надлежащим образом окрашенного продукта реакции на клетках-мишенях является показателем положительной реактивности. Ожидаемую цветную реакцию см. во вкладыше в упаковку используемого диагностического набора. Интенсивность контр-окрашивания зависит от выбранного времени инкубации.

В зависимости от продолжительности инкубации и концентрации используемого раствора гематоксилина, применение контрастного фона для иммуногистохимического анализа будет сопровождаться окрашиванием ядер клеток в цвета от бледно- до темно-синего.

Избыточное или неполное контр-окрашивание может затруднить правильную интерпретацию результатов.

Если положительные гистологические контроли не обнаруживают положительного окрашивания, результаты, полученные для исследуемых образцов, считаются недействительными.

Ткани пациента

Образцы тканей пациента следует исследовать последними. Интенсивность положительного окрашивания следует оценивать с учетом любого фонового окрашивания реагентами отрицательного контроля.

Отрицательный результат в иммуногистохимических тестах означает лишь то, что искомый антиген не обнаружен, но не означает, что антиген отсутствует в исследуемых клетках или тканях. Если необходимо, используйте панель антител с целью идентификации ложно-отрицательных реакций.

При интерпретации всех данных следует также исследовать морфологию каждого образца при помощи среза, окрашенного гематоксилином и эозином. Данные морфологического исследования образцов тканей пациента и соответствующие клинические результаты должны анализироваться квалифицированным патоморфологом.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Общие ограничения

1. Иммуногистохимическая диагностика является многостадийным процессом, требующим специальной подготовки в области выбора соответствующих реагентов, образцов тканей, их фиксации, обработки, подготовки образцов на предметных стеклах и интерпретации результатов окрашивания.
2. Ложно-положительные результаты в иммуногистохимических тестах могут наблюдаться вследствие неспецифического (не иммунологического) связывания белков или продуктов реакции субстрата. Они могут также объясняться псевдопероксидазной активностью (эритроциты), активностью эндогенной пероксидазы (цитохром С), эндогенной щелочной фосфатазы или эндогенного биотина (примеры: печень, головной мозг, молочные железы, почки), в зависимости от типа иммуннохимического окрашивания.
3. Окраска тканей зависит от обращения с тканями и их обработки перед окрашиванием. Неправильное проведение процесса фиксации, замораживания, оттаивания, промывки, сушки, нагрева, получения срезов или загрязнение другими тканями или жидкостями может привести к артефактам или ложно-отрицательным результатам. Несогласующиеся результаты могут быть получены вследствие несоблюдения режимов процессов фиксации и заливки или вследствие присущей ткани неоднородности.
4. Избыточное или неполное контр-окрашивание может затруднить правильную интерпретацию результатов.
5. Клиническая интерпретация любого положительного окрашивания или его отсутствия должна проводиться в контексте истории болезни, морфологии и прочих гистопатологических критериев. Клиническая интерпретация какого-либо окрашивания или отсутствия окрашивания должна дополняться морфологическими исследованиями и оценкой соответствующих контролей, а также другими диагностическими исследованиями. На квалифицированном патоморфологе лежит ответственность за достаточное знание свойств реагентов и методов, используемых при получении окрашенных препаратов. Окрашивание должно проводиться в сертифицированной, имеющей соответствующую лицензию лаборатории под надзором патоморфолога, который несет ответственность за проверку окрашенных предметных стекол и обеспечение правильности положительных и отрицательных контролей.
6. Компания Ventana обеспечивает заказчика реагентами в их оптимальном для использования разведении, если соблюдаются прилагаемые инструкции. Любые отклонения от рекомендуемых методик проведения исследования могут обесценить ожидаемые результаты. Должны использоваться надлежащие контроли, что также должно регистрироваться документально. Пользователи, допускающие отклонения от рекомендуемых методик проведения исследования, должны нести ответственность за интерпретацию результатов, полученных на образцах ткани пациента.
7. Реагенты могут вступать в непредвиденные реакции при работе с ранее неисследованными тканями. Возможность протекания непредвиденных реакций даже в исследованных группах тканей нельзя полностью исключить ввиду биологической вариабельности экспрессии антигенов в неоплазмах или других патологических тканях. С документированным описанием непредвиденной реакции необходимо обратиться в местное представительство компании Ventana.

Особые ограничения

1. Прежде чем использовать CC1, следует проверить его на наличие микрофлоры. Признаками загрязнения или порчи данного продукта являются: помутнение раствора, появление усиливающегося запаха или выпадение осадка из раствора. При первых признаках возможного загрязнения или порчи реагента свяжитесь с вашим местным представительством компании Ventana.
2. Состав и концентрация CC1 были специально подобраны для использования в автоматических устройствах для окрашивания компании Ventana. Разбавление продукта может привести к ухудшению характеристик прибора и возможной потере окрашивания.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ ОЖИДАЕМЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Информацию по ожидаемым результатам для образцов пациентов см. на вкладыше к упаковке соответствующего препарата первичных антител компании Ventana. Результаты, полученные на гистологических контролях, подтверждают, что реагенты и системы работают надлежащим образом.

1. Раствор для кондиционирования клеток CC1 представляет собой буфер на основе трис-(гидроксиметил)-аминометана, используемый в процессе предварительной подготовки образцов ткани, предназначенных для проведения иммуногистохимических реакций или гибридизации *in situ*. Данный реагент является функционально-независимым. Для него невозможно оценить чувствительность или специфичность; он служит качественным химическим активатором антигена-мишени и может использоваться в качестве интенсификатора при окрашивании. CC1 был испытан на множестве антител, представляющих панели заболеваний молочной железы, лимфомы, а также лейкемии, с различным временем инкубации в зависимости от конкретного вида ткани. Перечень антител включает PR, ER, ki67, p532 CD5, CD3, CD, CD10, CD79a, Bcl-2, CD15, CD30, Cyclin D1, Synaptophysin, Keratin, CD8, CD4 и Vimentin. Виды тканей включали рак молочной железы, миндалевидную железу, лимфому из клеток мантийной зоны, селезенку, опухоли надпочечника, шванному, опухоли периневрия, рак прямой кишки, рак щитовидной железы, вилочковую железу, лимфому и лимфомы Ходжкинса.
2. Была исследована воспроизводимость окрашивания между разными опытами и в одном и том же опыте путем оценки различия в интенсивности окрашивания для каждого из трех предметных стекол на каждый клинический образец для трех различных опытов. Интенсивность окрашивания для разных стекол в одном опыте и для разных опытов при считывании тремя квалифицированными патоморфологами не отличалась более чем на один балл для всех образцов.

ПРОБЛЕМЫ И ИХ УСТРАНЕНИЕ

1. Если положительный контроль обнаруживает более слабое окрашивание, чем ожидается, следует исследовать другие положительные контроли в одном и том же приборном исследовании с целью определения, связано ли это с первичным антителом или с одним из обычных вторичных реагентов.
2. Если положительный контроль дает отрицательный результат, следует проверить, имеет ли предметное стекло соответствующую этикетку со штрих-кодом. Если предметное стекло имеет соответствующую этикетку, следует исследовать другие положительные контроли в одном и том же приборном исследовании с целью определения, связано ли это с первичным антителом или с одним из обычных вторичных реагентов. Образцы могут быть неправильно собраны, зафиксированы или депарафинированы.
3. Если наблюдается избыточное фоновое окрашивание, это может объясняться высокими уровнями эндогенного биотина. Следует ввести стадию блокирования биотина.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4. Если не весь парафин был удален, процедуру депарафинирования следует повторить.
5. Если специфичное окрашивание антитела слишком интенсивное, определение следует повторить со временами инкубации, последовательно уменьшаемыми на 4 минуты, вплоть до получения необходимой интенсивности окраски.
6. Если срезы тканей смываются со стекла, стекла следует проверить на наличие у них положительного заряда.
7. О том, как внести необходимые коррективы, см. Постадийную инструкцию, Руководство пользователя к автоматическому устройству для окрашивания препаратов, или проконсультируйтесь в ближайшем представительстве компании Ventana.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Beesely JE. Immunocytochemistry and *in situ* Hybridization in the Biomedical Sciences. Birkhäuser.2001.

College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2001.

NCCLS. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. NCCLS document MM4-A- (ISBN 1-56238-396-5). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.

Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem 66(4): 194-199, 1991.

Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. Lab Med 14: 767, 1983.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

*i*VIEW™ и EZ Prep™ являются товарными знаками компании Ventana Medical Systems, Inc.; BenchMark® и Ventana® являются зарегистрированными товарными знаками компании Ventana Medical Systems, Inc.

Защищено следующими патентами: патенты США №№ 6045759, 6192945 B1, 6416713 B1 и их аналоги за границей.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.ventanamed.com

EC REP

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

Уполномоченный представитель
в Республике Беларусь:
ООО "Алмазмед"
220040, г.Минск ул. Восточная 33
пом.3, к.1.

CE

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Reaction Buffer Concentrate (10X)

Номер по каталогу 950-300 05353955001

НАЗНАЧЕНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ

Область применения

Данный реагент предназначен для диагностики *in vitro* (IVD).

Reaction Buffer Concentrate (10X) компании Ventana Medical Systems (Ventana) является буферным раствором Трис (pH 7,6 ± 0,2), использующимся для промывки предметных стекол между стадиями окрашивания и для обеспечения стабильной водной среды для исследования в области иммуногистохимии (IHC) или реакции гибридизации *in situ* (ISH), проводимых на автоматических приспособлениях для окраски гистологических препаратов BenchMark® and BenchMark XT.

Краткое описание и пояснения

Reaction Buffer Concentrate (10X) является буферным раствором Трис, который требует разбавления перед использованием. После разбавления Reaction Buffer (1X) solution наливают в бутыль прибора Reaction Buffer и размещают в соответствующем положении в жидкостном отсеке автоматического приспособления для окраски гистологических препаратов. Прибор наносит Reaction Buffer (1X) solution автоматически, как это требуется в соответствии с выполняемой процедурой. Более подробную информацию см. в соответствующем Руководстве пользователя автоматического приспособления для окраски гистологических препаратов.

Принципы и процедуры

Ventana Reaction Buffer используется как ключевой компонент для поддержания соответствующей водной среды для обеспечения протекания большого числа реакций при проведении процедур IHC и ISH, таких как общая промывка, инкубация антител и инкубация ферментов и других вспомогательных материалов при использовании автоматического приспособления для окраски гистологических препаратов.

В целом, ISH окрашивание обеспечивает визуализацию целевых ДНК и РНК посредством последовательного связывания меченых ДНК- и РНК-зондов с целевой молекулой, первичного антитела с меченым зондом, вторичного антитела с первичным антителом, ферментным комплексом и хромогенным субстратом с промежуточными стадиями промывки. Ферментная активация хромогена приводит к образованию видимого продукта реакции в сайте-мишени.

В IHC реакции принимает участие специфичное антитело, которое локализуется препаратом, конъюгатом биотина со вторичным антителом, который распознает иммуноглобулины кролика и мыши. За этой стадией следует добавление конъюгата авидин/стрептавидин-фермент, который связывается с биотином, присутствующим во вторичном антителе. Специфичное антитело, вторичное антитело, комплекс стрептавидин-фермент визуализируется затем осаждающимся продуктом ферментативной реакции. На каждой стадии инкубация производится определенное время при заданной температуре. В конце каждой стадии инкубации автоматическое приспособление для окраски гистологических препаратов компании Ventana промывает срезы при помощи Reaction Buffer для прекращения реакции и для удаления несвязанного материала, который может препятствовать протеканию необходимой реакции на последующих стадиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реагенты, входящие в комплект поставки

1 – Бутыль с Reaction Buffer Concentrate (10X) емкостью 2 л; содержит буферный раствор Трис и консервант

Разведение перед использованием, смешивание, разбавление, титрование

Reaction Buffer Concentrate (10X) необходимо развести девятью частями дистиллированной или деионизованной воды перед использованием на автоматическом приспособлении для окраски гистологических препаратов. См. раздел Инструкции по применению.

Материалы и реагенты, необходимые для работы, но не входящие в комплект поставки

Могут потребоваться следующие реагенты и материалы, не поставляемые с диагностическим набором

1. Ventana Negative Control Reagent или Rabbit Negative Control*
2. Ventana Control Probes*
3. Предметные стекла, положительно заряженные
4. Положительные и отрицательные гистологические контроли
5. Сушильный шкаф, способный поддерживать температуру 70 ± 5 °C
6. Этикетки со штрих-кодами (требуются для отрицательного контроля и первичного антитела или для исследуемого зонда)
7. 10 % нейтральный забуференный раствор формалина
8. Сосуды или кюветы для окрашивания микропрепаратов
9. Таймер
10. Ксилол
11. Этанол или спиртовой реактив
12. Деионизованная или дистиллированная вода
13. Автоматические приспособления для окраски гистологических препаратов BenchMark и BenchMark XT
14. Ventana ISH *i*VIEW $_{Blue}$ Detection Kit*
15. Ventana ISH Signal Clarifier*
16. Зонд*
17. Ventana ISH Protease 1, 2 или 3*
18. Ventana ISH Red Counterstain*
19. Диагностические наборы Ventana *i*VIEW™ DAB (предпочтительно), AEC, V Red (ALK PHOS) или Enhanced V Red*
20. Ventana Endogenous Biotin Blocking Kit*
21. Первичные антитела*
22. Ventana EZ Prep solution
23. Ventana LCS, жидкое покровное стекло
24. Ventana Cell Conditioning 1 (CC1) или Cell Conditioning 2 (CC2)*
25. Ventana Protease I, II, или III*
26. Ventana Hematoxylin counterstain*
27. Ventana Bluing Reagent*
28. Заключающая среда
29. Покровное стекло
30. Оптический микроскоп (20-80X)
31. Оплетенная бутыль емкостью 20 л

* По мере необходимости для решения конкретных практических задач.

Хранение и обращение

Концентрированный реагент хранить при комнатной температуре (от 15 до 30 °C) вдали от прямых солнечных лучей.

Разбавленный (1X) реагент может храниться при комнатной температуре (от 15 до 30 °C) вдали от прямых солнечных лучей до использования в приборе. Пользователь должен валидировать любые условия хранения, отличные от указанных на вкладыше в упаковку.

На бутыли с реагентом указана дата окончания срока годности. При надлежащем хранении реагент сохраняет стабильность до даты, указанной на этикетке. Запрещено использовать реагент после окончания срока годности для предписанного способа хранения.

Сбор образцов и подготовка к проведению анализа

Обработанные согласно установленным методикам, прошедшие фиксацию формалином и залитые в парафин ткани пригодны для исследования с помощью данного реагента, если используются с диагностическими наборами компании Ventana и автоматическим приспособлением для окраски гистологических препаратов компании Ventana (см. раздел Материалы и реагенты, необходимые для работы, но не входящие в комплект поставки). Рекомендуется использовать в качестве фиксатора для ткани 10 % нейтральный забуференный раствор формалина. Результаты могут изменяться вследствие увеличения времени фиксации или в результате влияния специальных методов обработки, таких как декальцификация препаратов костного мозга.

Каждый срез должен иметь надлежащую толщину и быть помещен на положительно заряженное предметное стекло. Стекла со срезами ткани могут быть прогреты, по меньшей мере, 2 часа (но не более 24 часов) в сушильном шкафу при температуре 70 ± 5 °C.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Соблюдайте соответствующие меры предосторожности при обращении с реагентами. Используйте одноразовые перчатки при работе с предполагаемыми канцерогенами или токсичными материалами.
2. Избегайте контакта реагентов с глазами или слизистыми оболочками. Если произошел контакт реагентов с чувствительными областями тела, промойте их большим количеством воды.
3. Не курите, не употребляйте пищу или напитки в помещениях, где работают с образцами или реагентами.
4. С образцами, взятыми у пациентов, и всеми материалами, которые имели контакт с ними, следует обращаться как с биологически опасными материалами, и их следует утилизировать с надлежащими мерами предосторожности. Запрещено набирать жидкость в пипетку ртом.
5. Избегайте микробиологического загрязнения реагентов, поскольку это может привести к получению неправильных результатов.
6. Состав реагента был оптимизирован для разбавления в соотношении 1:10. Дополнительно разбавление может привести к ухудшению характеристик прибора и потере окрашивания. Пользователь должен валидировать какие-либо изменения такого рода.
7. При использовании в соответствии с инструкциями данный продукт не классифицируется как опасное вещество. В качестве консерванта в реагенте используется ProClin 300. Симптомы чрезмерного воздействия ProClin 300 включают раздражение кожи и слизистой оболочки глаз, раздражение слизистых оболочек и верхних дыхательных путей. Концентрация ProClin 300 в данном продукте составляет 0,05 % и не соответствует Нормативам Управления охраны труда США (OSHA) для опасных веществ. У чувствительных лиц возможны системные аллергические реакции.
8. Обратитесь к местным или государственным органам власти для получения информации о рекомендуемом методе утилизации.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Более подробную информацию см. в Руководстве пользователя автоматического приспособления для окраски гистологических препаратов

Чтобы приготовить разбавленный раствор из бутыли с Reaction Buffer Concentrate (10X) емкостью 2 л, необходимо выполнить следующее:

1. Убедитесь, что кран пробки градуированной оплетенной бутыли емкостью 20 л (поставляемой в комплекте автоматического приспособления для окраски гистологических препаратов) перед заполнением находится в положении OFF.
2. Заполните пустую оплетенную бутыль емкостью 20 л приблизительно на 75 % деионизованной или дистиллированной водой.
3. Залейте содержимое бутыли с Reaction Buffer Concentrate (10X) емкостью 2 л в воду в оплетенной бутыли. Перемешайте вращающими движениями.
4. Залейте оплетенную бутыль деионизованной или дистиллированной водой до метки 20 л. При добавлении воды перемешивайте раствор вращательными движениями, чтобы обеспечить полное размешивание концентрата. Если при заполнении образуется большое количество пузырьков, дайте промывочному раствору отстояться. Когда пузырьки исчезнут, добавьте оставшийся объем воды, необходимый для приготовления 20 л промывочного раствора.
5. Неплотно закрутите крышку бутыли. Если крышка закручена слишком плотно, раствор не будет свободно поступать из бутыли. Промывочный раствор готов к употреблению совместно с автоматическим приспособлением для окраски гистологических препаратов компании Ventana.

Разбавленный Reaction Buffer (1X) Solution заливают в соответствующий резервуар (Reaction Buffer bottle) в жидкостном отсеке автоматического приспособления для окраски гистологических препаратов компании Ventana. Reaction Buffer (1X) Solution наносится автоматически, как это требуется в соответствии с процедурой, выполняемой на автоматическом приспособлении для окраски гистологических препаратов компании Ventana, для промывки предметных стекол между отдельными стадиями процесса окрашивания и для поддержания стабильной водной среды на стекле.

Перед первым использованием Reaction Buffer (1X) solution в лаборатории пользователя возможность получения соответствующего окрашивания должна быть проверена окрашиванием нескольких положительных и отрицательных контролей. Компания Ventana рекомендует наносить положительные контроли на то же предметное стекло, что и образец пациента. Результаты могут изменяться в зависимости от условий фиксации тканей. Клиническая интерпретация какого-либо окрашивания или отсутствия окрашивания должна дополняться морфологическими исследованиями и оценкой соответствующих контролей. Оценка должна проводиться квалифицированным патоморфологом в контексте истории болезни пациента и данных других диагностических тестов.

Постадийная процедура

Реагенты компании Ventana предназначены для использования с автоматическими приспособлениями для окраски гистологических препаратов компании Ventana в сочетании с диагностическими наборами и вспомогательными материалами компании Ventana. Рекомендуемые протоколы окрашивания для автоматических приспособлений для окраски гистологических препаратов описаны на вкладыше в упаковку первичных антител или соответствующих зондов. Параметры автоматических процедур могут быть отображены на дисплее, напечатаны и отредактированы согласно методике, описанной в Руководстве пользователя. Другие рабочие параметры автоматических приспособлений для окраски гистологических препаратов предварительно настроены на предприятии компании-изготовителя. Более подробную инструкцию и дополнительные варианты протоколов см. в вашем Руководстве пользователя приспособления для окраски.

Автоматические приспособления для окраски гистологических препаратов BenchMark и BenchMark XT

1. Наклейте этикетку со штрих-кодом, которая соответствует выполняемому протоколу для антител или зондов.
2. Загрузите зонды или первичные антитела, соответствующие флаконы-дозаторы диагностического набора и необходимые вспомогательные реагенты в лоток для реагентов и поместите их в автоматическое приспособление для окраски гистологических препаратов. Проверьте заполненность флаконов с жидкостями и состояние контейнеров для отходов.
3. Поместите стекла в автоматическое приспособление для окраски гистологических препаратов.
4. Начните проведение процесса окраски
5. По завершении процесса извлеките стекла из автоматического приспособления для окраски гистологических препаратов.
6. В случае наборов iVIEW DAB и Ventana Red промойте в мягком моющим средстве для мытья посуды или спирте для удаления жидкого покровного материала, проведите обезвоживание, очистите и покройте перманентной заключающей средой традиционным способом.
7. В случае хромогена AEC не проводите удаление воды и очистку. Заключите хромоген AEC в водорастворимую заключающую среду. Окрашенные стекла следует микроскопировать в течение двух-трех дней после окрашивания. Они стабильны по меньшей мере два года при надлежащем хранении при комнатной температуре (от 20 до 28 °C).
8. В случае ISH *i*VIEW $_{Blue}$ Detection Kit промойте в мягком моющим средстве для мытья посуды или спирте для удаления жидкого покровного материала
9. Перенесите стекла в кювету с дистиллированной водой приблизительно на 1 - 3 минуты. Стряхните излишки воды.
10. Проверьте уровень жидкостей в этой и всех последующих кюветах. Убедитесь в том, что растворы полностью покрывают предметные стекла в штативах. Всегда вносите такое количество нового реагента в каждый сосуд, которое окажется достаточным, чтобы полностью покрыть стекла. Обеспечьте удаление избыточной жидкости после каждой стадии.
11. Перенесите стекла в 90 % этанол и приблизительно на 1 - 3 минуты
12. Перенесите стекла в 100 % этанол и приблизительно на 1 - 3 минуты
13. Перенесите стекла во вторую кювету со 100 % этанолом приблизительно на 1 - 3 минуты.
14. Перенесите стекла в первую кювету с ксилолом приблизительно на 1 - 3 минуты.
15. Перенесите стекла во вторую кювету с ксилолом приблизительно на 1 - 3 минуты. Стекла можно оставить в этой кювете до их накрытия покровным стеклом.
16. Возвратите на место крышки чашек Петри и выключите вытяжное устройство.

Процедуры контроля качества

Положительный гистологический контроль

Положительный гистологический контроль должен осуществляться при каждом процессе окрашивания.

Компоненты положительного окрашивания тканей используются для подтверждения того, что реагенты были нанесены и что прибор работает надлежащим образом. Эта ткань может содержать как положительные, так и отрицательные окрашенные клетки или компоненты ткани и служить в качестве как положительных, так и отрицательных контрольных образцов. В качестве гистологических контролей следует использовать свежие образцы, взятые при аутопсии, биопсии или хирургические образцы, приготовленные и прошедшие фиксацию как можно быстрее после взятия, методом, аналогичным для исследуемых срезов. Эти ткани могут обеспечить контроль на всех этапах процедуры, от подготовки образцов ткани

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

до окрашивания. Использование срезов тканей, прошедшей другой процесс фиксации или приготовленных иначе, чем исследуемые образцы, обеспечит контроль для всех реагентов и стадий метода, за исключением фиксации и обработки тканей.

Ткань со слабым положительным окрашиванием более пригодна для оптимального контроля качества и для обнаружения незначительной степени разложения реагентов.

Известные положительные гистологические контроли следует использовать только для контроля соответствия характеристик обработанных тканей и рабочих реагентов, а не как средство для постановки конкретного диагноза по образцам пациента. Если положительные гистологические контроли не обнаруживают положительного окрашивания, результаты, полученные для исследуемых образцов, считаются недействительными.

Отрицательный гистологический контроль

Та же ткань, которая используется как положительный гистологический контроль, может использоваться как отрицательный гистологический контроль. Различные виды клеток, присутствующие в большинстве срезов тканей, обеспечивают внутренний отрицательный контроль, но пользователь в этом должен убедиться. Компоненты, которые не окрашиваются, должны продемонстрировать отсутствие специфического окрашивания и дать свидетельства неспецифического фонового окрашивания. Если происходит специфическое окрашивание участков ткани, выбранных в качестве отрицательного контроля, результаты, полученные на образцах пациента, следует считать недействительными.

Необъяснимые расхождения

О необъяснимых расхождениях в контролях следует немедленно известить местное представительство компании Ventana. Если результаты контроля качества не соответствуют спецификациям, результаты, полученные на образцах пациента, следует считать недействительными. См. раздел Проблемы и их устранение на данном вкладыше. Идентифицируйте и устраните причину несоответствия, а затем повторите исследование образцов, взятых у пациента.

Реагент отрицательного контроля

В случае иммуногистохимии с целью правильной трактовки результатов для каждого образца должна производиться проверка по реагентам отрицательного контроля. Реагент отрицательного контроля используются взамен первичного антитела для оценки неспецифического окрашивания. Стекла следует окрашивать при помощи Negative Control Reagent (mouse) или Rabbit Negative Control, по обстоятельствам. Если используется альтернативный реагент отрицательного контроля, разбавьте до той же концентрации, что и антисыворотку (первичные антитела), при помощи Ventana Antibody Diluent. Сам раствор для разведения может использоваться в качестве альтернативы ранее описанным реагентам отрицательного контроля. Период инкубации для реагентов отрицательного контроля должен быть таким же, как период инкубации с первичными антителами.

Если используются панели нескольких антител при исследовании серий срезов, реагент отрицательного контроля на стекле может служить в качестве отрицательного контроля или контроля фонового сигнала неспецифического связывания для других антител.

Для реакции гибридизации *in situ* должен производиться проверка по реагентам отрицательного контроля. Компания Ventana рекомендует следовать указаниям College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist.

Проверка качества метода определения

Перед первым использованием системы для окрашивания в диагностическом методе должна быть проверена специфичность системы на серии образцов тканей с установленными характеристиками процесса окрашивания, представляющей собой положительные и отрицательные гистологические контроли (см. Процедуры контроля качества, описанные в этом разделе вкладыша к продукту и рекомендации по контролю качества Quality Control recommendations of the College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist и руководство NCCLS Approved Guideline). Эти процедуры контроля качества следует повторять для каждой новой партии первичных антител и зондов, если изменяются параметры исследования.

Интерпретация результатов

Процедуры автоматического окрашивания компании Ventana приводят к получению окрашенных продуктов реакции. Ожидаемую цветную реакцию см. на вкладыше в упаковку используемого диагностического набора. Квалифицированный патоморфолог должен оценить положительные и отрицательные контроли перед интерпретацией полученных результатов

Положительный гистологический контроль

Окрашенный положительный гистологический контроль должен исследоваться в первую очередь для оценки надлежащего функционирования всех реагентов. Наличие надлежащим образом окрашенного продукта реакции на клетках-мишенях является показателем положительной реактивности. Ожидаемую цветную реакцию см. на вкладыше в упаковку используемого диагностического набора. Интенсивность контр-окрашивания зависит от выбранного времени инкубации.

В зависимости от продолжительности инкубации и концентрации используемого гематоксилина, контр-окрашивание в случае иммуногистохимических методик сводится к бледно- или темно-синему окрашиванию ядер клеток.

В зависимости от продолжительности инкубации и концентрации используемого ISH Red, контр-окрашивание для реакции гибридизации *in situ* сводится к бледно- или темно-розовому окрашиванию ядер клеток.

Избыточное или неполное контр-окрашивание может затруднить правильную интерпретацию результатов.

Если положительные гистологические контроли не обнаруживают положительного окрашивания, результаты, полученные для исследуемых образцов, считаются недействительными.

Отрицательный гистологический контроль

Отрицательный контроль должен исследоваться после положительного контроля для проверки специфичности реакции. Не должно наблюдаться никакого специфического окрашивания для отрицательного контроля. Если имеет место такое окрашивание, это может указывать неспецифическую кросс-реактивность по отношению к клеткам или клеточным компонентам. Для интерпретации результатов окрашивания следует использовать интактные клетки, поскольку некротические и вырожденные клетки часто окрашиваются неспецифично.

Ткани пациента

Образцы тканей пациента следует исследовать последними. Интенсивность положительного окрашивания следует оценивать с учетом любого фонового окрашивания реагентами отрицательного контроля.

В случае иммуногистохимического исследования отрицательный результат означает, что искомый антиген не обнаружен, а не то, что антиген отсутствует в исследуемых клетках или тканях. Если необходимо, используют панель антител с целью идентификации ложно-отрицательных реакций (см. раздел Краткое изложение ожидаемых результатов).

Для реакций гибридизации *in situ* отрицательный результат означает, что целевой фрагмент РНК или ДНК либо не обнаружен, либо число копий находится ниже уровня чувствительности набора, а не то, что фрагмент не содержится в исследуемых клетках.

При интерпретации всех иммуногистохимических данных следует также исследовать морфологию каждого образца при помощи среза, окрашенного гематоксилином и эозином. Данные морфологического исследования образцов тканей пациента и соответствующие клинические результаты должны анализироваться квалифицированным патоморфологом.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Общие ограничения

1. Данный продукт предназначен для диагностики *in vitro*.
2. Иммуногистохимическая диагностика и исследование гибридизации *in situ* являются многостадийными процессами диагностики, требующими специальной подготовки в области выбора соответствующих реагентов, образцов, их фиксации, обработки, подготовки образцов на предметных стеклах и интерпретации результатов окрашивания.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3. Для иммуногистохимических исследований ложно-положительные результаты могут наблюдаться вследствие неиммунологического связывания белков или продуктов реакции субстрата. Они могут также объясняться псевдопероксидазной активностью (эритроциты), активностью эндогенной пероксидазы (цитохром С), активностью эндогенной щелочной фосфатазы или эндогенного биотина (примеры: печень, головной мозг, молочные железы, почки), в зависимости от типа иммуннохимического окрашивания.
4. Окраска тканей зависит от обращения с тканями и их обработки перед окрашиванием. Неправильное проведение процесса фиксации, замораживания, оттаивания, промывки, сушки, нагрева, получения срезов или загрязнение другими тканями или жидкостями может привести к артефактам, захвату антител или ложно-отрицательным результатам. Несогласующиеся результаты могут быть получены вследствие несоблюдения режимов процессов фиксации и заливки или вследствие присущей ткани неоднородности.
5. Избыточное или неполное контр-окрашивание может затруднить правильную интерпретацию результатов.
6. Клиническая интерпретация любого положительного окрашивания или его отсутствия должна проводиться в контексте истории болезни, морфологии и прочих гистопатологических критериев. Клиническая интерпретация какого-либо окрашивания или отсутствия окрашивания должна дополняться морфологическими исследованиями и оценкой соответствующих контролей, а также другими диагностическими исследованиями. На квалифицированном патоморфологе лежит ответственность за достаточное знание свойств реагентов и методов, используемых при получении окрашенных препаратов. Окрашивание должно проводиться в сертифицированной, имеющей соответствующую лицензию лаборатории под надзором патоморфолога, который несет ответственность за проверку окрашенных предметных стекол и обеспечение правильности положительных и отрицательных контролей.
7. Компания Ventana обеспечивает заказчика антителами, зондами и реагентами в их оптимальном для использования разведении, если соблюдаются прилагаемые инструкции. Любые отклонения от рекомендуемых методик проведения исследования могут обесценить ожидаемые результаты. Должны использоваться надлежащие контроли, что также должно регистрироваться документально. Пользователи, допускающие отклонения от рекомендуемых методик проведения исследования, должны нести ответственность за интерпретацию результатов, полученных на образцах ткани пациента.
8. Реагенты могут вступать в непредвиденные реакции при работе с ранее неисследованными тканями. Возможность протекания непредвиденных реакций даже в исследованных группах тканей нельзя полностью исключить ввиду биологической вариабельности экспрессии антигенов в неоплазмах или других патологических тканях. Свяжитесь с вашим местным представительством компании Ventana и оповестите их о зарегистрированных документально непредвиденных реакциях.

Особые ограничения

1. Reaction Buffer Concentrate (10X) Solution перед использованием должен быть исследован на микробиологическое загрязнение. Признаками загрязнения или порчи данного продукта являются: помутнение раствора, появление усиливающегося запаха или выпадение осадка из раствора. При первых признаках возможного загрязнения или порчи реагента свяжитесь с вашим местным представительством компании Ventana.
2. Состав реагента был оптимизирован для разбавления в соотношении 1:10. Дополнительно разбавление может привести к ухудшению характеристик прибора и потере окрашивания. Пользователь должен валидировать какие-либо изменения такого рода.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ ОЖИДАЕМЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Ожидаемые результаты могут быть представлены в количественном виде только после исследования чувствительности и специфичности каждого конкретного антигена или целевого фрагмента нуклеиновой кислоты. Как реагент для качественной оценки, данный продукт не может быть испытан на специфичность и чувствительность.
2. Была исследованы воспроизводимость между партиями и внутри партии для 5 партий Reaction Buffer Solution Concentrate (10X). Было обнаружено, что все образцы имеют согласующиеся характеристики в пределах диапазона значений, соответствующих требованиям спецификаций для всех исследованных свойств реагентов.

ПРОБЛЕМЫ И ИХ УСТРАНЕНИЕ

1. Если положительный контроль обнаруживает более слабое окрашивание, чем ожидается, следует исследовать другие положительные контроли в одном и том же приборном исследовании с целью определения, связано ли это с первичным антителом, зондом или с одним из обычных вторичных реагентов.
2. Если положительный контроль дает отрицательный результат, следует проверить, имеет ли предметное стекло соответствующую этикетку со штрих-кодом. Если предметное стекло имеет соответствующую этикетку, следует исследовать другие положительные контроли в одном и том же приборном исследовании с целью определения, связано ли это с первичным антителом, зондом или с одним из обычных вторичных реагентов. Образцы могут быть неправильно собраны, зафиксированы или депарафинированы.
3. В случае IHC, если наблюдается избыточное фоновое окрашивание, это может объясняться высокими уровнями эндогенного биотина. Следует ввести стадию блокирования биотина. В случае проблем с зондами свяжитесь с вашим местным представительством компании Ventana.
4. Для IHC, если не весь парафин был удален, процедуру депарафинирования следует повторить.
5. Если специфичное окрашивание антитела слишком интенсивное, определение следует повторить со временами инкубации, последовательно уменьшаемыми на 4 минуты, вплоть до получения необходимой интенсивности окраски.
6. Если срезы тканей смываются со стекла, стекла следует проверить на наличие у них положительного заряда.
7. О корректирующем воздействии см. раздел Постадийная процедура, Руководство пользователя автоматического устройства для окраски препаратов или свяжитесь с вашим местным представительством компании Ventana.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and practice of histotechnology, 2nd Edition. The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1980.
2. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2001.
3. NCCLS. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. NCCLS document MM4-A- (ISBN 1-56238-396-5). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
4. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem 66(4): 194-199, 1991.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

*i*VIEW™ и Liquid Coverslip™ являются торговыми марками компании Ventana Medical Systems, Inc.; BenchMark® и Ventana® являются зарегистрированными торговыми марками компании Ventana Medical Systems, Inc.

Защищено следующими патентами: патенты США №№ 6045 759, 6192 945 B1, 6416 713 B1 и их аналоги за границей.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.ventanamed.com

EC REP

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

Уполномоченный представитель
в Республике Беларусь:
ООО "Алмазмед"
220040, г.Минск ул. Восточная 33
пом.3, к.1.

CE

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ULTRA LCS (Predilute)

REF 650-210

05424534001

IVD

НАЗНАЧЕНИЕ

ULTRA LCS (Predilute) компании Ventana Medical Systems, Inc. (Ventana), также называемый ULTRA LCS или ULTRA Liquid Coverslip (High Temperature), представляет собой предварительно разбавленный покровный раствор, используемый в качестве барьера между водными реагентами и воздухом. Такой барьер предотвращает испарение, таким образом обеспечивая стабильную водную среду для иммуногистохимических реакций или реакций гибридизации *in situ*, проводимых при помощи аппарата VENTANA BenchMark ULTRA.

Данный продукт предназначен для использования при работе с аппаратом VENTANA BenchMark ULTRA. Данный реагент не предназначен для использования на автоматических приборах для окрашивания NexES IHC, NexES Special Stains и ES компании VENTANA.

Данный реагент предназначен для диагностики *in vitro* (IVD).

ПРИНЦИП ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

ULTRA LCS (Predilute) состоит из органических молекул масла, плотность которого значительно ниже плотности воды. При нанесении на каплю водного буферного раствора поверхностное натяжение заставляет более легкое масло распределяться тонким слоем по поверхности буфера, создавая своего рода камеру. Это приводит к образованию барьера между буферным раствором и воздухом, который предотвращает испарение водного реагента. Кроме того, поверхностный слой ULTRA LCS позволяет наносить сверху другие водные реагенты, проходящие сквозь этот слой и сливающиеся с ограниченным объемом буферного раствора на предметном стекле. Аппарат VENTANA BenchMark ULTRA автоматически наносит раствор ULTRA LCS (Predilute) в необходимом количестве при выполнении различных протоколов окрашивания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКИ

Реагенты, входящие в комплект

Одна бутыль емкостью 2 литра с раствором ULTRA LCS (Predilute) содержит парафиновый углеводород низкой плотности с минеральным маслом.

Восстановление, смешивание, разбавление и титрование

Данный реагент готов к употреблению непосредственно из флакона и не подлежит разбавлению. Восстановление, смешивание, разбавление и титрование не требуются. Дальнейшее разбавление может привести к утрате способности к специфичному окрашиванию. Подобные действия с реагентами могут проводиться только после оценки пользователем.

Необходимые материалы, не входящие в комплект

Дополнительные реагенты, включая, помимо прочего, первичные антитела, зонды, наборы для обнаружения и вспомогательные компоненты VENTANA, не входят в комплект поставки.

В некоторых странах могут быть доступны не все перечисленные в листке-вкладыше продукты. Обратитесь к региональному представителю службы поддержки.

Хранение и обращение

Хранить при комнатной температуре (15—30 °C). Не замораживать.

На флаконе с реагентом указана дата окончания срока годности. При надлежащем хранении реагент сохраняет стабильность до даты, указанной на этикетке. Не используйте реагент после истечения срока годности при установленном методе хранения.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Для диагностики *in vitro* (IVD).
2. Только для профессионального использования.
3. ULTRA LCS (Predilute) предназначен для использования при работе с аппаратом VENTANA BenchMark ULTRA. Данный реагент не предназначен для использования на автоматических приборах для окрашивания NexES Special Stains.
4. Следите за тем, чтобы не пролить реагент. Если не принимать мер для предотвращения разлива, пользователь рискует поскользнуться и упасть.
5. Данный реагент может нанести вред здоровью при проглатывании или вдыхании. Он может вызывать кратковременное раздражение кожи и глаз, а также раздражение слизистых оболочек и дыхательных путей. При попадании реагентов на чувствительные участки промойте их значительным количеством воды. Используйте защитную одежду и перчатки. Не вдыхать.
6. Обращайтесь с реагентами с осторожностью. Избегайте попадания реагентов в глаза, на кожу и слизистые оболочки. Используйте защитную одежду и перчатки.
7. Не допускайте микробного загрязнения реагента, так как оно может привести к получению недостоверных результатов.
8. По поводу рекомендованного метода утилизации обращайтесь за консультацией в соответствующие местные или государственные органы.
9. Более подробная информация содержится в сертификате безопасности материала, а также в руководстве по условным обозначениям и фразам риска на сайте www.ventana.com.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Сведения о рекомендуемом протоколе окрашивания см. в листке-вкладыше, прилагаемом к соответствующему зонду или набору для обнаружения. Подробные указания и дополнительные опции протокола см. в руководстве пользователя для соответствующего аппарата.

ULTRA LCS (Predilute) наливается непосредственно в 2-литровую бутыль ULTRA LCS в специально предназначенное место (ULTRA LCS) automated fluidics module. Раствор ULTRA LCS (Predilute) автоматически наносится автоматическим прибором для окрашивания согласно выполняемому протоколу.

Перед первым использованием раствора ULTRA LCS (Predilute) в лаборатории пользователя возможность получения соответствующего окрашивания необходимо проверить окрашиванием нескольких положительных и отрицательных контролей. Компания Ventana рекомендует наносить положительные контроли на то же предметное стекло, что и образец ткани пациента. Результаты могут изменяться в зависимости от условий фиксации тканей. Клиническая интерпретация какого-либо окрашивания или отсутствия окрашивания должна дополняться морфологическими исследованиями и оценкой соответствующих контролей. Оценка должна проводиться квалифицированным патоморфологом с учетом истории болезни пациента и результатов других диагностических тестов.

Реагенты компании VENTANA предназначены для использования с автоматическими приборами для окрашивания компании VENTANA в сочетании с наборами для обнаружения, первичными антителами, зондами и вспомогательными материалами компании VENTANA. Рекомендуемые протоколы окрашивания для автоматических приборов для окрашивания гистологических препаратов описаны на листке-вкладыше, прилагаемом к первичному антителу или соответствующему зонду. Протоколы окрашивания можно выводить на дисплей, распечатывать и редактировать в соответствии с указаниями, приведенными в соответствующем руководстве пользователя. Подробные инструкции и дополнительные опции протокола см. в руководстве пользователя для аппарата.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Раствор ULTRA LCS (Predilute) перед использованием следует проверить на предмет микробного загрязнения. Признаками загрязнения или порчи данного продукта являются: помутнение раствора, появление запаха или выпадение осадка. При первых признаках возможного загрязнения или нестабильности реагента свяжитесь с местным представительством службы поддержки.
2. Раствор ULTRA LCS (Predilute) имеет оптимальную формулу для использования при работе с аппаратом VENTANA BenchMark ULTRA. Разбавление продукта может привести к ухудшению характеристик аппарата и, возможно, к неудачному окрашиванию образца тканей.
3. Сообщается, что компоненты LCS, как и следует ожидать от нефтепродуктов, способствуют процессу депарафинирования образцов. Пригодность раствора для этой цели зависит от образца и конкретного применения; использование в этом качестве может проводиться только после оценки пользователем.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРОБЛЕМЫ И ИХ УСТРАНЕНИЕ

Способы устранения проблем см. в руководстве пользователя автоматического прибора для окрашивания или обратитесь к региональному представителю службы поддержки.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

BENCHMARK, NEXES, VENTANA и логотип VENTANA являются товарными знаками компании Roche.

Все другие товарные знаки являются собственностью их владельцев.

© 2011-2014 Ventana Medical Systems, Inc.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.ventana.com

EC REP
Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

Уполномоченный представитель
в Республике Беларусь:
ООО "Алмазмед"
220040, г.Минск ул. Восточная 33
пом.3, к.1.

CE

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1)

REF 950-224

05424569001

IVD

НАЗНАЧЕНИЕ

ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) компании Ventana Medical Systems, Inc. (Ventana) представляет собой предварительно разбавленный раствор, используемый на стадии предварительной обработки образцов ткани для проведения иммуногистохимических (IHC) реакций на аппарате VENTANA BenchMark ULTRA.

Данный продукт предназначен для диагностики *in vitro* (IVD).

ПРИНЦИП ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

ULTRA CC1 представляет собой буфер на основе трис-(гидроксиметил)-аминометана, не подлежащий разбавлению. ULTRA CC1 наливают в специально предназначенное место (сосуд для ULTRA CC1) automated fluidics module, расположенного в автоматическом приборе для окрашивания гистологических препаратов. Аппарат автоматически дозирует ULTRA CC1 по мере необходимости в соответствии с процедурой, выполняемой на автоматическом приборе для окрашивания.

Фиксация ткани формалином приводит к образованию ковалентных связей между альдегидом и аминогруппами, имеющимися в ткани. Образование этих связей вызывает денатурацию белка и может привести к утрате антигенных свойств. Помимо этого, формальдегид способен образовывать метиленовые мостики, сшивающие протеины ткани в поперечном направлении; тем самым уменьшается проницаемость ткани по отношению к большим молекулам, например, антителам.

ULTRA CC1 представляет собой буфер на основе трис-(гидроксиметил)-аминометана, имеющий слабощелочной pH; при повышенных температурах он способен гидролизовать ковалентные связи, образованные формалином в структуре ткани. Разрыв этих связей делает возможным ренатурацию молекул белка и повышает их доступность для антител. Зачастую эти изменения приводят к значительному приросту уровня связывания антитела и повышению отношения сигнал/шум. Прибор для окрашивания автоматически нагревает предметное стекло до нужной температуры с выдержкой в течение определенного времени, задаваемого пользователем.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКИ

Реагенты, входящие в комплект

Одна бутыль емкостью 2 л с раствором ULTRA CC1 содержит буфер на основе трис-(гидроксиметил)-аминометана с добавкой консерванта.

Восстановление, смешивание, разбавление и титрование

Восстановление, смешивание, разбавление и титрование не требуются. Дальнейшее разбавление может привести к утрате способности к специфичному окрашиванию. Подобные действия с реагентами могут проводиться только после оценки пользователем.

Необходимые материалы, не входящие в комплект

Дополнительные реагенты, включая, помимо прочего, первичные антитела, зонды, наборы для обнаружения и вспомогательные компоненты VENTANA, не входят в комплект поставки.

В некоторых странах могут быть доступны не все перечисленные в листке-вкладыше продукты. Обратитесь к региональному представителю службы поддержки.

Хранение и обращение

Хранить при комнатной температуре (15—30 °C). Беречь от прямого солнечного света. Не замораживать и не охлаждать, так как при температурах хранения ниже рекомендуемых может образоваться осадок. Если замечено образование осадка в связи с низкой температурой, дайте бутыли нагреться обратно до комнатной температуры и взболтайте для растворения осадка.

На флаконе с реагентом указана дата окончания срока годности. При надлежащем хранении реагент сохраняет стабильность до даты, указанной на этикетке. Не используйте реагент после истечения срока годности.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Реагент предназначен для *in vitro* диагностики (IVD).
2. Только для профессионального использования.
3. Обращайтесь с реагентами с осторожностью. Избегайте попадания реагентов в глаза, на кожу и слизистые оболочки. Используйте защитную одежду и перчатки.
4. Избегайте попадания реагентов в глаза или на слизистые оболочки. При попадании реагентов на чувствительные участки промойте их значительным количеством воды.
5. В местах работы с образцами тканей и реагентами не следует курить, есть и пить.
6. С образцами, взятыми у пациентов, и всеми материалами, которые имели контакт с этими образцами, следует обращаться как с биологически опасными материалами. Утилизируйте их с надлежащими мерами предосторожности. Не набирайте жидкость в пипетку ртом.
7. Не допускайте микробного загрязнения реагентов, поскольку это может привести к получению недостоверных результатов.
8. Реагент может вызывать раздражение глаз и кожных покровов. Он также может оказывать раздражающее действие на слизистые оболочки и верхние дыхательные пути. У лиц с повышенной чувствительностью возможна аллергическая реакция кожных покровов и органов дыхания.
9. ULTRA CC1 не относится к легковоспламеняющимся веществам.
10. При использовании согласно инструкции данный продукт не считается опасным веществом. Консервантом является реагент ProClin 950, содержащий в качестве активных ингредиентов 5-хлор-2-метил-4-изотиазин-3-он и 2-метил-4-изотиазолин-3-он. Симптомами чрезмерного воздействия ProClin 950 являются раздражение кожи и глаз, а также раздражение слизистых оболочек и верхних дыхательных путей. Концентрация консерванта ProClin 950 в данном продукте составляет 0,05 %, что не превышает порогового критерия, установленного Управлением по охране труда США (OSHA) для опасных веществ. У лиц с повышенной чувствительностью возможно развитие системных аллергических реакций.
11. По поводу рекомендованного метода утилизации обращайтесь за консультацией в соответствующие местные или государственные органы.
12. Более подробная информация содержится в сертификате безопасности материала, а также в руководстве по условным обозначениям и фразам риска на сайте www.ventana.com.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Сведения о рекомендуемом протоколе окрашивания см. в листке-вкладыше, прилагаемом к соответствующему зонду или набору для обнаружения. Подробные указания и дополнительные опции протокола см. в руководстве пользователя для соответствующего аппарата.

ULTRA CC1 наливают в соответствующий сосуд для основных жидкостей (сосуд для ULTRA CC1) automated fluidics module, расположенного в аппарате VENTANA BenchMark ULTRA. ULTRA CC1 наносится автоматически в соответствии с выполняемым протоколом. Аппарат автоматически дозирует ULTRA CC1. Подробные инструкции и дополнительные опции протокола см. в руководстве пользователя для аппарата.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

ULTRA CC1 применяется к образцам ткани после удаления парафина с парафинированных срезов, но перед применением реагентов, используемых для обнаружения антигена-мишени, в сочетании с аппаратом VENTANA BenchMark ULTRA. Ожидаемые результаты могут быть представлены в количественном виде только после тестирования чувствительности и специфичности каждого специфического антигена или целевого фрагмента нуклеиновой кислоты. Данный продукт, будучи отдельным реагентом, не может быть протестирован на специфичность или чувствительность.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРОБЛЕМЫ И ИХ УСТРАНЕНИЕ

Способы устранения проблем см. в руководстве пользователя автоматического прибора для окрашивания или обратитесь к региональному представителю службы поддержки.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

BENCHMARK, NEXES, VENTANA и логотип VENTANA являются товарными знаками компании Roche.

Все другие товарные знаки являются собственностью их владельцев.

© 2011-2014 Ventana Medical Systems, Inc.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.ventana.com

EC REP
Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

Уполномоченный представитель
в Республике Беларусь:
ООО "Алмазмед"
220040, г.Минск ул. Восточная 33
пом.3, к.1.

CE

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

OptiView DAB IHC Detection Kit

REF 760-700

06396500001

IVD Σ 250

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

OptiView DAB IHC Detection Kit (OptiView) — это непрямая не содержащая биотин система для детекции мышиных IgG и IgM, а также кроличьих первичных антител. Этот набор предназначен для выявления клеток-мишеней иммуногистохимическим методом в фиксированных формалином, парафинированных и замороженных срезах тканей, окрашенных при помощи автоматических иммуногистостейнеров VENTANA и визуализируемых световой микроскопией. Клиническая интерпретация любого окрашивания или отсутствия окрашивания должна дополняться морфологическими исследованиями и оценкой соответствующих контрольных образцов.

Результаты анализов, выполненных с использованием данного продукта, должны идентифицироваться квалифицированным патоморфологом с учетом результатов гистологического исследования, исследования контрольных образцов и соответствующих клинической картины.

Данный продукт предназначен для диагностического использования *in vitro* (IVD).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И КОММЕНТАРИИ

Иммуногистохимический анализ — это диагностическая лабораторная методика. Его базовая концепция — определение антигенов в срезах тканей с помощью специфичных первичных антигенов. Сразу после связывания антигена с антителом комплекс должен визуализироваться с помощью реакции окрашивания, обнаруживаемого с помощью световой или флюоресцентной микроскопии. Специфичное первичное антитело может нести генерирующую сигнал молекулу, позволяющую выполнить прямую визуализацию связывания. С другой стороны, методы непрямой визуализации требуют дополнительных этапов определения специфичного антитела и генерации сигнала. Наиболее распространенные техники методов непрямой визуализации основаны на использовании третичного антитела с ферментом, связывающим вторичное антитело, направленное против видов первичного антитела, с соответствующей системой субстрат — хромоген. Это сочетание приводит к появлению окрашенного осадка в месте связывания специфичного антитела. В наборе OptiView DAB IHC Detection Kit реализован метод непрямой визуализации связи специфичных антител с антигенами, основанной на выпадании коричневого осадка.

ПРАВИЛА ПРИМЕНЕНИЯ

Набор OptiView DAB IHC Detection Kit предназначен для детекции специфичных мышиных и кроличьих антител, связанных с антигеном, в парафинированных и замороженных срезах тканей. Специфичное антитело определяется специфичным вторичным антителом, связанным меченым ферментом третичным антителом. Полученный комплекс визуализируется при помощи преципитации ферментным продуктом.

В наборе OptiView DAB IHC Detection Kit используется смесь вторичных антител, при помощи которой определяется связанное первичное антитело. Смесь вторичных антител распознается связанным ферментом третичным антителом, визуализированным субстратом (перекисью водорода) и хромогеном (3, 3' – диаминобензидина тетрагидрохлоридом (DAB)) на основании наличия коричневого осадка, легко определяемого при помощи световой микроскопии. Инкубация с реактивами на каждом этапе обработки препарата выполняется в течение определенного времени при определенной температуре. При завершении каждого этапа инкубации в приборе VENTANA BenchMark Series срезы промываются, чтобы удалить несвязанный материал. Также применяется жидкое покрытие, минимизирующее испарение со стекла водных растворов реагентов.[1] Результаты интерпретируются при помощи световой микроскопии и дифференциальной диагностики патофизиологических процессов, которые могут быть или не быть связанными с конкретным антигеном.

Подробные сведения и работе прибора см. в соответствующем руководстве пользователя.

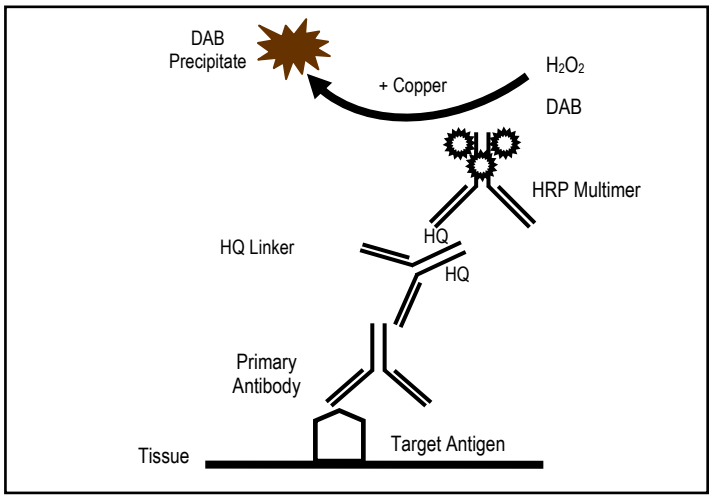


Рисунок 1. OptiView DAB IHC Detection Kit

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Реактивы в комплекте поставки

Набор OptiView DAB IHC Detection Kit содержит количество реактивов, достаточное для проведения 250 исследований.

Один дозатор 25 мл	Реагент OptiView Peroxidase Inhibitor содержит раствор перекиси водорода 3,0 %.
Один дозатор 25 мл	Реагент OptiView HQ Universal Linker содержит смесь отмеченных HQ (HQ — это собственный гаптен, ковалентно связанный с козьими антителами) антител (козьи антитела к мышиным IgG, козьи антитела к мышиным IgM и козьи антитела к кроличьим антигенам) (<50 мкг/мл) в буфере, содержащем белок и ProClin 300 в качестве консерванта.
Один дозатор 25 мл	Реагент OptiView HRP Multimer содержит мышиное моноклональное отмеченное anti-HQ, содержащее пероксидазу хрена, третичное антитело в буфере (< 40 мкг/мл), содержащем белок и ProClin 300 в качестве консерванта.
Один дозатор 25 мл	Реагент OptiView H_2O_2 содержит перекись водорода 0,04 % в фосфатно-буферном растворе.
Один дозатор 25 мл	Реагент OptiView DAB содержит 3, 3' – диаминобензидина тетрагидрохлоридом (DAB) 0,2 % в соответствующем стабилизирующем растворе с соответствующим консервантом.
Один дозатор 25 мл	Реагент OptiView Copper содержит сульфат (5,0 г/л) в ацетатном буфере с соответствующим консервантом.

Восстановление раствора, смешивание, разведение и титрация

Набор для определения оптимизирован для использования с приборами VENTANA BenchMark Series. Восстановление, смешивание, разведение и титрование входящих в набор реагентов не требуется.

Дальнейшее разведение может привести к утрате способности к окрашиванию препаратов, содержащих антиген. Подобные действия с реактивами могут проводиться только после валидации пользователем. Различия в обработке срезов ткани и в лабораторных предэкзаменационных процедурах могут приводить к значительному разбросу результатов. Подробные сведения о контрольных образцах см. в разделе «Контроль качества».

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Требующиеся материалы и реактивы, не входящие в комплект поставки

В комплект поставки набора для определения не входят перечисленные ниже реактивы и материалы, которые могут потребоваться для окрашивания.

1. Первичное антитело.
2. Реактив для отрицательного контроля
3. Микропрепараты для положительного и отрицательного контролей (рекомендованные типы указаны на прилагаемых к антителу вкладышах).
4. OptiView Amplification Kit
5. Реактивы Protease 1, 2, и 3 (необходимые для некоторых приложений).
6. Реактивы Hematoxylin и Hematoxylin II Counterstain (необходимые для некоторых приложений).
7. Реактив Bluing Reagent (необходим для некоторых приложений).
8. Reaction Buffer Concentrate (10X)
9. Реактивы Cell Conditioning Solutions (CC1) и (CC2) (необходимые для некоторых приложений).
10. Реактив Antibody Diluent (необходим для некоторых приложений).
11. Раствор EZ Prep Concentrate (10X)
12. Liquid Coverslip (High Temperature)
13. Этанол или спиртовой реактив (гистологической степени очистки).
14. Приборы VENTANA BenchMark Series.
15. Предметные стекла (с положительным зарядом)
16. Сушилка, способная поддерживать температуру 60 ± 5 °C
17. Ярлыки со штрих-кодами (соответствующие ярлыки со штрих-кодами для реактива для отрицательного контроля и предназначенного для тестирования первичного антитела).
18. Ксилол (гистологической степени очистки)
19. Деионизированная или дистиллированная вода.
20. Покровное стекло с принадлежностями, достаточное, чтобы закрыть образец ткани.
21. Световой микроскоп.
22. Мягкое моющее средство.

Хранение и обращение

Хранить при температуре от 2 до 8 °C. Не замораживать. Этот набор для определения может быть использован немедленно после извлечения из холодильника.

Чтобы обеспечить надлежащую сохранность и стабильность всех реактивов, после каждого использования дозатор необходимо сразу закрывать крышкой и ставить в холодильник в вертикальном положении.

На каждом наборе для определения указан срок годности. При правильном хранении продукт сохраняет стабильность до даты, указанной на этикетке. Не используйте продукт после истечения срока годности для указанного способа хранения. Каких-либо однозначных признаков утраты активности данного реактива не существует, поэтому одновременно с окрашиванием исследуемых образцов следует производить окраску препаратов для положительного и отрицательного контроля. При выявлении нестабильности реактива следует немедленно связаться с представителем службы поддержки в своем регионе.

Забор образцов и их подготовка к анализу

Фиксированные формалином парафинированные срезы тканей могут использоваться с набором OptiView DAB IHC Detection Kit и прибором VENTANA BenchMark Series (см. раздел «Требующиеся материалы и реактивы, не входящие в комплект поставки»). В качестве фиксатора рекомендуется 10 % нейтральный буферный формалин.[2] Различия в результатах могут обуславливаться различиями в толщине срезов, типах фиксации, недостаточной или чрезмерной фиксацией или некоторыми процессами, например декальцификацией препаратов костного мозга.

Для использования первичного антитела и помещения на положительно заряженное предметное стекло микроскопа толщина срезов должна составлять примерно 2—5 мкм. Стекла с тканевыми срезами могут высушиваться или нагреваться в сушилке в течение не менее 2 часов, но не более 24 часов при температуре 60 ± 5 °C Нагрев стекол используется для высушивания тканевых срезов после накрытия их покровными стеклами, а также для усиления адгезии срезов к стеклу. Относящиеся к нагреванию ограничения указаны на прилагаемых к антителу вкладышах. Продолжительное нагревание тканевых срезов может привести к уменьшению доступности антигена.

Для использования первичного антитела толщина замороженных срезов должна составлять примерно 4-5 мкм. Срезы помещаются на предметное стекло микроскопа и немедленно погружаются в ацетон (температура — от 4 до 8°C) на 10 минут. Цитоспиновые мазки создаются с использованием стандартных методов центрифугирования и фиксации. Срезы должны высушиваться на воздухе в течение не менее 30 минут, предпочтительно в ночное время. К высушенным стеклам прикрепляются соответствующие этикетки со штрих-кодом.

Должным образом зафиксированные и накрытые тканевые срезы, экспрессирующие антиген, остаются стабильными при хранении при температуре от 15 до 25 °C. В соответствии с требованиями документа The Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) от 1988 г.42CFR493.1259 (b) «лаборатория должна хранить срезы не менее 10 лет, а блоки образцов — не менее 2 лет после исследования». Каждая лаборатория должна валидировать стабильность срезов при используемых процедурах и условиях хранения.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Реактив предназначен для диагностики *in vitro*.
2. Вещество ProClin 300 используется в качестве консерванта. Оно вызывает раздражение и при контакте с кожей может стать причиной сенсибилизации. Обращаться с осторожностью! Избегайте попадания реактивов в глаза, на кожу и слизистые оболочки. Используйте защитную одежду и перчатки. Список содержащих этот консервант дозаторов см. в разделе «Материалы и методика».
3. С материалами человеческого или животного происхождения следует обращаться как с потенциально биологически опасными. Их утилизация должна производиться с выполнением надлежащих мер предосторожности.
4. Обращаться с осторожностью! Избегайте попадания реактивов в глаза, на кожу и слизистые оболочки. Не допускайте вдыхания реактивов. При обращении с предположительными канцерогенами или токсичными материалами необходимо использовать одноразовые перчатки и надевать защитную одежду.
5. При попадании реактивов на чувствительные участки промойте эти места большим количеством воды.
6. Реактивы поставляются в оптимальной концентрации. Дальнейшее разведение может привести к ненадлежащему качеству окрашивания. Подобные действия с реактивами могут проводиться только после валидации пользователем. Используйте дозаторы с реагентами только одной серии продукта.
7. Не допускайте микробной контаминации реактивов, так как она может привести к получению недостоверных результатов.
8. Относительно рекомендованного способа утилизации препарата проконсультируйтесь с местными или государственными органами власти.
9. Дополнительную информацию по безопасности продукта см. в Паспорте безопасности и в разделе «Symbol and Risk Phrase Guide» (Символы опасности и фразы о риске) на сайте www.ventana.com.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор OptiView DAB IHC Detection Kit предназначен для использования с прибором VENTANA BenchMark Series в комбинации с первичными антителами и принадлежностями VENTANA. Параметры автоматизированных процедур можно выводить на дисплей, распечатывать и редактировать в соответствии с процедурой, приведенной в руководстве пользователя. Другие рабочие параметры прибора установлены на заводе-изготовителе.

Процедуры окрашивания при помощи приборов VENTANA BenchMark Series приведены ниже. Более подробную информацию и дополнительные протоколы окраски см. в соответствующем руководстве пользователя. Необходимость предварительной обработки образца определяется антителом. Указания см. на прилагаемых к антителу вкладышах.

Приборы VENTANA BenchMark Series

1. Выполните считывание штрих-кода, соответствующего используемому протоколу.
2. Поместите первичное антитело, необходимые дозаторы из набора для определения и требующийся вспомогательный реактив в лоток для реактивов и загрузите лоток в иммуногистостейнер.
3. Проверьте наличие растворов и пустого контейнера для отходов.
4. Загрузите предметные стекла в иммуногистостейнер.
5. Запустите цикл окраски.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6. По окончании цикла окраски извлеките предметные стекла из иммуногистостейнера.

Рекомендуемые процедуры после обработки

1. Промойте предметные стекла мягким моющим средством для удаления покровного раствора.
2. Тщательно промойте предметные стекла дистиллированной водой для полного удаления моющего средства.
3. Выполните дегидратацию и просветление препарата. Затем накройте его постоянным покровным стеклом.

Контроль качества

Препарат для положительного контроля

Положительный контроль тканевого среза следует выполнять при каждой процедуре окрашивания. Оптимальная лабораторная практика — помещение среза для положительного контроля на одно стекло с образцом ткани пациента. Это облегчает выявление ненадлежащего функционирования прибора и неудачного применения первичного антитела или других принципиально важных реактивов к исследуемому срезу ткани. Для оптимального контроля качества наиболее пригоден слабо окрашенный тканевой срез. Этот препарат может содержать как окрашиваемые, так и неокрашиваемые клетки или компоненты ткани и использоваться как средство положительного и отрицательного контроля. В качестве контроля следует использовать свежие образцы тканей, полученные в ходе вскрытия, биопсии или хирургических операций. Образцы следует как можно скорее подготовить или зафиксировать по процедуре, используемой для исследуемых образцов. С использованием таких образцов должен контролироваться весь процесс исследования, начиная от подготовки ткани и заканчивая окрашиванием. Использование срезов тканей, обработанных по процедуре, отличной от примененной для исследуемого образца, позволяет контролировать качество всех реактивов и этапов окраски, за исключением фиксации и обработки тканей.

Препараты для положительного контроля следует использовать только для проверки правильности самой процедуры окрашивания и качества реактивов, но не для сравнения при установлении патоморфологического диагноза по исследуемым образцам. Если в какой-либо партии препаратов не наблюдается положительного окрашивания заведомо положительных структур тканей, результаты окрашивания данной партии исследуемых образцов следует считать недостоверными.

Препарат для отрицательного контроля

Для отрицательного контроля может использоваться тот же препарат, что и для положительного. Благодаря имеющемуся в большинстве тканевых срезов разнообразию типов клеток, возможно проведение внутреннего отрицательного контроля, который должен верифицироваться пользователем. Неокрашенные структуры будут подтверждать отсутствие специфичного окрашивания и являться индикатором фонового окрашивания. Если наблюдается специфическое окрашивание препарата для отрицательного контроля, результаты окрашивания препаратов пациента являются недостоверными.

Необъяснимые расхождения

В случае получения необъяснимых расхождений в результатах окрашивания контрольных образцов следует немедленно обратиться к представителю службы поддержки в вашем регионе. Если результаты контроля качества не соответствуют спецификациям, результаты исследования тканей пациентов следует считать недостоверными. См. раздел «Выявление и устранение проблем» в настоящей инструкции. Выявите и устраните проблему. Затем повторите окраску препаратов пациента.

Реактив для отрицательного контроля

Параллельно с окраской каждого образца второй образец обрабатывается реактивом для отрицательного контроля и служит для сравнения при интерпретации результатов. Реактив для отрицательного контроля используется вместо первичного антитела для оценки неспецифической окраски. Препарат обрабатывается соответствующим реактивом для отрицательного контроля: Negative Control Mouse или Negative Control Rabbit. Если используется альтернативный реактив для отрицательного контроля, разведите до концентрации антисыворотки первичного антитела реактивом Antibody Diluent. Разбавитель самостоятельно может быть использован в качестве альтернативы реактивам для отрицательного контроля, описанным выше. Время инкубации с реактивом для отрицательного контроля и с первичным антителом должно быть одинаковым.

При использовании для наборов срезов панелей с несколькими антителами реактив для отрицательного контроля на стекле может служить в качестве отрицательного контроля или фонового контроля неспецифичного связывания для других антител.

Верификация диагностической системы

Прежде чем использовать первичное антитело и красители в диагностических процедурах, следует установить специфичность первичного антитела путем проверки реактива антитела на серии тканей с известными результатами иммуногистохимического анализа, т. е. на тканях, для которых известно, какие элементы окрашиваются, а какие не окрашиваются (см. раздел «Положительный контроль тканевого среза» прилагаемого к первичному антителу вкладыша и рекомендации по контролю качества College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist,[3] либо CLSI Approved Guideline[4] , либо оба документа). Процедуры контроля качества следует выполнять для каждой партии антитела и при изменении параметров анализа. Тканевые срезы, перечисленные в разделе «Рабочие характеристики» инструкции к первичному антителу, могут использоваться для верификации диагностической системы.

Интерпретация результатов

Реактив OptiView DAB IHC Detection Kit при помощи первичного антитела в месте обнаружения антигена вызывает реакцию коричневого окрашивания с образованием осадка. Интерпретация результатов должна проводиться квалифицированным патоморфологом, который имеет опыт оценки препаратов, подготовленных с использованием иммунохимических методов. Интерпретация производится в сравнении с контрольными препаратами и с предварительной квалификацией окрашенного продукта реакции. Прежде всего, следует отметить окрашивание образцов отрицательного контроля и сравнить эти результаты с окрашенным материалом, чтобы удостовериться, что сигнал генерирован не по причине неспецифичного взаимодействия.

Препарат для положительного контроля

Сначала оценивается препарат для положительного контроля, чтобы убедиться, что все реактивы пригодны. Для положительного контроля характерно присутствие окрашенного продукта реакции в клетках-мишенях. В зависимости от времени инкубации и активности гематоксилина при контрастном окрашивании ядра клеток приобретают цвет от светло-голубого до темно-синего. Как избыточное, так и недостаточное контрастное окрашивание затрудняет интерпретацию результатов.

Если препарат для положительного контроля не окрашивается, результаты окрашивания данной партии исследуемых образцов следует считать недостоверными.

Препарат для отрицательного контроля

После исследования препарата для положительного контроля анализируется препарат для отрицательного контроля с целью определения специфичности связывания первичного антитела с антигенами на клетках-мишенях. Отсутствие окрашивания препарата для отрицательного контроля подтверждает, что антитело не проявляет перекрестной реактивности к другим клеткам и клеточным компонентам. Если наблюдается специфическое окрашивание препарата для отрицательного контроля, результаты окрашивания препарата пациента являются недостоверными.

Если появляется неспецифическое окрашивание, оно имеет диффузный характер. В срезах препаратов, которые избыточно фиксированы формалином, время от времени наблюдается окрашивание соединительной ткани. Для интерпретации окрашивания следует оценивать неповрежденные клетки. Некротические и дегенерировавшие клетки часто окрашиваются неспецифически.

Препарат пациента

Препараты пациента оцениваются в последнюю очередь. При оценке интенсивности специфического окрашивания следует учитывать интенсивность неспецифичной фоновой окраски препарата, обработанного реактивом для отрицательного контроля. Как и при любом иммуногистохимическом методе, отрицательный результат не означает, что исследуемый антиген отсутствует в клетках или тканях; он означает, что антиген не выявлен. Чтобы облегчить выявление ложноотрицательных реакций, при необходимости воспользуйтесь панелью антител. При интерпретации результатов иммуногистохимического анализа морфологию тканей каждого образца следует оценивать после окраски срезов гематоксилином и эозином. Выявленные морфологические изменения тканей пациента и связанные с ними клинические данные должны интерпретироваться квалифицированным патоморфологом.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ОГРАНИЧЕНИЯ

Общие ограничения

1. Иммуногистохимический анализ является многоступенчатым диагностическим процессом, который требует от персонала специальной подготовки по выбору необходимых реактивов и тканей, способов фиксации, обработки и подготовки иммуногистохимического препарата, а также интерпретации результатов окрашивания.
2. На результаты окрашивания влияют методы хранения и подготовки образца ткани. Ненадлежащее выполнение фиксации, замораживания, оттаивания, высушивания, нагрева или подготовки срезов, а также загрязнение образца другими тканями и жидкостями может привести к появлению артефактов, фиксации антител или получению ложноотрицательных результатов. Расхождения в результатах могут возникать из-за непостоянства процедур фиксации и заливки или из-за необычных свойств ткани.
3. Как избыточное, так и недостаточное контрастное окрашивание затрудняет интерпретацию результатов.
4. Клиническая интерпретация любого окрашивания либо его отсутствия, должна проводиться с учетом истории болезни, морфологических данных и других гистопатологических критериев. Клиническая интерпретация любого окрашивания либо его отсутствия должна дополняться морфологическими исследованиями и сравнением с соответствующими контрольными образцами и другими диагностическими анализами. Оценку должен проводить квалифицированный патоморфолог, который знаком с антителами, реактивами и методами, используемыми для интерпретации окрашенных препаратов. Окрашивание должно проводиться в сертифицированной и лицензированной лаборатории под контролем патоморфолога, который несет ответственность за просмотр окрашенных препаратов и обеспечение достоверности положительных и отрицательных контролей.
5. Ventana Medical Systems, Inc. поставляет антитела и реактивы в растворе, который является оптимальным для проведения анализа при соблюдении инструкций. Любое отклонение от рекомендованных процедур анализа может влиять на достоверность результатов. Следует использовать приемлемые методы контроля, которые должны документироваться. При отклонении от рекомендованных процедур анализа ответственность за интерпретацию препаратов пациента лежит полностью на пользователе.
6. Реактивы могут вступать в неожиданные реакции в тканях, впервые подвергающихся обработке. Возможность неожиданных реакций даже в тестированных тканях нельзя полностью исключить из-за биологической вариабельности экспрессии антигена в клетках опухолей и других патологических тканей.[5,6] Документированные случаи неожиданных реакций просим доводить до сведения представителя службы поддержки в вашем регионе.
7. Ткани пациентов с гепатитом B, содержащие HBs-антиген (поверхностный антиген вируса), могут неспецифически окрашиваться пероксидазой хрена.[7]
8. При использовании на блокирующих этапах нормальная сыворотка, полученная от тех же животных, что и вторичная антисыворотка, может давать ложноотрицательные или ложноположительные результаты ввиду наличия аутоантител или естественных антител.
9. Ложноположительные результаты могут возникать из-за неиммунологического связывания белков или продуктов реакций. Также они могут возникать как следствие действия псевдопероксидазы (эритроцитов) или эндогенной пероксидазы.[8]
10. Как и при любом иммуногистохимическом методе, отрицательный результат не означает, что исследуемый антиген отсутствует в клетках или тканях; он означает, что антиген не выявлен.

Особые ограничения

1. Все этапы и параметры процедуры использования набора для определения оптимизированы для приборов VENTANA BenchMark Series. Из-за различий в процедуре фиксации и подготовки препарата может потребоваться увеличить или уменьшить время инкубации отдельных образцов с первичным антителом. Время инкубации первичного антитела зависит от степени фиксации тканевого среза и может колебаться от 4 до 120 минут. Подробные сведения о различиях в методиках фиксации см. в руководстве «Immunohistochemistry Principles and Advances»[9] (Принципы и достижения иммуногистохимии) или «Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist» (Иммуномикроскопия: диагностический инструмент для патоморфолога).[10]
2. Первичные антитела VENTANA не оптимизированы для использования с набором OptiView DAB IHC Detection Kit. Валидация окрашивания первичных антител с использованием набора OptiView входит в обязанности пользователя.
3. Набор для определения, используемый в комбинации с первичными антителами и принадлежностями Ventana, позволяет выявлять антигены, выдерживающие рутинные методы фиксации в формалине, обработки тканей и подготовки срезов.
4. При использовании времени инкубации и температуры, отличных от установленных, возможно получение ошибочных результатов. Подобные действия с реактивами могут проводиться только после валидации пользователем.
5. При использовании набора OptiView фиксацию рекомендуется осуществлять 10 % нейтральным формалином на буфере. При использовании фиксатора Modified Davidson's возможно возникновение проблем с качеством окрашивания.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор OptiView DAB IHC Detection Kit предназначен для использования с мышиными и кроличьими первичными антителами. Продукт оценивался с различными первичными антителами на различных типах тканевых срезов при помощи протоколов, представленных во вкладышах, прилагаемых к соответствующим антителам. Если не указано иное, то оценка выполнялась на приборах VENTANA BenchMark Series с первичными антителами и вспомогательными реактивами VENTANA.

Тестирование включало:

1. Чувствительность и специфичность

   Специфичность тестировалась, чтобы продемонстрировать специфичность детекции мышиных и кроличьих первичных антител, а также отсутствие влияния неспецифичной фоновой окраски на положительные и отрицательные результаты.

   Чувствительность тестировалась, чтобы продемонстрировать способность детекции первичных антител, связанных с незначительным количеством антигенов, при соответствующих схемах окрашивания.
2. Воспроизводимость

   Воспроизводимость результата внутри цикла и между циклами

   Воспроизводимость результата внутри платформы и между платформами

Во всех случаях образцы тканей были проанализированы и признаны пригодными с точки зрения критериев окрашивания и качества для морфологического клеточного окрашивания. Все исследования соответствовали критериям качества.

ВЫЯВЛЕНИЕ И УСТРАНЕНИЕ ПРОБЛЕМ

1. Если в препарате для положительного контроля наблюдается менее интенсивное окрашивание, чем ожидалось, следует проверить другие препараты для положительного контроля, окрашенные в том же цикле, чтобы установить, является ли первичное антитело или какой-либо вторичный реактив причиной плохого окрашивания.
2. Если препарат для положительного контроля не окрасился, следует убедиться, что препарат имеет соответствующий штрих-код. Если штрих-код соответствует типу препарата, следует проверить другие препараты для положительного контроля, окрашенные в том же цикле, чтобы установить, является ли первичное антитело или какой-либо вторичный реактив причиной плохого окрашивания. Возможной причиной плохого окрашивания является неправильный забор материала и нарушение процедур фиксации или депарафинизации. При заборе, хранении и фиксации материала следует соблюдать установленные процедуры.
3. Отсутствие окраски может быть обусловлено неполным удалением парафина. В этом случае следует повторить депарафинизацию.
4. Если специфическое иммунологическое окрашивание слишком интенсивно, следует повторить цикл окраски, уменьшая временя инкубации первичного антитела с шагом 4 минуты до достижения требуемой интенсивности. Кроме того, для дальнейшей оптимизации протокола можно изменить время инкубации линкера и мультимера.
5. Если срезы смываются с предметных стекол, следует убедиться, что поверхность стекол несет положительный заряд.
6. Способы устранения проблем см. в руководстве пользователя иммуногистостейнером. Соответствующую информацию также можно получить у представителя службы поддержки в вашем регионе.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

7. Если из дозатора реактива жидкость не поступает в нужном количестве, проверьте заливочную камеру и лунку на предмет наличия частиц, например волокон или осадка. Если подача жидкости дозатором не осуществляется, не используйте дозатор и обратитесь к представителю службы поддержки в вашем регионе. Также можно повторно заправить дозатор. Его следует направить на контейнер для отходов, снять колпачок наконечника и нажать на верхнюю часть дозатора.
8. Если для реактива Peroxidase Inhibitor не выбрано применение до или после первичного антитела, то возможно проявление активности эндогенной пероксидазы. Настройка по умолчанию не используется. Оператору следует выбрать, когда применять реактив Peroxidase Inhibitor, при установке параметров протокола.
9. В результате ферментативного гидролиза протеазы возможно нежелательное окрашивание клеток плазмы и тучных клеток. Чтобы оценить уровень фонового окрашивания в сравнении с результатом положительного окрашивания, следует использовать препарат для отрицательного контроля.[6]

ЛИТЕРАТУРА

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. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2009.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (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.
5. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem. 1991;66(4):194-199.
6. Hautzer NW, Wittkuhn JF, Elliott-McCaughey WT. Trypsin Digestion in Immunoperoxidase Staining. Jour of Histochem and Cytochem. 1980;28:52-53.
7. 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.
8. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. Lab Med. 1983;14:767.
9. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
10. Taylor C, Cote RJ. Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist. 2nd Edition. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company; 1986.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

BENCHMARK, OptiView, VENTANA и логотип VENTANA являются товарными знаками компании Roche.

Все другие товарные знаки являются собственностью их законных владельцев.

Компания Ventana предоставляет покупателю разовую лицензию в соответствии патентами США № 6045759, 6945128 и 7378058 и в соответствии с аналогичными патентами, выданными в других странах.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.ventana.com

EC REP
Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

Уполномоченный представитель
в Республике Беларусь:
ООО "Алмазмед"
220040, г.Минск ул. Восточная 33
пом.3, к.1.

CE

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

VENTANA®

OptiView Amplification Kit

REF 760-099 06396518001 Σ 50

860-099 06718663001 Σ 250

IVD

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Набор OptiView Amplification Kit может использоваться вместе с набором OptiView DAB IHC Detection Kit (OptiView Detection Kit) для повышения интенсивности окрашивания мышиных и кроличьих первичных антител. Этот набор предназначен для качественной реакции окрашивания фиксированных в формалине и парафинированных тканевых срезов, замороженных срезов или цитологических препаратов на автоматических иммуногистостейнерах VENTANA BenchMark Advanced Staining с первичными антителами VENTANA и вспомогательными реактивами, применяемыми для обнаружения методом световой микроскопии.

Клиническая интерпретация любого окрашивания или отсутствия окрашивания должна дополняться морфологическими исследованиями и оценкой соответствующих контрольных образцов. Оценка должна проводиться квалифицированным патоморфологом с учетом данных истории болезни пациента и результатов других диагностических тестов.

Данный продукт предназначен для диагностического использования *in vitro* (IVD).

ПРАВИЛА ПРИМЕНЕНИЯ

Набор OptiView Amplification Kit может использоваться вместе с набором OptiView Detection Kit, кроличьими и мышиными первичными антителами и приборами VENTANA BenchMark Advanced Staining для стандартного иммуногистохимического окрашивания. В набор OptiView Amplification Kit входит конъюгат HQ гаптен (OptiView Amplifier), соответствующий субстрат (OptiView Amplification H_2O_2) и мышиное моноклональное антитело anti-HQ, содержащее пероксидазу хрена (OptiView Amplification Multimer).

После выбора варианта амплификации в протоколе OptiView Detection Kit и депонирования реактива OptiView HRP Multimer на стекло добавляются реактивы OptiView Amplifier и OptiView Amplification H_2O_2. После инкубации срез промывается, добавляется реактив OptiView Amplification Multimer и выполняется инкубация. После промывки к срезу добавляются реактивы OptiView DAB и OptiView H_2O_2, после чего — реактив OptiView Copper. О связывании специфических антител с антигенами в срезах ткани свидетельствует визуализируемый коричневый осадок.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Реактивы в комплекте поставки

Набор OptiView Amplification Kit (760-099 / 06396518001) содержит количество реактивов, достаточное для проведения 50 исследований.

Один дозатор 5 мл	Реактив OptiView Amplifier содержит тирамид с линкером, содержащим HQ (<40 мкг/мл) в разбавителе, в котором в качестве консерванта используется ProClin 300.
Один дозатор 5 мл	Реактив OptiView Amplification Multimer содержит мышиное моноклональное антитело anti-HQ, содержащее пероксидазу хрена (<10 мкг/мл), в разбавителе, в котором в качестве консерванта используется ProClin 300.
Один дозатор 5 мл	Реактив OptiView Amplification H_2O_2 содержит H_2O_2 0,04%.

Набор OptiView Amplification Kit (860-099 / 06718663001) содержит количество реагента, достаточное для проведения 250 тестов.

Один дозатор 25 мл	Реактив OptiView Amplifier (250) содержит тирамид с линкером, содержащим HQ (<40 мкг/мл) в разбавителе, в котором в качестве консерванта используется ProClin 300.
Один дозатор 25 мл	Реактив OptiView Amplification Multimer (250) содержит мышиное моноклональное антитело anti-HQ, содержащее пероксидазу хрена (<10 мкг/мл), в разбавителе, в котором в качестве консерванта используется ProClin 300.
Один дозатор 25 мл	OptiView Amplification H_2O_2 (250) содержит 0,04% H_2O_2.

Восстановление раствора, смешивание, разведение и титрование

Восстановление, смешивание, разведение и титрование не требуются. Дальнейшее разведение может привести к утрате способности к специфичному окрашиванию. Подобные действия с реактивами могут проводиться только после валидации пользователем.

Требующиеся материалы, не входящие в комплект поставки

Реактивы, например первичные антитела VENTANA, зонды, наборы для визуализации и вспомогательные компоненты, приобретаются дополнительно.

Хранение и обращение

Хранить при температуре от 2 до 8 °C. Не замораживать.

Чтобы обеспечить надлежащую сохранность и стабильность реактивов, после каждого использования дозатор необходимо сразу закрывать крышкой и ставить в холодильник в вертикальном положении.

На наборе указан срок годности. При правильном хранении реактив сохраняет стабильность до даты, указанной на этикетке. Не используйте набор после истечения срока годности.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Реактивы предназначены для диагностики *in vitro (IVD)*.
2. НЕ используйте набор OptiView Amplification Kit с маркерами, интенсивность окрашивания которых является компонентом интерпретации окрашивания.
3. Обращаться с осторожностью! Избегайте попадания реактивов в глаза, на кожу и слизистые оболочки. Используйте защитную одежду и перчатки.
4. Вещество ProClin 300 используется в качестве консерванта. Оно вызывает раздражение и при контакте с кожей может стать причиной сенсибилизации. Обращаться с осторожностью! Избегайте попадания реактивов в глаза, на кожу и слизистые оболочки. Используйте защитную одежду и перчатки. Список содержащих этот консервант дозаторов см. в разделе «Материалы и методика».
5. Не допускайте микробной контаминации продукта. В противном случае возможно получение неверных результатов.
6. По поводу рекомендованного метода утилизации обращайтесь за консультацией в соответствующие местные или государственные органы.
7. Дополнительную информацию по безопасности продукта см. в Паспорте безопасности и в разделе «Symbol and Risk Phrase Guide» (Символы и предупреждения, связанные с риском) на сайте www.ventana.com.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор OptiView Amplification Kit предназначен для усиления сигнала, генерируемого первичными антителами, окрашенными при помощи набора OptiView Detection Kit на приборах VENTANA BenchMark Advanced Staining. Чтобы использовать набор Amplification Kit, пользователь должен загрузить реактивы в прибор, выбрать опцию Amplification (Амплификация) в процедуре OptiView и установить время инкубации для этапов работы усилителя и амплификации мультимеров. Этапы амплификации представлены в протоколе окрашивания OptiView Detection Kit. Первичные антитела VENTANA не оптимизированы для использования с наборами OptiView Detection Kit и OptiView Amplification Kit. Валидация протоколов окрашивания входит в обязанности пользователя.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор OptiView Amplification Kit используется для усиления генерируемого сигнала вместе с набором OptiView Detection Kit на приборах VENTANA BenchMark Advanced Staining. Набор OptiView Amplification Kit тестировался с различными первичными антителами.

Тестирование включало:

1. Чувствительность и специфичность

   Специфичность тестировалась, чтобы продемонстрировать специфичность детекции мышиных и кроличьих первичных антител, а также отсутствие влияния неспецифичной фоновой окраски на положительные и отрицательные результаты.

   Чувствительность тестировалась, чтобы продемонстрировать способность детекции первичных антител, связанных с незначительным количеством антигенов, при соответствующих схемах окрашивания.

2. Воспроизводимость

   Воспроизводимость результата внутри цикла и между циклами

   Воспроизводимость результата внутри платформы и между платформами

Во всех случаях образцы тканей были проанализированы и признаны пригодными с точки зрения критериев окрашивания и качества для морфологического клеточного окрашивания. Все исследования соответствовали критериям качества.

ВЫЯВЛЕНИЕ И УСТРАНЕНИЕ ПРОБЛЕМ

1. Если препарат имеет фоновую окраску, уменьшите время инкубации для компонентов амплификации или используйте для первичных, вторичных и (или) третичных антител этап разведение среза.
2. Способы устранения проблем см. в руководстве пользователя автоматического иммуногистостейнера или обратитесь к представителю службы поддержки в вашем регионе.
3. Если из дозатора реактива жидкость не поступает в нужном количестве, проверьте заливочную камеру и лунку на предмет наличия частиц, например волокон или осадка. Если подача жидкости дозатором не осуществляется, не используйте дозатор и обратитесь к представителю службы поддержки в вашем регионе. Также можно повторно заправить дозатор. Его следует направить на контейнер для отходов, снять колпачок наконечника и нажать на верхнюю часть дозатора.
4. Подробные сведения о выявлении и устранении проблем см. в листке-вкладыше, прилагаемом к набору OptiView Detection Kit.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

BENCHMARK, OptiView, VENTANA и логотип VENTANA являются товарными знаками компании Roche.

Все другие товарные знаки являются собственностью их законных владельцев.

© 2012 Ventana Medical Systems, Inc.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.ventana.com

EC REP
Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

Уполномоченный представитель
в Республике Беларусь:
ООО "Алмазмед"
220040, г.Минск ул. Восточная 33
пом.3, к.1.

CE

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Rabbit Monoclonal Negative Control Ig

REF 790-4795

06683380001

IVD Σ 250

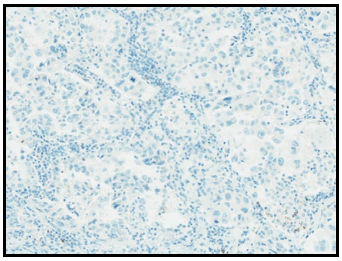


Рисунок 1. Rabbit Monoclonal Negative **Control Ig на немелкоклеточной карциноме легкого.**

НАЗНАЧЕНИЕ

Rabbit Monoclonal Negative Control Ig предназначен для лабораторного применения в качестве контроля неспецифического связывания кроличьего иммуноглобулина в срезах зафиксированных в формалине, залитых парафином тканей, при окраске методами VENTANA BenchMark IHC/ISH с помощью платформ (BenchMark GX, BenchMark XT, и BenchMark ULTRA).

Оценку должен производить квалифицированный патоморфолог с учетом результатов гистологического исследования, необходимых клинических данных и после сравнения с соответствующими контрольными образцами.

Данный продукт предназначен для диагностики *in vitro (IVD)*.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

Реагент Rabbit Monoclonal Negative Control Ig может использоваться как вспомогательное средство при идентификации клеток или компонентов тканей которые связываются с антителами независимо от антигенов. Отрицательный контроль реагентов демонстрирует неспецифическое связывание с составляющими, находящимися в клеточной мембране, цитоплазме, ядре или во внеклеточных областях нормальных и аномальных клеток.

Отрицательный контроль реагентов следует использовать при окрашивании каждого образца ткани пациента, чтобы помочь в интерпретации результатов. Отрицательный контроль реагентов используется вместо окрашивания препарата первичным антителом, чтобы обнаружить неспецифическое окрашивание. Период инкубации препарата с отрицательным контролем реагентов должен соответствовать периоду инкубации с первичным антителом.

При использовании панели из нескольких антител для окрашивания серии срезов тканей отрицательный контроль реагентов для одного из антител может служить отрицательным или фоновым контролем для всех остальных антител.

ПРИНЦИП ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Rabbit Monoclonal Negative Control Ig может использоваться вместо первичного антитела как отрицательный контроль иммуногистохимического окрашивания срезов парафинированных тканей. Как правило, иммуногистохимическое окрашивание позволяет визуализировать антигены в результате многоэтапного процесса: применение определенного первичного антитела против соответствующего антигена, применение вторичного (связующего) антитела к первичному антителу, обработка комплексом ферментов и нанесение хромогенного субстрата, с промежуточными этапами промывки. Ферментативная активация хромогена приводит к видимому окрашиванию продуктов реакции на антигенных участках. Затем препарат можно окрасить контрастным красителем и заключить под покровное стекло. Результаты испытания анализируются с применением светового микроскопа и в сочетании с дифференциальной диагностикой патофизиологических процессов, которые могут быть связаны или не связаны с определенным антигеном.

Rabbit Monoclonal Negative Control Ig обладает оптимальной концентрацией для использования совместно с наборами для визуализации VENTANA IHC и платформами VENTANA BenchMark IHC/ISH. Каждый шаг процедуры окрашивания включает инкубацию препарата с необходимым реактивом в течение строго определенного промежутка времени и при строго определенной температуре. После каждой инкубации платформа VENTANA BenchMark IHC/ISH промывает препарат, чтобы остановить реакцию и удалить несвязавшийся материал, который может помешать реакциям на дальнейших этапах окрашивания. Чтобы минимизировать испарение водных реактивов из среза с образцом, в аппарате используется покрывающий раствор. Завершающий этап окрашивания — инкубация с хромогенным субстратом и необязательное контрастное окрашивание. Более подробная информация о работе стейнеров содержится в инструкциях к соответствующим платформам VENTANA BenchMark IHC/ISH.

РЕАГЕНТЫ, ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ

Rabbit Monoclonal Negative Control Ig содержит реагент в количестве, достаточном для выполнения 250 анализов.

Один дозатор объемом 25 мл Rabbit Monoclonal Negative Control Ig содержит приблизительно 250 мкг кроличьего моноклонального антитела.

Антитело разведено в 0,08 М фосфатно-буферном солевом растворе с 3 % белка-носителя и 0,05 % ProClin 300 в качестве консерванта.

Общая концентрация белка в реактиве составляет примерно 10 мг/мл. Концентрация специфических антител составляет около 10 мкг/мл. Неспецифической реактивности антител у данного реагента не обнаружено.

Rabbit Monoclonal Negative Control Ig представляет собой рекомбинантное моноклональное кроличье антитело.

Обратитесь к соответствующей части вкладыша в упаковке диагностического набора VENTANA IHC, чтобы получить более подробную информацию о: 1) принципах и процедурах; 2) необходимых, но не входящих в комплект материалов и реагентов; 3) отборе образцов тканей и подготовке к анализу; 4) порядке контроля качества; 5) поиске и устранение проблем; 6) интерпретации результатов; 7) общих ограничениях.

Разбавление, смешивание, разведение и титрование концентрированного раствора

Данное антитело оптимизировано для использования с платформой VENTANA BenchMark IHC/ISH в сочетании с VENTANA OptiView DAB IHC Detection Kit, *ultra*View Universal DAB Detection Kit и *ultra*View Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit. Восстановление, смешивание, разведение и титрация не требуются.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ

Для проведения теста необходимы также следующие реагенты и материалы, не входящие в комплект поставки.

1. Кроличьи моноклональные первичные антитела VENTANA.
2. Предметные стекла (с положительным зарядом)
3. Сушильный шкаф, способный поддерживать температуру 60 °C ± 5 °C
4. Этикетки со штрих-кодами (соответствующие отрицательному контролю реагента и используемому первичному антителу).
5. Ксилол (гистологической степени очистки)
6. Этанол или спиртосодержащий реагент (гистологической степени очистки)
   - 100% раствор: неразбавленный этанол или спиртосодержащий реагент
   - 95% раствор: смешайте 95 частей этанола или спиртосодержащего реагента с 5 частями деионизированной воды
   - 80% раствор: смешайте 80 частей этанола или спиртосодержащего реагента с 20 частями деионизированной воды
7. Деионизированная или дистиллированная вода
8. OptiView DAB IHC Detection Kit (Cat. No. 760-700 / 06396500001)
9. OptiView Amplification Kit (Cat. No. 760-099 / 06396518001)
10. *ultra*View Universal DAB Detection Kit (Cat. No. 760-500 / 05269806001)
11. *ultra*View Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit (Cat. No. 760-501 / 05269814001)
12. Amplification Kit (Cat. No. 760-080 / 05269814001)
13. EZ Prep Solution Concentrate (10X) (Cat. No. 950-102 / 05279771001)
14. Reaction Buffer Solution Concentrate (10X) (Cat. No. 950-300 / 05353955001)
15. LCS (Predilute) (Cat. No. 650-010 / 05264839001)
16. ULTRA LCS (Predilute) (Cat. No. 650-210 / 05424534001)
17. ULTRA Cell Conditioning (ULTRA CC1) (Cat. No. 950-224 / 05424569001)
18. Cell Conditioning 1 (CC1) (Cat. No. 950-124 / 05279801001)
19. Cell Conditioning 2 (CC2) (Cat. No. 950-123/ 05279798001)
20. Hematoxylin II Counterstain (Cat. No. 790-2208 / 05277965001)
21. Bluing Reagent (Cat. No. 760-2037 / 05266769001)
22. Постоянная гистологическая среда для заливки образцов (Permount Fisher Cat. No. SP15-500 или эквивалентный продукт)
23. Покровное стекло (для помещения образцов ткани под стекло, например, VWR Cat. No. 48393-060)

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

24. Автоматический аппарат для заключения под покровное стекло (например, Tissue-Tek SCA Automated Coverslipper)
25. Оптический микроскоп
26. Промокательные салфетки

ХРАНЕНИЕ

Хранить при температуре 2–8 °C. Не замораживать.

Для обеспечения надлежащей сохранности реагента и стабильности антител после каждого использования дозатор необходимо сразу закрывать крышкой и ставить в холодильник в вертикальном положении.

На каждом дозаторе с раствором антител указан срок годности. При соблюдении условий хранения свойства реагента остаются неизменными до даты, указанной на маркировке. Не используйте реагент после истечения срока годности.

ПОДГОТОВКА К ПРОВЕДЕНИЮ АНАЛИЗА ОБРАЗЦА

При использовании комплектов визуализации VENTANA IHC и платформ VENTANA BenchMark IHC/ISH данное антитело можно применять для окрашивания подвергшихся стандартной обработке, фиксированных формалином и парафинированных срезов тканей.

Рекомендуемое средство фиксации тканей — 10 % нейтральный буферизированный формалин (NBF).[1] Используемое количество составляет от 15 до 20 объемов ткани. Фиксирующий раствор не пропитает плотную ткань толщиной более 2—3 мм или пористую ткань толщиной более 5 мм в течение 24 часов. Фиксировать следует срезы тканей толщиной 3 мм или меньше. Продолжительность процедуры должна составлять не менее 4 и не более 8 часов. Фиксацию можно проводить при комнатной температуре (15—25 °C).[2]

Необходимо получить срезы толщиной около 4 мкм и нанести их на предметные стекла. Стекла должны быть положительно заряжены. Препараты следует окрашивать немедленно, поскольку антигенные свойства тканевых срезов могут уменьшаться со временем.

СПЕЦИАЛЬНЫЕ УКАЗАНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Реагент предназначен для *in vitro* диагностики (IVD).
2. В данном реагенте в качестве консерванта используется ProClin 300. Классифицируется как раздражающее вещество и при попадании на кожу может вызывать раздражение. Обращаться с осторожностью! Избегайте попадания реактивов в глаза, на кожу и слизистые оболочки. Используйте защитную одежду и перчатки.
3. Материалы человеческого или животного происхождения следует считать биологически опасными материалами и уничтожать, соблюдая все необходимые меры предосторожности.
4. Избегайте попадания реагентов в глаза или на слизистые оболочки. При попадании реактивов на чувствительные участки промойте их достаточным количеством воды.
5. Не допускайте микробного загрязнения реагентов, поскольку это может привести к получению недостоверных результатов.
6. Проконсультируйтесь с местными и (или) государственными органами относительно рекомендованного способа утилизации реагента.
7. Более подробная информация содержится в сертификате безопасности материала, а также в руководстве по условным обозначениям и фразам риска на сайте www.ventana.com.

ПРОЦЕДУРА ОКРАШИВАНИЯ

Rabbit Monoclonal Negative Control Ig Первичные антитела разработаны для использования с платформами VENTANA BenchMark IHC/ISH совместно с наборами визуализации OptiView DAB IHC Detection Kit, *ultra*View Universal DAB Detection Kit и *ultra*View Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit и вспомогательными принадлежностями. Протокол окрашивания приводится на вкладыше, находящемся в упаковке соответствующих первичных антител.

Параметры автоматизированных процедур можно выводить на дисплей, распечатывать и редактировать в соответствии с процедурой, приведенной в руководстве по эксплуатации прибора. Подробная информация, касающаяся процедур иммуногистохимического окрашивания, приведена в листке-вкладыше наборов для визуализации VENTANA.

НЕОБЪЯСНИМЫЕ РАСХОЖДЕНИЯ

Если результаты контроля качества не соответствуют спецификациям, результаты, полученные на образцах пациента, следует считать недействительными. См. раздел «Выявление и устранение проблем» данного вкладыша. Установите и устраните проблему, а после этого повторите окрашивание пробы ткани, взятой у пациента.

ВЕРИФИКАЦИЯ ТЕСТА

Прежде чем использовать первичное антитело или систему окрашивания в диагностических целях, необходимо удостовериться в специфичности данного метода, окрасив серию тканей с известными иммуногистохимическими характеристиками. В серию должны входить как положительно, так и отрицательно окрашивающиеся контрольные ткани. Более подробная информация содержится в разделе «Контроль качества», приведенном выше в данном вкладыше, а также в разделах «Рекомендации по контролю качества Программы аккредитации лабораторий Колледжа американских патологов, Тест по патологической анатомии»[3] и «Указания, одобренные Институтом клинических и лабораторных стандартов»[4]). Указанные процедуры контроля качества необходимо проводить для каждой новой партии реактивов и при каждом изменении параметров окрашивания.

Интерпретация результатов

При окрашивании препарата с использованием автоматизированных иммуногистохимических методик VENTANA наблюдается выпадение окрашенного осадка в местах локализации антигена, обнаруженного первичным антителом. Описание ожидаемой реакции окрашивания приведено во вкладыше, прилагаемом к соответствующему набору визуализации. Перед оценкой результатов квалифицированный патоморфолог, имеющий опыт в проведении иммуногистохимического анализа, должен изучить образцы положительного и отрицательного контроля.

Препараты следует обрабатывать вместе с исследуемыми пробами тканей по процедуре, изложенной в инструкции к первичному антителу VENTANA, вложенной в упаковку препарата.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Общие ограничения

1. Иммуногистохимический анализ — это многоступенчатый диагностический процесс, который требует специальной подготовки в выборе необходимых реагентов и тканей, фиксации, обработке и подготовке иммуногистохимического препарата, а также интерпретации результатов окрашивания.
2. На результаты окрашивания влияет методика отбора, хранения и подготовки пробы ткани. Ненадлежащее выполнение фиксации, замораживания, оттаивания, промывки, высушивания, нагрева или микротомирования тканей, а также загрязнение пробы другими тканями или жидкостями может привести к появлению артефактов, неспецифическому связыванию антител или получению ложноотрицательных результатов. Противоречивые результаты могут быть следствием различий в способах фиксации и заливки или внутренней неоднородности образца ткани.
3. Избыточное или неполное контрастное окрашивание может отрицательно сказаться на правильности интерпретации результатов.
4. Клиническая интерпретация любого положительного окрашивания либо его отсутствия должна проводиться с учетом истории болезни, морфологических данных и других гистопатологических критериев. Такая интерпретация должна также дополняться морфологическими исследованиями и результатами других диагностических тестов. Интерпретация должна проводиться квалифицированным специалистом-патоморфологом, который знаком с характеристиками используемых антител, реагентов и методики, применяемой для окрашивания микропрепарата. Окрашивание должно проводиться в сертифицированной и лицензированной лаборатории под контролем патоморфолога, который несет ответственность за просмотр окрашенных препаратов и обеспечение достоверности положительных и отрицательных образцов.
5. Антитела и реагенты компании Ventana Medical Systems, Inc. имеют оптимальную концентрацию для применения в соответствии с прилагающейся инструкцией. Любое отклонение от рекомендуемой процедуры тестирования может привести к получению недостоверных результатов. Необходимо использовать и документировать надлежащие образцы. Пользователи, которые отклоняются от рекомендованной процедуры, принимают на себя всю ответственность за интерпретацию результатов диагностики.
6. Данный продукт не предназначен для применения в проточной цитометрии. Проверка рабочих характеристик не проводилась.
7. Если используются реагенты с тканями, которые ранее не анализировались, могут возникнуть непредвиденные реакции. В связи с биологическим разнообразием экспрессии антигена в опухолях и других патологических тканях полностью исключить возможность непредусмотренной реактивности нельзя даже для тех тканей, на которых данные реагенты уже тестировались[5].

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8. Ткани пациентов, инфицированных вирусом гепатита B, содержащие поверхностный антиген гепатита B (HBsAg), могут показывать неспецифическое окрашивание при обработке пероксидазой хрена[6].
9. Ложноположительные результаты могут возникать вследствие неиммунологического связывания белков или продуктов реакции в субстрате. Они также могут вызываться псевдопероксидазной активностью (эритроциты), эндогенной пероксидазной активностью (цитохром C), а также эндогенным биотином (например, печени, мозга, молочной железы, почки) в зависимости от типа используемого иммуногистохимического красителя.[7]
10. Как и при любом иммунохимическом анализе, отрицательный результат означает, что целевой антиген в исследуемой ткани не обнаружен. Это не равнозначно отсутствию данного антигена в исследуемых клетках и тканях.

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ОГРАНИЧЕНИЯ

Реагент Rabbit Monoclonal Negative Control Ig был оптимизирован для платформ VENTANA BenchMark IHC/ISH в сочетании с диагностическими наборами VENTANA и вспомогательными реагентами. При использовании реагента с указанием в протоколе этапа разложения протеазы наблюдалось некоторое окрашивание коллагена и слабое окрашивание мышечной ткани. Перекрестная реактивность (специфическое окрашивание) также наблюдалась на феохромоцитомах.

ПРОБЛЕМЫ И ИХ УСТРАНЕНИЕ

При обнаружении неправильного окрашивания положительных или отрицательных тканевых контролей необходимо убедиться, что автоматические устройства для окрашивания VENTANA BenchMark IHC/ISH обслуживаются согласно инструкции.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для данного реагента были проведены исследования специфичности, чувствительности и воспроизводимости окрашивания. Результаты приведены в Табл. 1 и Табл. 2 и в разделе «Воспроизводимость».

Специфичность

Табл. 1. Специфичность Rabbit Monoclonal Negative Control Ig определялась с использованием такого же анализа Tour of Body на зафиксированных формалином или залитых парафином нормальных тканях, на автоматических устройствах для окрашивания BenchMark GX, BenchMark XT и BenchMark ULTRA с разными параметрами инструментальных протоколов (n=25).

Ткань	К-ство положительных / общее количество воспроизводимых тканей	Ткань	К-ство положительных / воспроизводимых тканей
Головной мозг	0/75	Тимус	0/75
Мозжечок	0/75	Миелоидная ткань (костный мозг)	0/75
Надпочечник	0/75	Легкое	0/100
Яичник	0/50	Сердце	0/75
Матка	0/25	Пищевод	0/75
Поджелудочная железа	0/75	Желудок	0/75
Паращитовидная железа	0/75	Тонкий кишечник	0/75
Гипофиз	0/75	Толстый кишечник	0/75
Яичко	0/75	Печень	0/75
Щитовидная железа	0/100	Слюнная железа	0/75
Молочная железа	0/75	Почка	0/75
Селезенка	0/75	Простата	0/75
Миндалины	0/75	Шейка матки	0/75
Эндометрий	0/75	Кожа	0/75
Поперечнополосатая мышечная ткань	0/50	Мезотелий сердца	0/50
Нервные клетки	0/75	Феохромоцитома	25/25

Чувствительность и специфичность

Табл. 2. Специфичность Rabbit Monoclonal Negative Control Ig определялась с использованием такого же анализа Tour of Tumor на разных зафиксированных формалином или залитых парафином неопластических тканях, на автоматических устройствах для окрашивания BenchMark GX, BenchMark XT и BenchMark ULTRA с разными параметрами инструментальных протоколов (n=25).

Патология	К-ство положительных / воспроизводимых тканей
Глиобластома	0/25
Атипичная менингиома	0/25
Злокачественная эпендимома	0/25
Злокачественная олигодендроглиома	0/25
Серозная аденокарцинома яичников	0/25
Аденокарцинома яичников	0/25
Островковая карцинома	0/25
Аденокарцинома поджелудочной железы	0/25
Семинома	0/25
Тестикулярная тератокарцинома	0/25
Медуллярная карцинома	0/25
Тироидная папиллярная карцинома	0/25
Интрадуктальная карцинома молочной железы	0/25
Инвазивная дуктальная карцинома молочной железы	0/50
Диффузная B-клеточная лимфома селезенки	0/25
Недифференцированная мелкоклеточная карцинома легкого	0/25
Плоскоклеточная карцинома легкого	0/25
Аденокарцинома легкого	0/25
Плоскоклеточная карцинома пищевода	0/25
Аденокарцинома пищевода	0/25
Муцинозная аденокарцинома желудка	0/25
Аденокарцинома кишечника	0/25
Злокачественная интерстициома кишечника	0/25
Гепатоцеллюлярная карцинома	0/25

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Патология	К-ство положительных / воспроизводимых тканей
Гепатобластома	0/25
Светлоклеточная карцинома почки	0/25
Аденокарцинома простаты	0/50
Лейомиома матки	0/25
Аденокарцинома эндометрия	0/25
Светлоклеточная карцинома эндометрия	0/25
Плоскоклеточная карцинома матки	0/50
Эмбриональная рабдомиосаркома	0/25
Злокачественная меланома ануса	0/25
Базальноклеточная карцинома	0/25
Плоскоклеточная карцинома кожи	0/25
Нейрофиброма мягких тканей	0/25
Ретроперитонеальная нейробластома	0/25
Злокачественная мезотелиома брюшной полости	0/25
Диффузная злокачественная лимфома средостения	0/25
Лимфома Ходжкина	0/25
Диффузная злокачественная лимфома	0/25
Переходноклеточная карцинома мочевого пузыря	0/25
Лейомиосаркома низкой степени дифференциации	0/25
Остеосаркома	0/25
Веретеноклеточная рабдомиосаркома	0/25
Умеренно злокачественная лейомиосаркома	0/25
аденокарцинома толстой кишки	0/25
Интерстициома брюшной полости	0/25
Ректальная аденокарцинома	0/25
Ректальная умеренно злокачественная интерстициома	0/25
Феохромоцитома (биологический маркер)	25/25

Соответствующие отрицательные результаты окрашивания и приемлемый фон наблюдались в случае тестирования антитела при нескольких протоколах кондиционирования клеток, таких как кондиционирование клеток CC1 с заданным временем от 32 до 92 минут и CC2 при 32 минутах. Препарат Rabbit Monoclonal Negative Control Ig также продемонстрировал отрицательные результаты окрашивания и приемлемый фон при задании времени инкубации от 8 до 60 минут.

Воспроизводимость

Исследования параметров воспроизводимости для реагента Rabbit Monoclonal Negative Control Ig проводились с целью определения:

- воспроизводимости между партиями антитела;
- воспроизводимости в пределах одного подхода и между подходами на одном приборе BenchMark XT;
- воспроизводимости в пределах одной платформы с использованием приборов BenchMark XT и BenchMark ULTRA;
- воспроизводимости между платформами на приборах серии BenchMark XT, BenchMark GX и BenchMark ULTRA.

Препарат Rabbit Monoclonal Negative Control Ig показал ≥ 90 % воспроизводимости между партиями реагента, при работе на различных инструментах, с различными препаратами и с различными автоматическими устройствами для окрашивания.

Совместимость диагностического набора и вспомогательных реагентов

Диагностический набор Rabbit Monoclonal Negative Control Ig и вспомогательные реагенты проверялись на совместимость в исследованиях, которые показали, что антитело совместимо с OptiView DAB IHC Detection Kit, *ultra*View Universal DAB Detection Kit и *ultra*View Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit. Антитело также показало приемлемые результаты отрицательного окрашивания и приемлемый фон при использовании с OptiView DAB Amplification Kit или Amplification Kit.

Все проведенные исследования соответствовали критериям приемлемости.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and practice of Histotechnology, 2nd edition. St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1980.
2. Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
3. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2011.
4. CLSI. Quality Assurance for Design Control and Implementation of Immunohistochemistry Assays: Approved Guideline-Second Edition. CLSI document I/LA28-A2 (ISBN 1-56238-745-6). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2011.
5. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem. 1991;66(4):194-199.
6. 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.
7. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. Lab Med. 1983;14:767.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

Логотипы BENCHMARK, OptiView, *ultra*View, VENTANA и VENTANA являются товарными знаками компании Roche.

Все другие товарные знаки являются собственностью их владельцев.

© 2012 Ventana Medical Systems, Inc.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.ventana.com

EC REP

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

Уполномоченный представитель
в Республике Беларусь:
ООО "Алмазмед"
220040, г.Минск ул. Восточная 33
пом.3, к.1.

CE

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

VENTANA®

OptiView Amplification Kit

REF 760-099 06396518001 Σ 50

860-099 06718663001 Σ 250

IVD

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Набор OptiView Amplification Kit может использоваться вместе с набором OptiView DAB IHC Detection Kit (OptiView Detection Kit) для повышения интенсивности окрашивания мышиных и кроличьих первичных антител. Этот набор предназначен для качественной реакции окрашивания фиксированных в формалине и парафинированных тканевых срезов, замороженных срезов или цитологических препаратов на автоматических иммуногистостейнерах VENTANA BenchMark Advanced Staining с первичными антителами VENTANA и вспомогательными реактивами, применяемыми для обнаружения методом световой микроскопии.

Клиническая интерпретация любого окрашивания или отсутствия окрашивания должна дополняться морфологическими исследованиями и оценкой соответствующих контрольных образцов. Оценка должна проводиться квалифицированным патоморфологом с учетом данных истории болезни пациента и результатов других диагностических тестов.

Данный продукт предназначен для диагностического использования *in vitro* (IVD).

ПРАВИЛА ПРИМЕНЕНИЯ

Набор OptiView Amplification Kit может использоваться вместе с набором OptiView Detection Kit, кроличьими и мышиными первичными антителами и приборами VENTANA BenchMark Advanced Staining для стандартного иммуногистохимического окрашивания. В набор OptiView Amplification Kit входит конъюгат HQ гаптен (OptiView Amplifier), соответствующий субстрат (OptiView Amplification H_2O_2) и мышиное моноклональное антитело anti-HQ, содержащее пероксидазу хрена (OptiView Amplification Multimer).

После выбора варианта амплификации в протоколе OptiView Detection Kit и депонирования реактива OptiView HRP Multimer на стекло добавляются реактивы OptiView Amplifier и OptiView Amplification H_2O_2. После инкубации срез промывается, добавляется реактив OptiView Amplification Multimer и выполняется инкубация. После промывки к срезу добавляются реактивы OptiView DAB и OptiView H_2O_2, после чего — реактив OptiView Copper. О связывании специфических антител с антигенами в срезах ткани свидетельствует визуализируемый коричневый осадок.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Реактивы в комплекте поставки

Набор OptiView Amplification Kit (760-099 / 06396518001) содержит количество реактивов, достаточное для проведения 50 исследований.

Один дозатор 5 мл	Реактив OptiView Amplifier содержит тирамид с линкером, содержащим HQ (<40 мкг/мл) в разбавителе, в котором в качестве консерванта используется ProClin 300.
Один дозатор 5 мл	Реактив OptiView Amplification Multimer содержит мышиное моноклональное антитело anti-HQ, содержащее пероксидазу хрена (<10 мкг/мл), в разбавителе, в котором в качестве консерванта используется ProClin 300.
Один дозатор 5 мл	Реактив OptiView Amplification H_2O_2 содержит H_2O_2 0,04%.

Набор OptiView Amplification Kit (860-099 / 06718663001) содержит количество реагента, достаточное для проведения 250 тестов.

Один дозатор 25 мл	Реактив OptiView Amplifier (250) содержит тирамид с линкером, содержащим HQ (<40 мкг/мл) в разбавителе, в котором в качестве консерванта используется ProClin 300.
Один дозатор 25 мл	Реактив OptiView Amplification Multimer (250) содержит мышиное моноклональное антитело anti-HQ, содержащее пероксидазу хрена (<10 мкг/мл), в разбавителе, в котором в качестве консерванта используется ProClin 300.
Один дозатор 25 мл	OptiView Amplification H_2O_2 (250) содержит 0,04% H_2O_2.

Восстановление раствора, смешивание, разведение и титрование

Восстановление, смешивание, разведение и титрование не требуются. Дальнейшее разведение может привести к утрате способности к специфичному окрашиванию. Подобные действия с реактивами могут проводиться только после валидации пользователем.

Требующиеся материалы, не входящие в комплект поставки

Реактивы, например первичные антитела VENTANA, зонды, наборы для визуализации и вспомогательные компоненты, приобретаются дополнительно.

Хранение и обращение

Хранить при температуре от 2 до 8 °C. Не замораживать.

Чтобы обеспечить надлежащую сохранность и стабильность реактивов, после каждого использования дозатор необходимо сразу закрывать крышкой и ставить в холодильник в вертикальном положении.

На наборе указан срок годности. При правильном хранении реактив сохраняет стабильность до даты, указанной на этикетке. Не используйте набор после истечения срока годности.

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Реактивы предназначены для диагностики *in vitro (IVD)*.
2. НЕ используйте набор OptiView Amplification Kit с маркерами, интенсивность окрашивания которых является компонентом интерпретации окрашивания.
3. Обращаться с осторожностью! Избегайте попадания реактивов в глаза, на кожу и слизистые оболочки. Используйте защитную одежду и перчатки.
4. Вещество ProClin 300 используется в качестве консерванта. Оно вызывает раздражение и при контакте с кожей может стать причиной сенсибилизации. Обращаться с осторожностью! Избегайте попадания реактивов в глаза, на кожу и слизистые оболочки. Используйте защитную одежду и перчатки. Список содержащих этот консервант дозаторов см. в разделе «Материалы и методика».
5. Не допускайте микробной контаминации продукта. В противном случае возможно получение неверных результатов.
6. По поводу рекомендованного метода утилизации обращайтесь за консультацией в соответствующие местные или государственные органы.
7. Дополнительную информацию по безопасности продукта см. в Паспорте безопасности и в разделе «Symbol and Risk Phrase Guide» (Символы и предупреждения, связанные с риском) на сайте www.ventana.com.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор OptiView Amplification Kit предназначен для усиления сигнала, генерируемого первичными антителами, окрашенными при помощи набора OptiView Detection Kit на приборах VENTANA BenchMark Advanced Staining. Чтобы использовать набор Amplification Kit, пользователь должен загрузить реактивы в прибор, выбрать опцию Amplification (Амплификация) в процедуре OptiView и установить время инкубации для этапов работы усилителя и амплификации мультимеров. Этапы амплификации представлены в протоколе окрашивания OptiView Detection Kit. Первичные антитела VENTANA не оптимизированы для использования с наборами OptiView Detection Kit и OptiView Amplification Kit. Валидация протоколов окрашивания входит в обязанности пользователя.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор OptiView Amplification Kit используется для усиления генерируемого сигнала вместе с набором OptiView Detection Kit на приборах VENTANA BenchMark Advanced Staining. Набор OptiView Amplification Kit тестировался с различными первичными антителами.

Тестирование включало:

1. Чувствительность и специфичность

   Специфичность тестировалась, чтобы продемонстрировать специфичность детекции мышиных и кроличьих первичных антител, а также отсутствие влияния неспецифичной фоновой окраски на положительные и отрицательные результаты.

   Чувствительность тестировалась, чтобы продемонстрировать способность детекции первичных антител, связанных с незначительным количеством антигенов, при соответствующих схемах окрашивания.

2. Воспроизводимость

   Воспроизводимость результата внутри цикла и между циклами

   Воспроизводимость результата внутри платформы и между платформами

Во всех случаях образцы тканей были проанализированы и признаны пригодными с точки зрения критериев окрашивания и качества для морфологического клеточного окрашивания. Все исследования соответствовали критериям качества.

ВЫЯВЛЕНИЕ И УСТРАНЕНИЕ ПРОБЛЕМ

1. Если препарат имеет фоновую окраску, уменьшите время инкубации для компонентов амплификации или используйте для первичных, вторичных и (или) третичных антител этап разведение среза.
2. Способы устранения проблем см. в руководстве пользователя автоматического иммуногистостейнера или обратитесь к представителю службы поддержки в вашем регионе.
3. Если из дозатора реактива жидкость не поступает в нужном количестве, проверьте заливочную камеру и лунку на предмет наличия частиц, например волокон или осадка. Если подача жидкости дозатором не осуществляется, не используйте дозатор и обратитесь к представителю службы поддержки в вашем регионе. Также можно повторно заправить дозатор. Его следует направить на контейнер для отходов, снять колпачок наконечника и нажать на верхнюю часть дозатора.
4. Подробные сведения о выявлении и устранении проблем см. в листке-вкладыше, прилагаемом к набору OptiView Detection Kit.

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНАЯ СОБСТВЕННОСТЬ

BENCHMARK, OptiView, VENTANA и логотип VENTANA являются товарными знаками компании Roche.

Все другие товарные знаки являются собственностью их законных владельцев.

© 2012 Ventana Medical Systems, Inc.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.ventana.com

EC REP
Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

Уполномоченный представитель
в Республике Беларусь:
ООО "Алмазмед"
220040, г.Минск ул. Восточная 33
пом.3, к.1.

CE

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru