

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

English

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Intended Use:

For *in vitro* Diagnostic Use

The 4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG is intended for use in either manual or automated Immunohistochemistry (IHC) staining protocols using a horseradish peroxidase (HRP) or alkaline phosphatase (AP) streptavidin-conjugate two-step application method. This streptavidin-conjugate detection is designed for the detection of mouse IgG primary antibodies bound to target antigens in the formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissues during the IHC staining process. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies and proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Summary and Explanation:

The 4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG is designed using a two-step method for detecting mouse primary antibodies to form an antibody-enzyme complex. This complex is then visualized using an appropriate substrate/chromogen. In the two-step method the secondary antibody is biotinylated, and an additional enzyme-labeled streptavidin is sequentially applied. The two-step method is designed to amplify the detection in cases of low expressing antigens.

This biotinylated antibody reacts with heavy and light chains on mouse IgG. It is adsorbed against horse, bovine, and human. It reacts with all mouse IgG subclasses and mouse IgM. It has been affinity-purified with minimal cross-reaction to human, bovine, and horse serum proteins. A long spacer arm has been positioned between the biotin and the secondary antibody, to increase sensitivity when coupled with streptavidin conjugates. 4plus Biotinylated goat Anti-Mouse IgG can be used with either streptavidin horseradish peroxidase or streptavidin alkaline phosphatase detection systems.

Principle of Procedure:

This micro-polymer detection kit may be used in immunohistochemistry testing of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. In general, immunohistochemical (IHC) staining techniques allow for the visualization of antigens via the sequential application of a specific antibody to the antigen (primary antibody), a secondary antibody to the primary antibody (optional link antibody/probe), an enzyme complex and a chromogenic substrate with interposed washing steps. The enzymatic activation of the chromogen results in a visible reaction product at the antigen site. The specimen may then be counterstained, and coverslipped. Results are interpreted using a light microscope and aid in the differential diagnosis of pathophysiological processes, which may or may not be associated with a particular antigen.

Materials and Methods:

Reagents Provided:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Reconstitution, Mixing, Dilution, Titration:

The streptavidin-based detection kit reagent(s) are optimized and ready to use with Biocare antibodies and ancillary reagents. No reconstitution, mixing, dilution or titration is required.

Known Applications:

Immunohistochemistry (formalin-fixed paraffin-embedded tissues)

Species Reactivity:

Mouse IgG heavy and light chains

Supplied As:

Buffered saline solution, pH 7.2-7.4, containing a protein carrier, and less than 0.01% ProClin 300 and/or less than 0.5% ProClin 950 as a preservative. See Safety Data Sheet for additional details.

Materials and Reagents Needed But Not Provided:

Microscope slides, positively charged
Positive and negative tissue controls
Desert Chamber* or similar Drying oven (optional)
Xylene or xylene substitute
Ethanol or reagent alcohol
Decloaking Chamber* or similar pressure cooker (optional)
Deionized or distilled water
Wash buffer*
Pretreatment reagents* (optional)
Enzyme digestion* (optional)
Peroxidase block*
Protein block* (optional)
Avidin-Biotin Blocking Kit
Primary antibody*
Streptavidin label*
Negative control reagents*
Chromogens*
Hematoxylin* (counterstain)
Bluing reagent*
Mounting medium*
Coverglass
Light Microscope (40-400X magnification)

* Biocare Medical Products: Refer to the Biocare Medical website located at <http://biocare.net> for information regarding catalog numbers and ordering. Certain reagents listed above are based on specific application and detection system used.

Storage and Stability:

Store at 2°C to 8°C. The product is stable to the expiration date printed on the vial label when stored under these conditions. Do not use after expiration date. Storage under any condition other than those specified must be verified. The kit reagent(s) are ready-to-use and should not be diluted. The stability of user diluted reagent has not been established by Biocare.

Positive and negative controls should be run simultaneously with all patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Biocare's Technical Support at 1-800-542-2002 or via the technical support information provided on biocare.net.

Specimen Preparation:

Tissues fixed in formalin are suitable for use prior to paraffin embedding. Osseous tissues should be decalcified prior to tissue processing to facilitate tissue cutting and prevent damage to microtome blades.^{1,2}

Properly fixed and embedded tissues expressing the specified antigen target should be stored in a cool place. The Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) of 1988 requires in 42 CFR §493.1259(b) that "The laboratory must retain stained slides at least ten years from the date of examination and retain specimen blocks at least two years from the date of examination."³

Treatment of Tissues Prior to Staining:

Perform Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) per recommended protocol below. The routine use of HIER prior to IHC has been shown to minimize inconsistency and standardize staining.^{4,5}

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

English

BIOCARE
MEDICAL

Warning and Precautions:

1. Kit reagents contain less than <0.05% ProClin 300 and/or less than 1% 950> Wear gloves and protective clothing and take reasonable precautions when handling as ProClin is classified as an irritant and may cause skin contact sensitization. Avoid contact with eyes, skin, and mucous membranes.
2. Handle materials of human or animal origin as potentially biohazardous and dispose such materials with proper precautions. In the event of exposure, follow the health directives of the responsible authorities where used.^{6,7}
3. Specimens, before and after fixation, and all materials exposed to them should be handled as if capable of transmitting infection and disposed of with proper precautions. Never pipette reagents by mouth and avoid contacting the skin and mucous membranes with reagents and specimens. If reagents or specimens come into contact with sensitive areas, wash with copious amounts of water.⁸
4. Microbial contamination of reagents may result in an increase in nonspecific staining.
5. Incubation times or temperatures other than those specified may give erroneous results. The user must validate any such change.
6. Do not use reagent after the expiration date printed on the vial.
7. The micro-polymer detection kit reagent(s) are optimized and ready to use with Biocare antibodies and ancillary reagents. Refer to the primary antibody and other ancillary reagent instructions for use for recommended protocols and conditions for use.
8. Follow local and/or state authority requirements for method of disposal.
9. The SDS is available upon request and is located at <http://biocare.net>.
10. Report any serious incidents related to this device by contacting the local Biocare representative and the applicable competent authority of the Member State or country where the user is located.

Instructions for Use:

The micro-polymer detection kit reagent(s) are optimized and ready to use with Biocare antibodies and ancillary reagents. Refer to the primary antibody and other ancillary reagent instructions for use for recommended protocols and conditions for use. Incubation times and temperatures will vary depending on the specific antibody protocol followed.

When using an automated staining instrument, consult the specific instrument operator manual and instructions for use for operating parameters.

General procedural steps for performing IHC:

1. Deparaffinization: Deparaffinize slides in Slide Brite or xylene. Hydrate slides in a series of graded alcohols to water.
2. Peroxide Block: Block for 5 minutes with Peroxidized 1.
3. Pretreatment Solution/Protocol: Please refer to the respective primary antibody data sheet for recommended pretreatment solution and protocol.
5. Avidin Block: Incubate for 10-20 minutes at RT with Biocare's Avidin.
6. Biotin Block: Incubate for 10-20 minutes at RT with Biocare's Biotin.
7. Protein Block (Optional): Incubate for 10-15 minutes at room temperature (RT) with Background Sniper.
8. Primary Antibody: Please refer to the respective primary antibody data sheet for incubation time.
9. Link: Incubate for 10 minutes at RT with 4plus Biotinylated Link.
10. Label: Incubate for 10-20 minutes for at RT with 4plus Streptavidin HRP or Streptavidin AP Label.
11. Chromogen: Incubate for 10-20 minutes at RT with Biocare's DAB or incubate for 5-7 minutes at RT with Warp Red.
12. Counterstain: Counterstain with hematoxylin. Rinse with deionized water. Apply Tacha's Bluing Solution for 1 minute. Rinse with deionized water.

Technical Notes:

1. Use TBS for washing steps.

Quality Control:

Refer to CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁹

Positive Tissue Control:

External positive control materials should be fresh specimens fixed, processed, and embedded as soon as possible in the same manner as the patient sample(s). Positive tissue controls are indicative of correctly prepared tissues and proper staining techniques. One positive external tissue control for each set of test conditions should be included in each staining run.

The tissues used for the external positive control materials should be selected from patient specimens with well-characterized low levels of the positive target activity that gives weak positive staining. The low level of positivity for external positive controls is designed so to ensure detection of subtle changes in the primary antibody sensitivity from instability or problems with the IHC methodology. Commercially available tissue control slides or specimens processed differently from the patient sample(s) validate reagent performance only and do not verify tissue preparation.

Known positive tissue controls should only be utilized for monitoring the correct performance of processed tissues and test reagents, rather than as an aid in formulating a specific diagnosis of patient samples. If the positive tissue controls fail to demonstrate positive staining, results with the test specimens should be considered invalid.

Negative Tissue Control:

Use a negative tissue control fixed, processed, and embedded in a manner identical to the patient sample(s) with each staining run to verify the specificity of the IHC primary antibody for demonstration of the target antigen, and to provide an indication of specific background staining (false positive staining). Also, the variety of different cell types present in most tissue sections can be used by the laboratorian as internal negative control sites to verify the IHC's performance specifications. The types and sources of specimens that may be used for negative tissue controls are listed in the Performance Characteristics section.

If specific staining (false positive staining) occurs in the negative tissue control, results with the patient specimens should be considered invalid.

Nonspecific Negative Reagent Control:

Use a nonspecific negative reagent control in place of the primary antibody with a section of each patient specimen to evaluate nonspecific staining and allow better interpretation of specific staining at the antigen site. Ideally, a negative reagent control contains an antibody produced and prepared (i.e. diluted to same concentration using same diluent) for use in the same way as the primary antibody but exhibits no specific reactivity with human tissues in the same matrix/solution as the Biocare antibody. Diluent alone may be used as a less desirable alternative to the previously described negative reagent controls. The incubation period for the negative reagent control should correspond to that of the primary antibody.

When panels of several antibodies are used on serial sections, the negatively staining areas of one slide may serve as a negative/nonspecific binding background control for other antibodies. To differentiate endogenous enzyme activity or nonspecific binding of enzymes from specific immunoreactivity, additional patient tissues may be stained exclusively with substrate-chromogen or enzyme complexes (PAP, avidin-biotin, streptavidin) and substrate-chromogen, respectively.

Assay Verification:

Prior to initial use of an antibody or staining system in a diagnostic procedure, the user should verify the antibody's specificity by testing it on a series of in-house tissues with known immunohistochemical performance characteristics representing known positive and negative tissues. Refer to the quality control procedures previously outlined in this section of the product insert and to the quality control recommendations of the CAP Certification Program¹⁰ for

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

English

BIOCARE
MEDICAL

Immunohistochemistry and/or the NCCLS IHC guideline¹¹. These quality control procedures should be repeated for each new antibody lot, or whenever there is a change in assay parameters. Tissues listed in the Performance Characteristics section are suitable for assay verification.

Troubleshooting:

Follow the antibody specific protocol recommendations according to data sheet provided. If atypical results occur, contact Biocare's Technical Support at 1-800-542-2002.

Interpretation of Staining:

The 4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG produces a brown (HRP) or red (AP) color reaction at the antigen sites localized by the primary antibody. Prior to interpretation of patient results, the staining of controls must be evaluated by a qualified pathologist. Negative controls are evaluated and compared to stained slides to ensure any staining observed is not a result of nonspecific interactions.

Positive Tissue Control:

The positive tissue control stained with indicated antibody should be examined first to ascertain that all reagents are functioning properly. The appropriate staining of target cells (as indicated above) is indicative of positive reactivity. If the positive tissue controls fail to demonstrate positive staining, any results with the test specimens should be considered invalid.

The color of the reaction product may vary depending on substrate chromogens used. Refer to substrate package inserts for expected color reactions. Further, metachromasia may be observed in variations of the method of staining.¹²

When a counterstain is used, depending on the incubation length and potency of the counterstain used, counterstaining will result in a coloration of the cell nuclei. Excessive or incomplete counterstaining may compromise proper interpretation of results. Refer to protocol(s) for recommended counterstain.

Negative Tissue Control:

The negative tissue control should be examined after the positive tissue control to verify the specificity of the labeling of the target antigen by the primary antibody. The absence of specific staining in the negative tissue control confirms the lack of antibody cross reactivity to cells/cellular components. If specific staining (false positive staining) occurs in the negative external tissue control, results with the patient specimen should be considered invalid.

Nonspecific staining, if present, usually has a diffuse appearance. Sporadic staining of connective tissue may also be observed in sections from excessively formalin-fixed tissues. Use intact cells for interpretation of staining results. Necrotic or degenerated cells often stain nonspecifically.

Patient Tissue:

Examine patient specimens stained with indicated antibody last. Positive staining intensity should be assessed within the context of any nonspecific background staining of the negative reagent control. As with any immunohistochemical test, a negative result means that the antigen was not detected, not that the antigen was absent in the cells/tissue assayed. If necessary, use a panel of antibodies to identify false-negative reactions.

Refer to Summary and Explanation, Limitations, and Performance Characteristics for specific information regarding indicated antibody immunoreactivity.

Limitations:

General Limitations:

1. For *in vitro* diagnostic (IVD) Use
2. This product is for professional use only: Immunohistochemistry is a multistep diagnostic process that consists of specialized training in the

selection of the appropriate reagents; tissue selection, fixation, and processing; preparation of the IHC slide; and interpretation of the staining results.

3. For use by physician prescription only. (Rx Only)
4. Tissue staining is dependent on the handling and processing of the tissue prior to staining. Improper fixation, freezing, thawing, washing, drying, heating, sectioning or contamination with other tissues or fluids may produce artifacts, antibody trapping, or false negative results. Inconsistent results may be due to variations in fixation and embedding methods, or to inherent irregularities within the tissue.¹³
5. Excessive or incomplete counterstaining may compromise proper interpretation of results.
6. The clinical interpretation of any positive or negative staining should be evaluated within the context of clinical presentation, morphology, and other histopathological criteria. The clinical interpretation of any positive or negative staining should be complemented by morphological studies using proper positive and negative internal and external controls as well as other diagnostic tests. It is the responsibility of a qualified pathologist who is familiar with the proper use of IHC antibodies, reagents, and methods to interpret all the steps used to prepare and interpret the final IHC preparation.
7. The optimum protocols for a specific application can vary. These include, but are not limited to fixation, heat-retrieval method, incubation times, antibody dilution, tissue section thickness and detection kit used. Refer to the primary antibody and other ancillary reagent instructions for use for recommended protocols and conditions for use. The data sheet recommendations and protocols are based on exclusive use of Biocare products. Ultimately, it is the responsibility of the investigator to determine optimal conditions.
8. This product is not intended for use in flow cytometry. Performance characteristics have not been determined for flow cytometry.
9. Tissues from persons infected with hepatitis B virus and containing hepatitis B surface antigen (HBsAg) may exhibit nonspecific staining with horseradish peroxidase.¹⁴
10. Reagents may demonstrate unexpected reactions in previously untested tissues. The possibility of unexpected reactions even in tested tissue groups cannot be completely eliminated due to biological variability of antigen expression in neoplasms, or other pathological tissues.¹⁵ Contact Biocare's Technical Support at 1-800-542-2002, or via the technical support information provided on biocare.net, with documented unexpected reaction(s).
11. Normal/nonimmune sera from the same animal source as secondary antisera used in blocking steps may cause false-negative or false-positive results due to autoantibodies or natural antibodies.
12. False-positive results may be seen due to non-immunological binding of proteins or substrate reaction products. They may also be caused by pseudo peroxidase activity (erythrocytes), endogenous peroxidase activity (cytochrome C), or endogenous biotin (e.g., liver, breast, brain, kidney) depending on the type of immunostain used.¹³
13. A negative result means that the antigen was not detected, not that the antigen was absent in the cells or tissue examined.

Product Specific Limitations:

No additional product specific limitations.

Performance Characteristics:

Staining was performed using protocols provided in the antibody specific instructions for use or as specified. Sensitivity and specificity of staining was evaluated across a range of normal and neoplastic tissue types evaluated during development of primary antibodies.

Reproducibility:

The reproducibility of Biocare's detection systems and system reagents is verified through a measurement of intermediate precision in which various reagent lots were tested over an extended period of time using various operators, analysts, reagent lots, tissue samples, and equipment. The

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

English

BIOCARE
MEDICAL

staining obtained for each detection reagent evaluated was consistent and performed as expected.

Troubleshooting:

1. No staining of any slides – Check to determine appropriate positive control tissue, antibody, and detection products have been used. Check for incomplete or improper wax removal or pretreatment.
2. Weak staining of all slides – Check to determine appropriate positive control tissue, antibody, and detection products have been used.
3. Excessive background of all slides – There may be high levels of endogenous biotin (if using biotin-based detection products), endogenous HRP activity converting chromogen to colored end product (use peroxidase block), or excess non-specific protein interaction (use a protein block, such as serum- or casein-based blocking solution).
4. Tissue sections wash off slides during incubation – Check slides to ensure they are positively charged.
5. Specific staining too dark – Check protocol to determine if proper antibody titer was applied to slide, as well as proper incubation times for all reagents. Additionally, ensure the protocol has enough washing steps to remove excess reagents after incubation steps are completed.

References:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Bulgarian

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Предназначение:

Зайнвирто Диагностична употреба

4plus биотинилиран кози анти-миши IgG е предназначен за използване в протоколи за ръчно или автоматизирано имунохистохимично (IHC) оцветяване, като се използва двуетапен метод на прилагане на пероксидаза от хрян (HRP) или алкална фосфатаза (AP) стрептавидин-конюгат. Това откриване на стрептавидин-конюгат е предназначено за откриване на миши IgG първични антитела, свързани с целевите антигени във фиксирани във формалин, вградени в парафин (FFPE) тъкани по време на процеса на IHC оцветяване. Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или липсата му трябва да бъде допълнена от морфологични изследвания и подходящи контроли и трябва да бъде оценена в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични тестове от квалифициран патолог.

Резюме и обяснение:

The4plus биотинилиран кози анти-миши IgGe проектиран с помощта на двуетапен метод за откриване на миши първични антитела за образуване на комплекс антитяло-ензим. След това този комплекс се визуализира с помощта на подходящ субстрат/хромоген. При двуетапния метод вторичното антитяло се биотинилира и последователно се прилага допълнителен ензимно белязан стрептавидин. Двустепният метод е предназначен да усли откриването в случаи на ниско експресиращи антигени. Това биотинилирано антитяло реагира с тежки и леки вериги на миши IgG. Адсорбира се срещу кон, говеда и човек. Той реагира с всички подкласове на миши IgG и миши IgM. Той е афинитетно пречистен с минимална кръстосана реакция към човешки, говежди и конски серумни протеини. Между биотина и вторичното антитяло е поставено дълго дистанционно рамо, за да се повиши чувствителността при свързване със стрептавидинови конюгати. 4plus Биотинилиран кози анти-миши IgG може да се използва със системи за откриване на стрептавидин пероксидаза от хрян или стрептавидин алкална фосфатаза.

Принцип на процедурата:

Този комплект за откриване на микрополимер може да се използва при имунохистохимични тестове на фиксирани във формалин, вградени в парафин тъканни срезове. Като цяло имунохистохимичните (IHC) техниките на оцветяване позволяват визуализация на антигени чрез последователно прилагане на а специфично антитяло към антигена (първично антитяло), вторично антитяло към първичното антитяло (по избор свързващо антитяло/сона), ензимен комплекс и хромогенен субстрат с въмъкнати стъклки на промиване. Ензимното активиране на хромогена води до видим реакционен продукт на мястото на антигена. След това образецът може да бъде нарещено оцветен и покрит с покривно стъкло. Резултатите се интерпретират с помощта на светлина микроскоп и помош при диференциалната диагноза на патофизиологични процеси, които могат или може да не са свързани с определен антиген.

Материали и методи:

Осигурени реагенти:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Разтваряне, смесване, разреждане, титруване:

Базирианият на стрептавидин комплект за откриване реагент(и) е оптимизиран и готов за използване с антитела на Biocare и спомагателни реагенти. Не е необходимо разтваряне, смесване, разреждане или титруване.

Известни приложения:

Имунохистохимия (фиксирани във формалин тъкани, вградени в парафин)

Реактивност на видовете:

Миши IgG тежки и леки вериги

Доставя се като:

Буфериран физиологичен разтвор, pH 7,2-7,4, съдържащ протеинов носител и по-малко от 0,01% ProClin 300 и/или по-малко от 0,5% ProClin 950 като консервант. Вижте Информационния лист за безопасност за допълнителни подробности.

Необходими, но неосигуриeni материали и реагенти:

Предметни стъкла за микроскоп, положително заредени

Положителни и отрицателни тъканни контроли

Пустинна камера* или подобна сушилня (по избор)

Ксилен или заместител на ксилен

Етанол или реактив алкохол

Камера за разкриване* или подобна тенджера под налягане (по избор)

Дейонизирана или дестилирана вода

Измиващ буфер*

Реагенти за предварителна обработка* (по избор)

Ензимно смилане* (по избор)

Пероксидазен блок*

Протеинов блок* (по избор)

Комплект за блокиране на avidin-biotin

Първично антитяло*

Стрептавидин етикет*

Реактиви за отрицателна контрола*

Хромогени*

Хематоксилин* (контраоцветяване)

Посиняване реагент*

Монтажна среда*

Покривно стъкло

Светлинен микроскоп (40-400 пъти увеличение)

* Медицински продукти на Biocare: Вижте уебсайта на Biocare Medical, намиращ се на адрес <http://biocare.net> за информация относно каталогните номера и поръчка. Определени реагенти, изброени по-горе, се основават на конкретно приложение и използвана система за откриване.

Съхранение и стабилност:

Съхранявайте при 2°C до 8°C. Продуктът е стабилен до срока на годност, отпечатан върху етикета на флакона, когато се съхранява при тези условия. Да не се използва след изтичане на срока на годност. Съхранението при условия, различни от посочените, трябва да бъде проверено. Реагентите от комплекта са готови за употреба и не трябва да се разреждат. Стабилността на разредения от потребителя реагент не е установена от Biocare.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

5/116



TP v3 (12/15/2021) | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Bulgarian

BIOCARE
MEDICAL

Положителните и отрицателните контроли трябва да се провеждат едновременно с всички преби от пациенти. Ако се наблюдава неочаквано оцветяване, което не може да се обясни с вариации в лабораторните процедури и се подозира проблем с антитиято, свържете се с техническата поддръжка на Biocare на 1-800-542-2002 или чрез информацията за техническа поддръжка, предоставена на biocare.net.

Подготовка на пробата:

Тъканчетата, фиксирали във формалин, са подходящи за използване преди вградждане в парафин. Костните тъкани трябва да бъдат декалцифицирани преди обработката на тъканите, за да се улесни разрязването на тъканите и да се предотврати повреда на остиетата на микротома.^{1,2}

Правилно фиксирали и вградени тъкани, експресиращи определената антигенна цел, трябва да се съхраняват на хладно място. Законът за подобряване на клиничната лаборатория (CLIA) от 1988 г. изисква в 42 CFR§493.1259(b), че „Лабораторията трябва да съхранява оцветени слайдове най-малко десет години от датата на изследване и съхранявайте блоковете с преби най-малко две години от датата на изследването.”³

Третиране на тъкани преди оцветяване:

Извършете индуцирано от топлина извлечение на епител (HIER) съгласно препоръчания протокол по-долу. Доказано е, че рутинното използване на HIER преди IHC минимизира несъответствието и стандартизира оцветяването.^{4,5}

Предупреждение и предпазни мерки:

- Комплектът реагенти съдържа по-малко от <0,05% ProClin 300 и/или по-малко от 1% 950> Носете ръкавици и защитно облекло и вземете разумни предпазни мерки при работа, тъй като ProClin се класифицира като дразнител и може да причини сенсибилизация при контакт с кожата. Избягвайте контакт с очите, кожата и лигавиците.
- Работете с материали от човешки или животински произход като потенциално биологично опасни и изхвърляйте такива материали с подходящи предпазни мерки. В случай на излагане, следвайте здравните директиви на отговорните органи, където се използва.^{6,7}
- Пробите, преди и след фиксиране, и всички материали, изложени на тях, трябва да се третират като способни да предадат инфекция и да се изхвърлят с подходящи предпазни мерки. Никога не пипетирайте реагенти с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реагентите и пребите. Ако реактиви или преби влязат в контакт с чувствителни зони, измийте ги с обилно количество вода.⁸
- Микробното замърсяване на реагентите може да доведе до увеличаване на неспецифичното оцветяване.
- Инкубационни времена или температури, различни от посочените, могат да дадат грешни резултати. Потребителят трябва да потърди всяка такава промяна.
- Не използвайте реагент след срока на годност, отпечатан върху флакона.
- Реагентът(ите) на комплекта за откриване на микрополимери са оптимизирани и готови за използване с антитела на Biocare и спомагателни реагенти. Обърнете се към инструкциите за първично антитяло и други спомагателни реагенти за употреба за препоръчвателните протоколи и условия за употреба.
- Следвайте изискванията на местните и/или държавните органи за метода на изхвърляне.
- ИЛБ е на разположение при поискване и се намира на адрес <http://biocare.net>.
- Докладвайте за всички сериозни инциденти, свързани с това устройство, като се свържете с местния представител на Biocare и съответния компетентен орган на държавата членка или държавата, където се намира потребителят.

Инструкции за употреба:

Реагентът(ите) на комплекта за откриване на микрополимер са оптимизирани и готови за използване с антитела на Biocare и спомагателни реагенти. Обърнете се към инструкциите за първично антитяло и други спомагателни реагенти за употреба за препоръчвателните протоколи и условия за употреба. Времената и температурите на инкубация ще варират в зависимост от следвания специфичен протокол за антитела.

Когато използвате автоматизиран инструмент за оцветяване, консултирайте се с конкретното ръководство за оператора на инструмента и инструкциите за употреба за работните параметри.

Общи процедурни стъпки за извършване на IHC:

- Депарафинизиране: Депарафинизирайте предметните стъклца в Slide Brite или ксилен. Хидратът се пълзга в серия градирани алкоходи до вода.
- Блокиране на пероксид: Блокирайте за 5 минути с Peroxidized 1.
- Разтвор/протокол за предварително третиране: Моля, вижте съответния лист с данни за първично антитяло за препоръчен разтвор и протокол за предварително третиране.
- Avidin Block: Инкубирайте за 10-20 минути при RT с Avidin на Biocare.
- Биотинов блок: Инкубирайте за 10-20 минути при стайна температура с биотина на Biocare.
- Протеинов блок (по избор): Инкубирайте за 10-15 минути при стайна температура (RT) с Background Sniper.
- Първично антитяло: Моля, вижте съответния лист с данни за първично антитяло за времето на инкубация.
- Link: Инкубирайте за 10 минути при RT с 4plus Biotinylated Link.
- Етикет: Инкубирайте за 10-20 минути при стайна температура с 4plus Streptavidin HRP или Streptavidin AP Label.
- Хромоген: Инкубирайте за 10-20 минути при стайна температура с DAB на Biocare или инкубирайте за 5-7 минути при стайна температура с Warp Red.
- Контраоцветяване: Контраоцветяване с хематоксилин. Изплакнете с дейонизирана вода. Нанесете Tacha's Bluing Solution за 1 минута. Изплакнете с дейонизирана вода.

Технически бележки:

- Използвайте TBS за стъпките на измиване.

Контрол на качеството:

Обърнете се към стандартите за качество на CLSI за проектиране и прилагане на имунохистохимични анализи; Одобрено ръководство – второ издание (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA САЩ (www.clsi.org). 2011 г.

Положителен тъканен контрол:

Материалите за външна положителна контрола трябва да бъдат пресни преби, фиксирали, обработени и вградени възможно най-скоро по същия начин като пробата(ите) на пациента. Положителните тъкани контроли са показателни за правилно подгответни тъкани и подходящи техники за оцветяване. Във всеки цикъл на оцветяване трябва да се включи една положителна външна тъканна контрола за всеки набор от условия на теста.

Тъканите, използвани за материалите за външна положителна контрола, трябва да бъдат избрани от преби от пациенти с добре охарактеризирани ниски нива на положителна целева активност, която дава слабо положително оцветяване. Ниското ниво на положителност за външни положителни контроли е проектирано така, че да осигури откриване на фини промени в чувствителността на първичното антитяло от нестабилност или проблеми с IHC методологията. Предлаганите в

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

6/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Bulgarian

BIOCARE
MEDICAL

търговската мрежа предметни стъкла за контрол на тъкани или преби, обработени по различен начин от пробата(ите) на пациента, валидират само ефективността на реагента и не проверяват подготовката на тъканите.

Известни положителни тъканни контроли трябва да се използват само за наблюдение на правилната работа на обработените тъкани и тестови реагенти, а не като помош при формулиране на конкретна диагноза на преби от пациенти. Ако положителните тъканни контроли не успеят да покажат положително оцветяване, резултатите с тестовите преби трябва да се считат за невалидни.

Отрицателен тъканен контрол:

Използвайте отрицателна тъканна контрола, фиксирана, обработена и вградена по начин, идентичен с пробата(ите) на пациента при всяко оцветяване, за да проверите специфичността на IHC първичното антитяло за демонстрация на целевия антиген и за предоставяне на индикация за специфично фоново оцветяване (фалшиво положително оцветяване). Освен това разнообразието от различни видове клетки, присъстващи в повечето тъканни срезове, може да бъдат използвани от лабораторията като вътрешни отрицателни контролни места за проверка на работата на IHC спецификации. Типовете и източниците на преби, които могат да се използват за отрицателна тъкан контролите са изброени в раздела Характеристики на ефективността.

Ако се появи специфично оцветяване (фалшиво положително оцветяване) в отрицателната тъканна контрола, резултатите от пребите на пациента трябва да се считат за невалидни.

Неспецифичен отрицателен контролен реагент:

Използвайте неспецифична отрицателна контрола на реагента на мястото на първичното антитяло със секция от всяка преба от пациент, за да оцените неспецифичното оцветяване и позволяват по-добра интерпретация на специфичното оцветяване на антигенното място. В идеалния случай отрицателната реагентна контрола съдържа произведено и пригответо антитяло (т.е. разредено до същата концентрация с помощта на същия разредител) за употреба по същия начин като първичното антитяло, но не проявява специфична реактивност с човешки тъкани в същата матрица/разтвор като антитялото на Biocare. Само разредител може да се използва като по-малко желана алтернатива на описаните по-горе отрицателни реактивни контроли. Инкубационният период за отрицателната реактивна контрола трябва да съответства на този на първичното антитяло.

Когато се използват панели от няколко антитела върху серийни срезове, зоните с отрицателно оцветяване на един слайд могат да служат като отрицателна/неспецифична свързваща фонова контрола за други антитела. За разграничаване на ендогенна ензимна активност или неспецифично свързване на ензими от специфична имуноактивност, допълнителни тъкани на пациента могат да бъдат оцветени изключително със субстрат-хромоген или ензимни комплекси (PAP, avidin-биотин, стрептавидин) и съответно субстрат-хромоген.

Проверка на анализа:

Преди първоначалното използване на антитяло или система за оцветяване в диагностична процедура, потребителят трябва да провери специфичността на антитялото, като го тества върху поредица от вътрешни тъкани с известни положителни и отрицателни тъкани. Обърнете се към процедурите за контрол на качеството, посочени по-рано в този раздел на листовката на продукта, и към препоръките за контрол на качеството на програмата за сертифициране на CAP¹⁰ за имуноистохимия и/или насоките за IHC на NCCLS¹¹. Тези процедури за

контрол на качеството трябва да се повтарят за всяка нова партида антитяло или винаги, когато има промяна в параметрите на анализа. Тъканите, изброени в раздела Характеристики на ефективността, са подходящи за проверка на анализа.

Отстраняване на неизправности:

Следвайте препоръките за специфичен протокол за антитела съгласно предоставения лист с данни. Ако възникнат нетипични резултати, свържете се с техническата поддръжка на Biocare на 1-800-542-2002.

Тълкуване на оцветяването:

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG произвежда кафява (HRP) или червена (AP) цветна реакция в антигенните места, локализирани от първичното антитяло. Преди тълкуване на резултатите от пациента, оцветяването на контролите трябва да бъде оценено от квалифициран патолог. Отрицателните контроли се оценяват и сравняват с оцветени слайдове, за да се гарантира, че всяко наблюдавано оцветяване не е резултат от неспецифични взаимодействия.

Положителен тъканен контрол:

Положителната тъканна контрола, оцветена с посоченото антитяло, трябва първо да се изследва, за да се установи, че всички реагенти функционират правилно. Подходящото оцветяване на прицелните клетки (като е посочено по-горе) е показателно за положителна реактивност. Ако положителните тъканни контроли не успеят да покажат положително оцветяване, всички резултати с тестовите преби трябва да се считат за невалидни.

Цветът на реакционния продукт може да варира в зависимост от използваните субстратни хромогени. Вижте листовките на опаковката на субстрата за очакваните цветни реакции. Освен това метахромазията може да се наблюдава при вариации на метода на оцветяване.¹² Когато се използва противооцветяване, в зависимост от продължителността на инкубацията и ефикасността на използваното противооцветяване, противооцветяването ще доведе до оцветяване на клетъчните ядра. Прекомерното или непълно контрастно оцветяване може да компрометира правилното тълкуване на резултатите. Обърнете се към протокола(ите) за препоръчаното контрооцветяване.

Отрицателен тъканен контрол:

Отрицателната тъканна контрола трябва да се изследва след положителната тъканна контрола, за да се провери специфичността на маркирането на целевия антиген от първичното антитяло. Липсата на специфично оцветяване в отрицателната тъканна контрола потвърждава липсата на кръстосана реактивност на антитела към клетки/клетъчни компоненти. Ако се появи специфично оцветяване (фалшиво положително оцветяване) в отрицателната външна тъканна контрола, резултатите от пребата от пациента трябва да се считат за невалидни.

Неспецифично оцветяване, ако е налице, обикновено има дифузен вид. Спорадично оцветяване на съединителната тъкан може да се наблюдава и в срезове от прекомерно фиксирани с формалин тъкани. Използвайте непокътнати клетки за тълкуване на резултатите от оцветяването. Некротичните или дегенерирали клетки често се оцветяват неспецифично.

Тъкан на пациента:

Изследвайте преби от пациенти, оцветени с посоченото антитяло последно. Положителният интензитет на оцветяване трябва да се оценява в контекста на всяко неспецифично фоново оцветяване на отрицателната контрола с реагент. Както при всеки имуноистохимичен тест, отрицателният резултат означава, че антигентът не е открит, а не

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Bulgarian

BIOCARE
MEDICAL

че антигент липсва в изследваните клетки/тъкан. Ако е необходимо, използвайте панел от антитела за идентифициране на фалшиво-отрицателни реакции.

Обърнете се към Резюме и обяснение, ограничения и характеристики на ефективността за конкретна информация относно посочената имунореактивност на антитела.

Ограничения:

Общи ограничения:

- За **инвивто диагностична (IVD) употреба**
- Този продукт е само за професионална употреба: Имунохистохимията е многоетапен диагностичен процес, който се състои от специализирано обучение за избор на подходящи реагенти; подбор, фиксиране и обработка на тъкани; подготовка на ИHC слайд; и интерпретация на резултатите от оцветяването.
- За употреба само по лекарско предписание. (Само Rx)
- Оцветяването на тъкана зависи от обработката и обработката на тъкана преди оцветяването. Неправилното фиксиране, замразяване, размразяване, измиване, сушене, нагряване, нарязване или замърсяване с други тъкани или течности може да доведе до артефакти, улавяне на антитела или фалшиво отрицателни резултати. Непоследователните резултати може да се дължат на вариации в методите за фиксиране и вграждане или на присъщи нередности в тъканта.¹³
- Прекомерното или непълно контрастно оцветяване може да компрометира правилното тълкуване на резултатите.
- Клиничната интерпретация на всяко положително или отрицателно оцветяване трябва да се оценява в контекста на клиничното представяне, морфологията и други хистопатологични критерии. Клиничната интерпретация на всяко положително или отрицателно оцветяване трябва да бъде допълнена от морфологични изследвания, като се използват подходящи положителни и отрицателни вътрешни и външни контроли, както и други диагностични тестове. Отговорност на квалифициран патолог, който е запознат с правилното използване на ИHC антитела, реагенти и методи, е да интерпретира всички стъпки, използвани за подготовка и тълкуване на крайния ИHC препарат.
- Оптималните протоколи за конкретно приложение могат да варират. Те включват, но не се ограничават до фиксация, метод за извлечение на топлина, времена на инкубация, разреждане на антитяло, дебелина на тъкания участък и използван комплект за откриване. Обърнете се към инструкциите за първично антитело и други спомагателни реагенти за употреба за препоръчителните протоколи и условия за употреба. Препоръките и протоколите в информационния лист се основават на изключителното използване на продуктите Biocare. В крайна сметка отговорност на изследователя е да определи оптималните условия.
- Този продукт не е предназначен за използване в поточна цитометрия. Характеристиките на ефективността не са определени за поточна цитометрия.
- Тъкани от хора, заразени с вируса на хепатит B и съдържащи повърхностен антиген на хепатит B (HBsAg), могат да проявят неспецифично оцветяване с пероксидаза от хрян.¹⁴
- Реагентите могат да покажат неочеквани реакции в нетествани преди това тъкани. Възможността за неочеквани реакции дори в тествани тъканни групи не може да бъде напълно елиминирана поради биологичната вариабилност на експресията на антиген в неоплазми или други патологични тъкани.¹⁵ Свържете се с техническата поддръшка на Biocare на 1-800-542-2002 или чрез информацията за техническа поддръшка, предоставена на biocare.net, с документирани неочеквани реакции.
- Нормалните/неймунни серуми от същия животински източник като вторичните антисеруми, използвани в етапите на блокиране, могат

да причинят фалшиво отрицателни или фалшиво положителни резултати поради автоантитела или естествени антитела.

- Могат да се наблюдават фалшиви положителни резултати поради неимунологично свързване на протеини или продукти на субстратна реакция. Те могат също да бъдат причинени от псевдопероксидазна активност (еритроцити), ендогенна пероксидазна активност (цитохром C) или ендогенен биотин (напр. черен дроб, гърди, мозък, бъбрец) в зависимост от вида на използваното имунооцветяване.¹³
- Отрицателен резултат означава, че антигент не е бил открит, а не че антигент е отсъствал в изследваните клетки или тъкан.

Специфични за продукта ограничения:

Няма допълнителни специфични за продукта ограничения.

Характеристики на изпълнение:

Оцветяването се извършва, като се използват протоколи, предоставени в специфичните инструкции за употреба на антителото или както е посочено. Чувствителността и специфичността на оцветяването бяха оценени в редица нормални и неопластични тъканни типове, оценени по време на развитието на първични антитела.

Възпроизводимост:

Възпроизводимостта на системите за откриване и системните реагенти на Biocare се проверява чрез измерване на междинна прецизност, при което различни партиди реагенти са тествани за продължителен период от време с помощта на различни оператори, анализатори, партиди реагенти, тъканни пробы и оборудване. Оцветяването, получено за всеки оценен реагент за откриване, беше последователно и извършено според очакванията.

Отстраняване на неизправности:

- Няма оцветяване на предметни стъкла – Проверете, за да определите, че са използвани подходящи тъкани за положителна контрола, антитела и продукти за откриване. Проверете за непълно или неправилно отстраняване или предварителна обработка.
- Слабо оцветяване на всички предметни стъкла – Проверете, за да определите, че са използвани подходящи тъкани за положителна контрола, антитела и продукти за откриване.
- Прекален фон на всички предметни стъкла – Възможно е да има високи нива на ендогенен биотин (ако се използват продукти за откриване на базата на биотин), ендогенна HRP активност, превръщаща хромогена в оцветен краен продукт (използвайте пероксидазен блок) или прекомерно неспецифично протеиново взаимодействие (използвайте протеин блок, като блокиращ разтвор на базата на серум или казеин).
- Тъканните срезове се измиват от предметните стъкла по време на инкубацията – Проверете предметните стъкла, за да се уверите, че са положително заредени.
- Специфично оцветяване е тъурде тъмно – Проверете протокола, за да определите дали към предметното стъкло е приложен правилен титър на антитела, както и правилните времена на инкубация за всички реагенти. Освен това се уверете, че протоколът има достатъчно стъпки на промиване, за да се отстранят излишните реагенти след приключване на стъпките на инкубация.

Препратки:

- Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
- Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
- Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
- Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

8/116



TP v3 (12/15/2021)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Bulgarian

BIOCARE
MEDICAL

5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfent EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Chinese (Simplified)

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

有可能的使用:

为了体外诊断用途

4plus 生物素化山羊抗小鼠 IgG 适用于使用辣根过氧化物酶 (HRP) 或碱性磷酸酶 (AP) 链霉亲和素缀合物两步应用方法的手动或自动免疫组织化学 (IHC) 染色方案。这种链霉亲和素缀合物检测旨在检测 IHC 染色过程中与福尔马林固定石蜡包埋 (FFPE) 组织中的目标抗原结合的小鼠 IgG 一抗。对任何染色或染色缺失的临床解释应辅以形态学研究和适当的对照，并应在患者的临床病史和由合格病理学家进行的其他诊断测试的背景下进行评估。

总结与说明:

该 4plus 生物素化山羊抗小鼠 IgG 设计采用两步法检测小鼠一抗以形成抗体-酶复合物。然后使用适当的底物/显色剂使该复合物可视化。在两步法中，二抗被生物素化，并依次应用额外的酶标记链霉亲和素。两步法旨在增强低表达抗原情况下的检测。

这种生物素化抗体与小鼠 IgG 上的重链和轻链发生反应。它被马、牛和人吸附。它与所有小鼠 IgG 亚类和小鼠 IgM 发生反应。它已经过亲和纯化，与人、牛和马血清蛋白的交叉反应最小。在生物素和二抗之间放置了一个长间隔臂，以提高与链霉亲和素缀合物偶联时的灵敏度。4plus 生物素化山羊抗小鼠 IgG 可与链霉亲和素辣根过氧化物酶或链霉亲和素碱性磷酸酶检测系统一起使用。

程序原则:

该微聚合物检测试剂盒可用于福尔马林固定、石蜡包埋的组织切片的免疫组织化学检测。一般来说，免疫组织化学 (IHC) 染色技术允许通过连续应用抗原来可视化抗原。抗原的特异性抗体（一抗）、一抗的二抗（可选连接抗体/探针）、酶复合物和显色底物以及插入的洗涤步骤。色原的酶促激活导致在抗原位点产生可见的反应产物。然后可以对样本进行复染并盖上盖玻片。使用光解释结果 显微镜并有助于病理生理过程的鉴别诊断，这可能或可能与特定抗原无关。

材料和方法:

提供的试剂:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

重构、混合、稀释、滴定:

基于链霉亲和素的检测试剂盒试剂经过优化，可与 Biocare 抗体和辅助试剂一起使用。无需重构、混合、稀释或滴定。

已知应用:

免疫组织化学 (福尔马林固定石蜡包埋组织)

物种反应性:

小鼠 IgG 重链和轻链

提供方式:

缓冲盐水溶液，pH 7.2-7.4，含有蛋白质载体，以及少于 0.01% ProClin 300 和/或少于 0.5% ProClin 950 作为防腐剂。有关更多详细信息，请参阅安全数据表。

需要但未提供的材料和试剂:

显微镜载玻片，带正电
阳性和阴性组织对照
Desert Chamber* 或类似干燥箱 (可选)
二甲苯或二甲苯替代品
乙醇或试剂醇
解密室* 或类似压力锅 (可选)
去离子水或蒸馏水
洗涤缓冲液*
预处理试剂* (可选)
酶消化* (可选)
过氧化物酶阻断*
蛋白质块* (可选)
亲和素-生物素封闭试剂盒
一抗*
链霉亲和素标签*
阴性对照试剂*
显色剂*
苏木精* (复染)
上蓝试剂*
封固剂*
盖玻片
光学显微镜 (40-400X 放大倍率)

* Biocare 医疗产品：有关目录号和订购的信息，请参阅 Biocare Medical 网站 <http://biocare.net>。上面列出的某些试剂基于具体应用和所使用的检测系统。

储存和稳定性:

储存于 2°C 至 8°C。在这些条件下储存时，该产品在小瓶标签上印刷的有效期内是稳定的。请勿在有效期后使用。必须验证在指定条件以外的任何条件下的储存。试剂盒试剂是即用型的，不应稀释。Biocare 尚未确定用户稀释试剂的稳定性。

阳性和阴性对照应与所有患者标本同时进行。如果观察到意外染色，且无法通过实验室程序的变化来解释，并且怀疑抗体存在问题，请致电 1-800-542-2002 或通过 biocare.net 上提供的技术支持信息联系 Biocare 的技术支持。

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Chinese (Simplified)

BIOCARE
MEDICAL

样品制备：

用福尔马林固定的组织适合在石蜡包埋之前使用。在组织处理之前应将骨组织脱钙，以利于组织切割并防止损坏切片机刀片。^{1,2}

正确固定和包埋表达特定抗原靶标的组织应保存在阴凉处。1988年临床实验室改进法案(CLIA)要求42 CFR§493.1259(b)规定“实验室必须保留染色载玻片自染色之日起至少十年”检查并保留样本块自检查之日起至少两年。³

染色前组织的处理：

根据下面推荐的方案执行热诱导表位修复(HIER)。在IHC之前常规使用HIER已被证明可以最大限度地减少不一致并使染色标准化。^{4,5}

警告和注意事项：

- 试剂盒试剂含有少于<0.05% ProClin 300 和/或少于1% 950>处理时戴手套和穿防护服并采取合理的预防措施，因为ProClin被归类为刺激物，可能导致皮肤接触过敏。避免接触眼睛、皮肤和粘膜。
- 将人类或动物来源的材料视为具有潜在生物危害性，并采取适当的预防措施处置此类材料。如果发生接触，请遵循使用场所主管部门的健康指示。^{6,7}
- 固定前后的标本以及所有暴露于其中的材料均应按照能够传播感染的方式进行处理，并采取适当的预防措施进行处置。切勿用嘴吸取试剂，并避免试剂和标本接触皮肤和粘膜。如果试剂或标本接触到敏感区域，请用大量水清洗。⁸
- 试剂的微生物污染可能导致非特异性染色增加。
- 未指定的孵育时间或温度可能会产生错误的结果。用户必须验证任何此类更改。
- 试剂瓶上印有有效期后请勿使用。
- 微聚合物检测试剂盒试剂经过优化，可与 Biocare 抗体和辅助试剂一起使用。有关推荐的使用方案和使用条件，请参阅一抗和其他辅助试剂的使用说明。
- 遵循当地和/或国家当局对处置方法的要求。
- SDS可根据要求提供，位于<http://biocare.net>。
- 通过联系当地 Biocare 代表以及用户所在成员国或国家的适用主管当局，报告与此设备相关的任何严重事件。

使用说明：

微聚合物检测试剂盒试剂经过优化，可与 Biocare 抗体和辅助试剂一起使用。有关推荐的使用方案和使用条件，请参阅一抗和其他辅助试剂的使用说明。孵育时间和温度将根据所遵循的特定抗体方案而变化。

使用自动染色仪器时，请参阅特定仪器操作手册和操作参数使用说明。

执行 IHC 的一般程序步骤：

- 脱蜡：在Slide Brite或二甲苯中对载玻片进行脱蜡。水合物在一系列梯度醇中滑变成水。
- 过氧化物封闭：用过氧化物1封闭5分钟。
- 预处理溶液/方案：推荐的预处理溶液和方案请参阅相应的一抗数据表。
- 抗生物素蛋白块：使用 Biocare 的抗生物素蛋白在室温下孵育10-20分钟。

6. 生物素块：在室温下与 Biocare 的生物素一起孵育10-20分钟。

7. 蛋白质块(可选)：在室温(RT)下与背景 Sniper一起孵育10-15分钟。

8. 一抗：孵育时间请参阅相应一抗数据表。

9. Link：使用4plus Biotinylated Link在室温下孵育10分钟。

10. 标签：使用4plus链霉亲和素HRP或链霉亲和素AP标签在室温下孵育10-20分钟。

11. 显色剂：与 Biocare 的 DAB 一起在室温下孵育10-20分钟，或与 Warp Red 在室温下孵育5-7分钟。

12. 复染：用苏木精复染。用去离子水冲洗。使用 Tacha 的蓝化溶液1分钟。用去离子水冲洗。

技术说明：

- 使用TBS进行洗涤步骤。

质量控制：

请参阅 CLSI 免疫组织化学检测设计和实施的质量标准；批准指南 - 第二版(I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org)。2011年⁹。

阳性组织对照：

外部阳性对照材料应为新鲜标本，尽快以与患者样本相同的方式固定、处理和包埋。阳性组织对照表明正确制备的组织和正确的染色技术。每次染色运行中应包括每组测试条件的一个阳性外部组织对照。

用于外部阳性对照材料的组织应选自具有良好特征的低水平阳性靶活性的患者标本，该活性呈弱阳性染色。外部阳性对照的低阳性水平旨在确保检测由于IHC方法不稳定或问题而导致的一抗敏感性的细微变化。市售的组织对照载玻片或与患者样本不同处理的样本仅验证试剂性能，并不验证组织制备。

已知的阳性组织对照只能用于监测处理过的组织和测试试剂的正确性能，而不是帮助制定患者样本的具体诊断。如果阳性组织对照未能表现出阳性染色，则测试样本的结果应被视为无效。

阴性组织对照：

每次染色时，使用与患者样本相同的方式固定、处理和包埋的阴性组织对照，以验证IHC一抗的特异性展示目标抗原，并提供特定背景染色的指示（假阳性染色）。此外，大多数组织切片中存在多种不同的细胞类型，可以被实验室人员用作内部阴性对照位点以验证IHC的性能规格。可用于阴性组织的标本类型和来源控制措施列于“性能特征”部分。

如果阴性组织对照中出现特异性染色（假阳性染色），则患者标本的结果应被视为无效。

非特异性阴性试剂对照：

使用非特异性阴性试剂对照代替一抗，并使用每个患者标本的切片来评估非特异性染色和

可以更好地解释抗原位点的特异性染色。理想情况下，阴性试剂对照包含产生和制备的抗体（即使用相同的稀释剂稀释至相同的浓度），其使用方式与一抗相同，但在与 Biocare 抗体相同的基质/溶液中与人体组织不表现出特异

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Chinese (Simplified)

BIOCARE
MEDICAL

性反应性。单独的稀释剂可以用作先前描述的阴性试剂对照的不太理想的替代品。阴性试剂对照的孵育时间应与一抗的孵育时间相对应。

当在连续切片上使用多个抗体组时，一张载玻片的阴性染色区域可以用作其他抗体的阴性/非特异性结合背景对照。为了区分内源性酶活性或酶的非特异性结合与特异性免疫反应性，可以分别用底物-色原或酶复合物（PAP、亲和素-生物素、链霉亲和素）和底物-色原专门对其他患者组织进行染色。

测定验证:

在诊断程序中首次使用抗体或染色系统之前，用户应通过在一系列具有代表已知阳性和阴性组织的已知免疫组织化学性能特征的内部组织上进行测试来验证抗体的特异性。请参阅产品说明书本节中先前概述的质量控制程序以及 CAP 认证计划的质量控制建议¹⁰ 用于免疫组织化学和/或 NCCLS IHC 指南¹¹。对于每个新抗体批次，或每当测定参数发生变化时，都应重复这些质量控制程序。性能特征部分列出的组织适合用于测定验证。

故障排除:

根据提供的数据表，遵循抗体特定方案建议。如果出现非典型结果，请致电 1-800-542-2002 联系 Biocare 的技术支持。

染色解读:

4plus 生物素化山羊抗小鼠 IgG 在一抗定位的抗原位点产生棕色 (HRP) 或红色 (AP) 颜色反应。在解释患者结果之前，对照的染色必须由合格的病理学家进行评估。对阴性对照进行评估并与染色玻片进行比较，以确保观察到的任何染色不是非特异性相互作用的结果。

阳性组织对照:

应首先检查用指定抗体染色的阳性组织对照，以确定所有试剂均正常工作。靶细胞的适当染色（如上所述）表明呈阳性反应。如果阳性组织对照未能表现出阳性染色，则测试样本的任何结果均应被视为无效。

反应产物的颜色可能会根据所使用的底物发色团而变化。有关预期的颜色反应，请参阅基材包装插页。此外，在染色方法的变化中可以观察到异染。¹² 当使用复染剂时，根据孵育长度和所用复染剂的效力，复染将导致细胞核着色。过度或不完整的复染可能会影响结果的正确解释。请参阅建议的复染方案。

阴性组织对照:

应在阳性组织对照后检查阴性组织对照，以验证一抗标记靶抗原的特异性。阴性组织对照中缺乏特异性染色证实了抗体与细胞/细胞成分不存在交叉反应性。如果在阴性外部组织对照中出现特异性染色（假阳性染色），则患者标本的结果应被视为无效。

非特异性染色（如果存在）通常呈弥漫性外观。在过度福尔马林固定的组织切片中也可以观察到结缔组织的零星染色。使用完整的细胞来解释染色结果。坏死或退化的细胞通常会出现非特异性染色。

患者组织:

检查用指定抗体染色的患者标本 最后的。阳性染色强度应在阴性试剂对照的任何非特异性背景染色的背景下进行评估。与任何免疫组织化学测试一样，阴性结果意味着未检测到抗原，而不是所检测的细胞/组织中不存在抗原。如有必要，使用一组抗体来识别假阴性反应。

有关指定抗体免疫反应性的具体信息，请参阅摘要和解释、限制和性能特征。

限制:

一般限制:

1. 为了体外诊断 (IVD) 使用
2. 该产品仅供专业用途：免疫组织化学是一个多步骤的诊断过程，包括选择适当试剂的专门培训；组织选择、固定和处理；IHC 载玻片的制备；以及染色结果的解释。
3. 仅供医生处方使用。（仅限接收）
4. 组织染色取决于染色前组织的处理和处理。不正确的固定、冷冻、解冻、清洗、干燥、加热、切片或被其他组织或液体污染可能会产生伪影、抗体捕获或假阴性结果。结果不一致可能是由于固定和嵌入方法的变化，或组织内固有的不规则性。¹³
5. 过度或不完整的复染可能会影响结果的正确解释。
6. 任何阳性或阴性染色的临床解释应在临床表现、形态学和其他组织病理学标准的背景下进行评估。任何阳性或阴性染色的临床解释均应通过使用适当的阳性或阴性内部和外部对照以及其他诊断测试的形态学研究来补充。熟悉 IHC 抗体、试剂和方法的合格病理学家有责任解释用于准备和解释最终 IHC 制剂的所有步骤。
7. 针对特定应用的最佳协议可能会有所不同。这些包括但不限于固定、热回收方法、孵育时间、抗体稀释、组织切片厚度和使用的检测试剂盒。有关推荐的使用方案和使用条件，请参阅一抗和其他辅助试剂的使用说明。数据表建议和协议基于 Biocare 产品的独家使用。最终，研究者有责任确定最佳条件。
8. 本产品不适用于流式细胞术。流式细胞术的性能特征尚未确定。
9. 感染乙型肝炎病毒并含有乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 的人的组织可能会出现辣根过氧化物酶的非特异性染色。¹⁴
10. 试剂可能会在先前未测试的组织中表现出意想不到的反应。由于肿瘤或其他病理组织中抗原表达的生物变异性，即使在测试的组织组中也不能完全消除意外反应的可能性。¹⁵ 请致电 1-800-542-2002 联系 Biocare 的技术支持，或通过 biocare.net 上提供的技术支持信息联系，并记录意外反应。
11. 由于自身抗体或天然抗体，与封闭步骤中使用的二抗血清来自相同动物来源的正常/非免疫血清可能会导致假阴性或假阳性结果。
12. 由于蛋白质或底物反应产物的非免疫结合，可能会出现假阳性结果。它们也可能由假过氧化物酶活性（红细胞）、内源性过氧化物酶活性（细胞色素 C）或内源性生物素（例如肝脏、乳腺、脑、肾）引起，具体取决于所用免疫染色的类型。¹³
13. 阴性结果意味着未检测到抗原，而不是检查的细胞或组织中不存在抗原。

产品特定限制:

没有额外的产品特定限制。

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Chinese (Simplified)

BIOCARE
MEDICAL

性能特点：

使用抗体特定使用说明书中提供的方案或按照指定进行染色。在一抗开发期间评估的一系列正常和肿瘤组织类型中评估了染色的敏感性和特异性。

重现性：

Biocare 检测系统和系统试剂的再现性是通过中间精度测量来验证的，其中使用不同的操作员、分析人员、试剂批次、组织样本和设备对不同的试剂批次进行了长时间的测试。评估的每种检测试剂获得的染色是一致的并且按预期进行。

12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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 Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

故障排除：

1. 任何载玻片均未染色 - 检查以确定是否使用了适当的阳性对照组织、抗体和检测产品。检查除蜡或预处理是否不完全或不正确。
2. 所有载玻片的弱染色 - 检查以确定是否使用了适当的阳性对照组织、抗体和检测产品。
3. 所有载玻片的背景过多 - 可能存在高水平的内源生物素（如果使用基于生物素的检测产品）、将色原转化为有色最终产物的内源 HRP 活性（使用过氧化物酶块）或过量的非特异性蛋白质相互作用（使用蛋白质封闭液，例如基于血清或酪蛋白的封闭液）。
4. 孵化过程中组织切片会从载玻片上洗掉——检查载玻片以确保它们带正电。
5. 特异性染色太深 - 检查实验方案以确定是否对载玻片应用了正确的抗体滴度以及所有试剂的正确孵育时间。此外，确保方案有足够的清洗步骤，以在孵育步骤完成后去除多余的试剂。

参考：

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

13/116



TP v3 (12/15/2021)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Chinese (Traditional)

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

有可能的使用：

為了體外診斷用途

4plus 生物素化山羊抗小鼠 IgG 適用於使用辣根過氧化物酶(HRP) 或鹼性磷酸酶(AP) 鏈微親和素綴合物兩步驟應用方法的手動或自動免疫組織化學(IHC) 染色方案。這種鏈微親和素綴合物檢測旨在檢測 IHC 染色過程中與福馬林固定石蠟包埋 (FFPE) 組織中的目標抗原結合的小鼠 IgG 一抗。任何染色或染色缺失的臨床解釋應輔以形態學研究和適當的對照，並應在患者的臨床病史和由合格病理學家進行的其他診斷測試的背景下進行評估。

總結與說明：

這 4plus 生物素化山羊抗小鼠 IgG 設計採用兩步驟法檢測小鼠一抗以形成抗體-酵素複合物。然後使用適當的底物/顯色劑使該複合物可視化。在兩步驟法中，二抗被生物素化，並依序應用額外的酵素標記鏈微親和素。兩步驟法旨在增強低表達抗原情況下的檢測。

這種生物素化抗體與小鼠 IgG 上的重鏈和輕鏈反應。它被馬、牛和人吸附。它與所有小鼠 IgG 亞類和小鼠 IgM 反應。它已經過親和純化，與人類、牛和馬血清蛋白的交叉反應最小。在生物素和二抗之間放置了一個長間隔臂，以提高與鏈微親和素綴合物偶聯時的靈敏度。4plus 生物素化山羊抗小鼠 IgG 可與鏈微親和素辣根過氧化物酶或鏈微親和素鹼性磷酸酶檢測系統一起使用。

程序原則：

此微聚合物檢測試劑盒可用於福馬林固定、石蠟包埋的組織切片的免疫組織化學檢測。一般來說，免疫組織化學 (IHC) 染色技術允許透過連續應用抗原來可視化抗原。抗原的特異性抗體（一抗）、一抗的二抗（可選連接抗體/探針）、酵素複合物和顯色底物以及插入的洗滌步驟。色原的酵素活化導致在抗原位點產生可見的反應產物。然後可以將樣本複染並蓋上蓋玻片。使用光解說結果 顯微鏡並有助於病理生理過程的鑑別診斷，這可能或可能與特定抗原無關。

材料與方法：

提供的試劑：

套件目錄號	元件目錄號	組件說明	數量 x 體積
GM601H	GM601H	4plus 生物素化山羊抗小鼠 IgG	1x25 毫升

重構、混合、稀釋、滴定：

基於鏈微親和素的檢測試劑盒試劑經過優化，可與 Biocare 抗體和輔助試劑一起使用。無需重構、混合、稀釋或滴定。

已知應用：

免疫組織化學 (福馬林固定石蠟包埋組織)

物種反應性：

小鼠 IgG 重鏈和輕鏈

提供方式：

緩衝鹽水溶液，pH 7.2-7.4，含有蛋白質載體，以及少於 0.01% ProClin 300 和/或少於 0.5% ProClin 950 作為防腐劑。有關更多詳細信息，請參閱安全資料表。

需要但未提供的材料和試劑：

顯微鏡載玻片，帶正電

陽性和陰性組織對照

Desert Chamber* 或類似乾燥箱 (選購)

二甲苯或二甲苯替代品

乙醇或試劑醇

解密室*或類似壓力鍋 (選購)

去離子水或蒸餾水

洗滌緩衝液*

預處理試劑* (選購)

酵素消化* (可選)

過氧化物酶阻斷*

蛋白質塊* (可選)

親和素-生物素封閉試劑盒

一抗*

鏈微親和素標籤*

陰性對照試劑*

顯色劑*

蘇木精* (複染)

上藍試劑*

封固劑*

蓋玻片

光學顯微鏡 (40-400X 放大倍率)

* Biocare 醫療產品：有關目錄編號和訂購的信息，請參閱 Biocare Medical 網站 <http://biocare.net>。上面列出的某些試劑是基於具體應用和所使用的檢測系統。

儲存和穩定性：

儲存於 2°C 至 8°C。在這些條件下儲存時，該產品在小瓶標籤上印刷的有效期內是穩定的。請勿在有效期限後使用。必須驗證在指定條件以外的任何條件下的儲存。試劑盒試劑是即用型的，不應稀釋。Biocare 尚未確定使用者稀釋試劑的穩定性。

陽性和陰性對照應與所有患者檢體同時進行。如果觀察到意外染色，且無法透過實驗室程序的變化來解釋，並且懷疑抗體存在問題，請致電 1-800-542-2002 或透過 biocare.net 上提供的技術支援資訊聯絡 Biocare 的技術支援。

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Chinese (Traditional)

BIOCARE
MEDICAL

樣品製備：

用福馬林固定的組織適合在石蠟包埋前使用。在組織處理之前應將骨組織脫鈣，以利於組織切割並防止損壞切片機刀片。^{1,2}

正確固定和包埋表達特定抗原標靶的組織應保存在陰涼處。1988年臨床實驗室改進法案(CLIA)要求42 CFR§493.1259(b)規定“實驗室必須保留染色玻片自染色之日起至少十年”檢查並保留樣本塊自檢查之日起至少兩年。³

染色前組織的處理：

根據下面建議的方案執行熱誘導表位修復(HIER)。在IHC之前常規使用HIER已被證明可以最大限度地減少不一致並使染色標準化。^{4,5}

警告和注意事項：

- 試劑盒試劑含有少於<0.05% ProClin 300 和/或少於1% 950>處理時戴手套和穿防護服並採取合理的預防措施，因為ProClin被歸類為刺激物，可能導致皮膚接觸過敏。避免接觸眼睛、皮膚和黏膜。
- 將人類或動物來源的材料視為具有潛在生物危害性，並採取適當的預防措施處置此類材料。如果發生接觸，請遵循使用場所主管機關的健康指示。^{6,7}
- 固定前後的標本以及所有暴露於其中的材料應按照能夠傳播感染的方式進行處理，並採取適當的預防措施進行處置。切勿用嘴巴吸取試劑，並避免試劑和檢體接觸皮膚和黏膜。如果試劑或檢體接觸到敏感區域，請用大量水清洗。⁸
- 試劑的微生物污染可能導致非特異性染色增加。
- 未指定的孵育時間或溫度可能會產生錯誤的結果。用戶必須驗證任何此類更改。
- 試劑瓶上印有有效期限後請勿使用。
- 微聚合物檢測試劑盒試劑經過優化，可與 Biocare 抗體和輔助試劑一起使用。有關建議的使用方案和使用條件，請參閱一抗和其他輔助試劑的使用說明。
- 遵循當地和/或國家當局對處置方法的要求。
- SDS 可依要求提供，位於 <http://biocare.net>。
- 透過聯絡當地 Biocare 代表以及使用者所在成員國或國家的適用主管當局，報告與此設備相關的任何嚴重事件。

使用說明：

微聚合物檢測試劑盒試劑經過優化，可與 Biocare 抗體和輔助試劑一起使用。有關建議的使用方案和使用條件，請參閱一抗和其他輔助試劑的使用說明。孵育時間和溫度將根據所遵循的特定抗體方案而變化。

使用自動染色儀器時，請參閱特定儀器操作手冊和操作參數使用說明。

執行 IHC 的一般程序步驟：

- 脫蠟：在 Slide Brite 或二甲苯中對玻片進行脫蠟。水合物在一系列梯度醇中滑變成水。
- 過氧化物封閉：用過氧化物 1 封閉 5 分鐘。
- 預處理溶液/方案：建議的預處理溶液和方案請參閱對應的一抗資料表。
- 抗生物素蛋白塊：使用 Biocare 的抗生物素蛋白在室溫下孵育 10-20 分鐘。

6. 生物素塊：在室溫下與 Biocare 的生物素一起孵育 10-20 分鐘。

7. 蛋白質塊（可選）：在室溫(RT)下與背景 Sniper 一起孵育 10-15 分鐘。

8. 一抗：孵育時間請參閱對應一抗資料表。

9. Link：使用 4plus Biotinylated Link 在室溫下培養 10 分鐘。

10. 標籤：使用 4plus 鏈熒親和素 HRP 或鏈熒親和素 AP 標籤在室溫下孵育 10-20 分鐘。

11. 顯色劑：與 Biocare 的 DAB 一起在室溫下孵育 10-20 分鐘，或與 Warp Red 在室溫下孵育 5-7 分鐘。

12. 複染：用蘇木精複染。用去離子水沖洗。使用 Tacha 的藍化溶液 1 分鐘。用去離子水沖洗。

技術說明：

- 使用 TBS 進行洗滌步驟。

品質控制：

請參閱 CLSI 免疫組織化學檢測設計和實施的品質標準；核准指南 - 第二版(I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org)。2011 年⁹。

陽性組織對照：

外部陽性對照材料應為新鮮標本，盡快以與病患樣本相同的方式固定、處理和包埋。陽性組織對照顯示正確製備的組織和正確的染色技術。每次染色運行中應包括每組測試條件的一個陽性外部組織對照。

用於外部陽性對照材料的組織應選自具有良好特徵的低水平陽性標靶活性的患者標本，該活性呈弱陽性染色。外部陽性對照的低陽性水平旨在確保檢測由於 IHC 方法不穩定或問題而導致的一抗敏感性的細微變化。市售的組織對照玻片或與病人樣本不同處理的樣本僅驗證試劑性能，並不驗證組織製備。

已知的陽性組織對照只能用於監測處理過的組織和測試試劑的正確性能，而不是幫助制定患者樣本的特定診斷。如果陽性組織對照未能表現出陽性染色，則測試樣本的結果應被視為無效。

陰性組織對照：

每次染色時，使用與患者樣本相同的方式固定、處理和包埋的陰性組織對照，以驗證 IHC 一抗的特異性展示目標抗原，並提供特定背景染色的指示（假陽性染色）。此外，大多數組織切片中存在多種不同的細胞類型，可以被實驗室人員用作內部陰性對照點以驗證 IHC 的性能規格。可用於陰性組織的標本類型和來源控制措施列於「性能特徵」部分。

如果陰性組織對照中出現特異性染色（假陽性染色），則病患檢體的結果應視為無效。

非特異性陰性試劑對照：

使用非特異性陰性試劑對照代替一抗，並使用每個患者標本的切片來評估非特異性染色和

可以更好地解釋抗原位點的特異性染色。理想情況下，陰性試劑對照包含產生和製備的抗體（即使用相同的稀釋劑稀釋至相同的濃度），其使用方式與一抗相同，但在與 Biocare 抗體相同的基質/溶液中與人體組織不表現出特異

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Chinese (Traditional)

BIOCARE
MEDICAL

性反應性。單獨的稀釋劑可以用作先前描述的陰性試劑對照的不太理想的替代品。陰性試劑對照的孵育時間應與一抗的孵育時間相對應。

當在連續切片上使用多個抗體組時，一張玻片的陰性染色區域可以用作其他抗體的陰性/非特異性結合背景對照。為了區分內源性酵素活性或酵素的非特異性結合與特異性免疫反應性，可以分別以底物-色原或酵素複合物（PAP、親和素-生物素、鏈黴親和素）和底物-色原專門對其他患者組織進行染色。

測定驗證：

在診斷程序中首次使用抗體或染色系統之前，使用者應透過在一系列具有代表已知陽性和陰性組織的已知免疫組織化學性能特徵的內部組織上進行測試來驗證抗體的特異性。請參閱產品說明書本節中先前概述的品質控製程序以及 CAP 認證計劃的品質控制建議¹⁰。用於免疫組織化學和/或 NCCLS IHC 指南¹¹。對於每個新抗體批次，或每當測定參數發生變化時，都應重複這些品質控製程序。性能特徵部分列出的組織適合用於測定驗證。

故障排除：

根據提供的數據表，遵循抗體特定方案建議。如果出現非典型結果，請致電 1-800-542-2002 聯絡 Biocare 的技術支援。

染色解讀：

4plus 生物素化山羊抗小鼠 IgG 在一抗定位的抗原位點產生棕色 (HRP) 或紅色 (AP) 顏色反應。在解釋患者結果之前，對照組的染色必須由合格的病理學家進行評估。對陰性對照進行評估並與染色玻片進行比較，以確保觀察到的任何染色不是非特異性交互作用的結果。

陽性組織對照：

應先檢查用指定抗體染色的陽性組織對照，以確定所有試劑均正常運作。標靶細胞的適當染色（如上所述）顯示呈陽性反應。如果陽性組織對照未能表現出陽性染色，則測試樣本的任何結果應被視為無效。

反應產物的顏色可能會根據所使用的底物顏色團而改變。有關預期的顏色反應，請參閱基材包裝插頁。此外，在染色方法的變化中可以觀察到異染。¹² 當使用複染劑時，根據培養長度和所用複染劑的效力，複染將導致細胞核著色。過度或不完整的複染可能會影響結果的正確解釋。請參閱建議的複染方案。

陰性組織對照：

應在陽性組織對照後檢查陰性組織對照，以驗證一抗標記標靶抗原的特異性。陰性組織對照中缺乏特異性染色證實了抗體與細胞/細胞成分不存在交叉反應性。如果在陰性外部組織對照中出現特異性染色（假陽性染色），則病患檢體的結果應被視為無效。

非特異性染色（如果存在）通常呈現瀰漫性外觀。在過度福馬林固定的組織切片中也可以觀察到結締組織的零星染色。使用完整的細胞來解釋染色結果。壞死或退化的細胞通常會出現非特異性染色。

患者組織：

檢查用指定抗體染色的病人標本 最後的。陽性染色強度應在陰性試劑對照的任何非特異性背景染色的背景下進行評估。與任何免疫組織化學測試一樣，陰性結果意味著未檢測到抗原，而不是所檢測的細胞/組織中不存在抗原。如有必要，請使用一組抗體來識別假陰性反應。

有關指定抗體免疫反應性的具體信息，請參閱摘要和解釋、限制和性能特徵。

限制：

一般限制：

1. 為了體外診斷 (IVD) 使用
2. 本產品僅供專業用途：免疫組織化學是一個多步驟的診斷過程，包括選擇適當試劑的專門培訓；組織選擇、固定和處理；IHC 載玻片的製備；以及染色結果的解釋。
3. 僅供醫生處方使用。（僅限接收）
4. 純粹染色取決於染色前組織的處理和處理。不正確的固定、冷凍、解凍、清洗、乾燥、加熱、切片或被其他組織或液體污染可能會產生偽影、抗體捕獲或假陰性結果。結果不一致可能是由於固定和嵌入方法的變化，或組織內固有的不規則性。¹³
5. 過度或不完整的複染可能會影響結果的正確解釋。
6. 任何陽性或陰性染色的臨床解釋應在臨床表現、形態學和其他組織病理學標準的背景下進行評估。任何陽性或陰性染色的臨床解釋應透過使用適當的陽性和陰性內部和外部對照以及其他診斷測試的形態學研究來補充。熟悉 IHC 抗體、試劑和方法的合格病理學家有責任解釋用於準備和解釋最終 IHC 製劑的所有步驟。
7. 對於特定應用的最佳協定可能會有所不同。這些包括但不限於固定、熱回收方法、孵育時間、抗體稀釋、組織切片厚度和使用的檢測試劑盒。有關建議的使用方案和使用條件，請參閱一抗和其他輔助試劑的使用說明。數據表建議和協議基於 Biocare 產品的獨家使用。最終，研究者有責任確定最佳條件。
8. 本產品不適用於流式細胞儀。流式細胞儀的性能特徵尚未確定。
9. 感染 B 型肝炎病毒並含有乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 的人的組織可能會出現辣根過氧化物酶的非特異性染色。¹⁴
10. 試劑可能會在先前未測試的組織中表現出意想不到的反應。由於腫瘤或其他病理組織中抗原表達的生物變異性，即使在測試的組織組中也不能完全消除意外反應的可能性。¹⁵ 請致電 1-800-542-2002 聯繫 Biocare 的技術支持，或透過 biocare.net 上提供的技術支援資訊聯繫，並記錄意外反應。
11. 由於自體抗體或天然抗體，與封閉步驟中使用的二抗血清來自相同動物來源的正常/非免疫血清可能會導致假陰性或假陽性結果。
12. 由於蛋白質或底物反應產物的非免疫結合，可能會出現假陽性結果。它們也可能由假過氧化物酶活性（紅血球）、內源性過氧化物酶活性（細胞色素 C）或內源性生物素（例如肝臟、乳腺、腦、腎）引起，這取決於所用免疫染色的種類。¹³
13. 陰性結果意味著未檢測到抗原，而不是檢查的細胞或組織中不存在抗原。

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Chinese (Traditional)

BIOCARE
MEDICAL

產品特定限制:

沒有額外的產品特定限制。

性能特點:

使用抗體特定使用說明書中提供的方案或依照指定進行染色。在一抗開發期間評估的一系列正常和腫瘤組織類型中評估了染色的敏感性和特異性。

重現性:

Biocare 檢測系統和系統試劑的再現性是透過中間精確度測量來驗證的，其中使用不同的操作員、分析人員、試劑批次、組織樣本和設備對不同的試劑批次進行了長時間的測試。評估的每種檢測試劑所獲得的染色是一致的並且按預期進行。

故障排除:

1. 任何玻片均未染色 - 檢查以確定是否使用了適當的陽性對照組織、抗體和檢測產品。檢查除蠅或預處理是否不完全或不正確。
2. 所有玻片的弱染色 - 檢查以確定是否使用了適當的陽性對照組織、抗體和檢測產品。
3. 所有玻片的背景過多- 可能存在高水平的內源性生物素（如果使用基於生物素的檢測產品）、將色原轉化為有色最終產物的內源性 HRP 活性（使用過氧化物酶塊）或過量的非特異性蛋白質交互作用（使用蛋白質封閉液，例如基於血清或酪蛋白的封閉液）。
4. 孵化過程中組織切片會從載玻片上掉 - 檢查載玻片以確保它們帶正電。
5. 特異性染色太深 - 檢查實驗方案以確定是否對玻片應用了正確的抗體滴度以及所有試劑的正確孵育時間。此外，確保方案有足夠的清洗步驟，以便在孵育步驟完成後去除多餘的試劑。

參考:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed

guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.

12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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 Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Croatian

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Namjena:

Zain vitro Dijagnostička upotreba

4plus biotinilirani kozji anti-mišji IgG namijenjen je za upotrebu u protokolima ručnog ili automatiziranog imunohistokemijskog (IHC) bojenja koristeći metodu primjene peroksidaze hrena (HRP) ili alkalne fosfataze (AP) konjugata streptavidina u dva koraka. Ova detekcija konjugata streptavidina dizajnirana je za detekciju primarnih protutijela mišjih IgG vezanih za ciljane antigene u tkivima fiksiranim u formalinu, ugrađenim u parafin (FFPE) tijekom procesa IHC bojenja. Kliničko tumačenje bilo kakvog bojenja ili njegovog izostanka trebalo bi nadopuniti morfološkim studijama i odgovarajućim kontrolama te bi ga kvalificirani patolog trebao procijeniti u kontekstu kliničke povijesti pacijenta i drugih dijagnostičkih testova.

Sažetak i objašnjenje:

The4plus biotinilirani kozji anti-mišji IgG dizajniran je korištenjem metode u dva koraka za otkrivanje mišjih primarnih antitijela za stvaranje kompleksa antitijelo-enzim. Ovaj kompleks se zatim vizualizira pomoću odgovarajućeg supstrata/kromogena. U metodi u dva koraka sekundarno antitijelo se biotinilira, a dodatni enzimom obilježeni streptavidin se uzastopno primjenjuje. Metoda u dva koraka osmišljena je za pojačavanje detekcije u slučajevima niske ekspresije antigena.

Ovo biotinilirano protutijelo reagira s teškim i lakin lancima na mišji IgG. Adsorbira se protiv konja, goveda i ljudi. Reagira sa svim mišjim IgG podklasama i mišjim IgM. Pročišćen je afinitetom s minimalnom križnom reakcijom na ljudske, goveđe i konjske serumske proteine. Između biotina i sekundarnog antitijela postavljena je duga raznaknica kako bi se povećala osjetljivost u kombinaciji s konjugatima streptavidina. 4plus biotinilirani kozji anti-mišji IgG može se koristiti sa sustavom detekcije streptavidin peroksidaze hrena ili streptavidin alkalne fosfataze.

Princip postupka:

Ovaj komplet za detekciju mikropolimera može se koristiti u imunohistokemijskom testiranju isječaka tkiva fiksiranih u formalinu, u parafinu. Općenito, imunohistokemijski (IHC) tehnike bojenja omogućuju vizualizaciju antigena putem sekvencijalne primjene a specifično protutijelo na antigen (primarno protutijelo), sekundarno protutijelo na primarno protutijelo (neobavezna veza protutijelo/sonda), enzimski kompleks i kromogeni supstrat s umetnutim koracima ispiranja. Enzimska aktivacija kromogena rezultira vidljivim produkтом reakcije na mjestu antigena. Uzorak se zatim može obojiti suprotno i prekriti stakalcem. Rezultati se tumače pomoću svjetla mikroskop i pomoći u diferencijalnoj dijagozi patofizioloških procesa, koji mogu ili ne moraju biti povezani s određenim antigenom.

Materijali i metode:

Priloženi reagensi:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Rekonstitucija, miješanje, razrjeđivanje, titracija:

Reagensi za detekciju na bazi streptavidina optimizirani su i spremni za upotrebu s Biocare antitijelima i pomoćnim reagensima. Nije potrebna rekonstitucija, miješanje, razrjeđivanje ili titracija.

Poznate primjene:

Imunohistokemija (tkiva fiksirana formalinom i parafinom)

Reaktivnost vrste:

Teški i laki lanci mišjeg IgG

Isporučuje se kao:

Puferirana fiziološka otopina, pH 7,2-7,4, koja sadrži proteinski nosač i manje od 0,01% ProClin 300 i/ili manje od 0,5% ProClin 950 kao konzervans. Pogledajte Sigurnosno-tehnički list za dodatne pojedinosti.

Potrebni materijali i reagensi koji nisu isporučeni:

Mikroskopska stakalca, pozitivno nabijena

Pozitivne i negativne kontrole tkiva

Pustinjska komora* ili slična pećnica za sušenje (opcionalno)

Ksilen ili zamjena za ksilen

Etanol ili reagens alkohol

Komora za skidanje presvlake* ili sličan ekspres lonac (opcionalno)

Deionizirana ili destilirana voda

Pufer za pranje*

Reagensi za prethodnu obradu* (nije obavezno)

Enzimska probava* (nije obavezno)

Blok peroksidaze*

Proteinski blok* (opcionalno)

Komplet za blokiranje avidin-biotina

Primarno antitijelo*

Oznaka streptavidina*

Reagensi negativne kontrole*

Kromogeni*

Hematoksilin* (kontrabojenje)

Reagens za plavljenje*

Medij za montažu*

Pokriveno staklo

Svjetlosni mikroskop (40-400X povećanje)

* Biocare Medical Products: Za informacije o kataloškim brojevima i naručivanju pogledajte web stranicu Biocare Medical koja se nalazi na <http://biocare.net>. Određeni gore navedeni reagensi temelje se na specifičnoj primjeni i korištenom sustavu detekcije.

Skladištenje i stabilnost:

Čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C. Proizvod je stabilan do datuma isteka roka valjanosti otisnutog na naljepnici bočice kada se čuva pod ovim uvjetima. Ne koristiti nakon isteka roka valjanosti. Mora se provjeriti skladištenje pod bilo kojim uvjetima osim navedenih. Reagens(i) kompleta je spreman za upotrebu i ne smije se razrjeđivati. Biocare nije utvrdio stabilnost reagensa razrijedjenog korisnikom.

Pozitivne i negativne kontrole treba provesti istovremeno sa svim uzorcima pacijenata. Ako se primijeti neočekivano bojenje koje se ne može objasniti varijacijama u laboratorijskim postupcima i ako se sumnja na problem s antitijelima, obratite se Biocareovoj tehničkoj podršci na 1-800-542-2002 ili putem informacija o tehničkoj podršci na biocare.net.

Priprema uzorka:

Maramice fiksirane u formalinu prikladne su za upotrebu prije ugradnje u parafin. Koštana tkiva treba dekalcificirati prije obrade tkiva kako bi se olakšalo rezanje tkiva i spriječilo oštećenje oštrica mikrotoma.^{1,2}

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Croatian

BIOCARE
MEDICAL

Ispravno fiksirana i ugrađena tkiva koja eksprimiraju specifirani ciljni antigen trebaju biti pohranjena na hladnom mjestu. Zakon o poboljšanju kliničkog laboratorija (CLIA) iz 1988. zahtijeva u 42 CFR§493.1259(b) da „Laboratorij mora čuvati obojena stakalca najmanje deset godina od datuma ispitivanje i čuvati blokove uzoraka najmanje dvije godine od datuma ispitivanja.”³

Obrada tkiva prije bojenja:

Provode topinski inducirano vraćanje epitopa (HIER) prema dolje preporučenom protokolu. Pokazalo se da rutinska uporaba HIER-a prije IHC-a smanjuje nedosljednost i standardizira bojenje.^{4,5}

Upozorenje i mjere opreza:

1. Komplet reagensa sadrži manje od <0,05% ProClin 300 i/ili manje od 1% 950> Nosite rukavice i zaštitnu odjeću i poduzmite razumne mjere opreza pri rukovanju jer je ProClin klasificiran kao nadražujući i može izazvati preosjetljivost u dodiru s kožom. Izbjegavajte kontakt s očima, kožom i sluznicom.
2. Rukujte materijalima ljudskog ili životinjskog podrijetla kao potencijalno biološki opasnim i odlazite takve materijale uz odgovarajuće mjere opreza. U slučaju izlaganja, slijedite zdravstvene upute nadležnih tijela gdje se upotrebljava.^{6,7}
3. Uzorcima, prije i nakon fiksacije, i svim materijalima koji su im bili izloženi treba rukovati kao da mogu prenijeti infekciju i treba ih zbrinuti uz odgovarajuće mjere opreza. Nikada nemojte pipetirati reagens u ustima i izbjegavajte kontakt kože i sluznice s reagensima i uzorcima. Ako reagensi ili uzori dođu u dodir s osjetljivim područjima, operite ih velikom količinom vode.⁸
4. Mikrobnja kontaminacija reagensa može rezultirati povećanjem nespecifičnog bojenja.
5. Vremena inkubacije ili temperature koje nisu navedene mogu dati pogrešne rezultate. Korisnik mora potvrditi svaku takvu promjenu.
6. Nemojte koristiti reagens nakon isteka roka valjanosti otisnutog na bočici.
7. Reagensi kompleta za detekciju mikropolimera optimizirani su i spremni za upotrebu s Biocare antitijelima i pomoćnim reagensima. Za preporučene protokole i uvjete za upotrebu pogledajte upute za uporabu primarnog protutijela i drugih pomoćnih reagensa.
8. Slijedite zahtjeve lokalnih i/ili državnih vlasti za način zbrinjavanja.
9. STL je dostupan na zahtjev i nalazi se na <http://biocare.net>.
10. Prijavite sve ozbiljne incidente povezane s ovim uređajem kontaktiranjem lokalnog predstavnika tvrtke Biocare i odgovarajućeg nadležnog tijela države članice ili zemlje u kojoj se korisnik nalazi.

Upute za korištenje:

Reagensi kompleta za detekciju mikropolimera optimizirani su i spremni za upotrebu s Biocare antitijelima i pomoćnim reagensima. Za preporučene protokole i uvjete za upotrebu pogledajte upute za uporabu primarnog protutijela i drugih pomoćnih reagensa. Vrijeme inkubacije i temperature varirat će ovisno o protokolu s određenim antitijelima.

Kada koristite automatizirani instrument za bojenje, provjerite radne parametre u posebnom priručniku za rukovanje instrumentom i uputama za uporabu.

Opći proceduralni koraci za izvođenje IHC:

1. Deparafinizacija: Deparafinizirajte stakalca u Slide Brite ili ksilenu. Hidrat klizi u nizu stupnjevanih alkohola u vodu.
2. Peroxide Block: Blokirajte 5 minuta s Peroxidized 1.
3. Otopina/protokol za predtretman: Molimo pogledajte odgovarajući list s podacima o primarnim antitijelima za preporučenu otopinu i protokol za predtretman.
5. Avidin Block: Inkubirajte 10-20 minuta na sobnoj temperaturi s Biocareovim Avidinom.

6. Biotinski blok: Inkubirajte 10-20 minuta na sobnoj temperaturi s Biocareovim biotinom.
7. Proteinski blok (izborni): Inkubirajte 10-15 minuta na sobnoj temperaturi (RT) s Background Sniperom.
8. Primarno protutijelo: Molimo pogledajte odgovarajući list s podacima o primarnim protutijelima za vrijeme inkubacije.
9. Link: Inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi s 4plus Biotinylated Link.
10. Oznaka: Inkubirajte 10-20 minuta na sobnoj temperaturi s 4plus Streptavidin HRP ili Streptavidin AP Label.
11. Chromogen: Inkubirajte 10-20 minuta na sobnoj temperaturi s Biocare DAB ili inkubirajte 5-7 minuta na sobnoj temperaturi s Warp Red.
12. Kontrabojenje: Kontrabojenje hematoksilinom. Isprati deioniziranom vodom. Nanesite Tachinu Bluing otopinu na 1 minutu. Isprati deioniziranom vodom.

Tehničke napomene:

1. Koristite TBS za korake pranja.

Kontrola kvalitete:

Pogledajte standarde kvalitete CLSI za dizajn i provedbu imunohistokemijskih testova; Odobrene smjernice-drugo izdanje (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA SAD (www.clsi.org). 2011⁹

Pozitivna kontrola tkiva:

Materijali za vanjsku pozitivnu kontrolu trebaju biti sveži uzorci fiksirani, obrađeni i ugrađeni što je prije moguće na isti način kao i uzorci pacijenata. Pozitivne kontrole tkiva indikativne su za pravilno pripremljena tkiva i pravilne tehnike bojenja. Jedna pozitivna vanjska kontrola tkiva za svaki niz uvjeta ispitivanja treba biti uključena u svako bojenje.

Tkiva koja se koriste za materijale za vanjsku pozitivnu kontrolu trebaju se odabrati iz uzorka pacijenata s dobro karakteriziranim niskim razinama pozitivne ciljne aktivnosti koja daje slabo pozitivno bojenje. Niska razina pozitivnosti za vanjske pozitivne kontrole dizajnirana je tako da osigura otkrivanje suptilnih promjena u primarnoj osjetljivosti antitijela zbog nestabilnosti ili problema s IHC metodologijom. Komercijalno dostupna kontrolna stakalca tkiva ili uzorci obrađeni na drugačiji način od uzorka(a) pacijenta potvrđuju samo učinkovitost reagensa, a ne potvrđuju pripremu tkiva.

Poznate pozitivne kontrole tkiva trebale bi se koristiti samo za praćenje ispravne učinkovitosti obrađenih tkiva i testnih reagensa, a ne kao pomoć u formulirajući specifične dijagnoze uzorka pacijenata. Ako pozitivne kontrole tkiva ne pokažu pozitivno bojenje, rezultate testnih uzorka treba smatrati nevažećima.

Negativna kontrola tkiva:

Upotrijebite negativnu kontrolu tkiva fiksiranu, obrađenu i ugradenu na način identičan uzorcima pacijenta sa svakim bojenjem kako biste potvrdili specifičnost IHC primarnog protutijela za demonstraciju ciljnog antigaena i davanje indikacije specifičnog pozadinskog bojenja (lažno pozitivno bojenje). Također, raznolikost različitih tipova stanica prisutnih u većini dijelova tkiva može koristiti ih laboratorij kao mesta interne negativne kontrole za provjeru rada IHC-a tehnički podaci. Vrste i izvori uzorka koji se mogu koristiti za negativno tkivo kontrole su navedene u odjeljku Karakteristike izvedbe.

Ako dođe do specifičnog bojenja (lažno pozitivno bojenje) u negativnoj kontroli tkiva, rezultate s uzorcima pacijenata treba smatrati nevažećima.

Nespecifična negativna kontrola reagensa:

Upotrijebite nespecifičnu negativnu kontrolu reagensa umjesto primarnog protutijela s dijelom svakog pacijentovog uzorka za procjenu nespecifičnog bojenja i

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Croatian

BIOCARE
MEDICAL

omogućuju bolje tumačenje specifičnog bojenja na mjestu antigena. U idealnom slučaju, negativna kontrola reagensa sadrži proizvedeno i pripremljeno protutijelo (tj. razrijedeno na istu koncentraciju pomoći istog razrjeđivača) za upotrebu na isti način kao primarno protutijelo, ali ne pokazuje specifičnu reaktivnost s ljudskim tkivima u istoj matrici/otopini kao Biocare protutijelo. Sam razrjeđivač može se koristiti kao manje poželjna alternativa prethodno opisanim negativnim kontrolama reagensa. Razdoblje inkubacije za negativnu kontrolu reagensa treba odgovarati onom primarnog protutijela.

Kada se paneli nekoliko protutijela koriste na serijskim presjecima, negativno obojena područja jednog stakalca mogu poslužiti kao negativna/nespecifična pozadinska kontrola za druga protutijela. Kako bi se razlikovala endogena aktivnost enzima ili nespecifično vezanje enzima od specifične imunoreaktivnosti, dodatna tkiva bolesnika mogu se obojiti isključivo supstrat-kromogenom ili enzimskim kompleksima (PAP, avidin-biotin, streptavidin) odnosno supstrat-kromogenom.

Provjera testa:

Prije početne upotrebe antitijela ili sustava bojenja u dijagnostičkom postupku, korisnik bi trebao potvrditi specifičnost antitijela testiranjem na nizu internih tkiva s poznatim karakteristikama imunohistokemijske učinkovitosti koja predstavljaju poznata pozitivna i negativna tkiva. Pogledajte postupke kontrole kvalitete prethodno navedene u ovom odjeljku uputa za proizvod i preporuke za kontrolu kvalitete CAP programa certifikacije¹⁰ za imunohistokemiju i/ili NCCLS IHC smjernice¹¹. Ove postupke kontrole kvalitete treba ponoviti za svaku novu seriju antitijela ili kad god dođe do promjene parametara testa. Tkiva navedena u odjeljku Karakteristike izvedbe prikladna su za provjeru analize.

Rješavanje problema:

Slijedite preporuke protokola specifičnih za antitijela u skladu s dostavljenom podatkovnom tablicom. Ako dođe do netipičnih rezultata, kontaktirajte Biocare tehničku podršku na 1-800-542-2002.

Tumačenje bojenja:

4plus biotinilirani kozji anti-mišji IgG proizvodi reakciju smeđe (HRP) ili crvene (AP) boje na mjestima antiga lokaliziranim primarnim antitijelima. Prije tumačenja rezultata pacijenta, bojenje kontrola mora procijeniti kvalificirani patolog. Negativne kontrole se procjenjuju i uspoređuju s obojenim stakalcima kako bi se osiguralo da uočeno bojenje nije rezultat nespecifičnih interakcija.

Pozitivna kontrola tkiva:

Prvo treba ispitati pozitivnu kontrolu tkiva obojenu navedenim protutijelima kako bi se utvrdilo da svi reagensi ispravno funkcionišu. Odgovarajuće bojenje ciljnih stanica (kako je gore navedeno) pokazatelj je pozitivne reaktivnosti. Ako pozitivne kontrole tkiva ne pokažu pozitivno bojenje, sve rezultate s ispitnim uzorcima treba smatrati nevažećima.

Boja produkta reakcije može varirati ovisno o korištenim kromogenima supstrata. Za očekivane reakcije boja pogledajte upute za pakiranje supstrata. Nadalje, metakromazija se može uočiti u varijacijama metode bojenja.¹² Kada se koristi protubojenje, ovisno o duljini inkubacije i jačini korištenog protubojanja, suprotno bojenje će rezultirati obojenjem staničnih jezgri. Pretjerano ili nepotpuno kontrastno bojenje može ugroziti pravilno tumačenje rezultata. Pogledajte protokol(e) za preporučeno kontrastno bojenje.

Negativna kontrola tkiva:

Negativnu kontrolu tkiva treba pregledati nakon pozitivne kontrole tkiva kako bi se potvrdila specifičnost obilježavanja ciljnog antiga primarnim protutijelom. Odsutnost specifičnog bojenja u negativnoj kontroli tkiva potvrđuje nedostatak unakrsne reaktivnosti protutijela na stanice/stanične

komponente. Ako dođe do specifičnog bojenja (lažno pozitivno bojenje) u negativnoj vanjskoj kontroli tkiva, rezultate uzorka s pacijenta treba smatrati nevažećima.

Nespecifično bojenje, ako je prisutno, obično ima difuzan izgled. Sporadično bojenje vezivnog tkiva također se može primijetiti u dijelovima tkiva koji su previše fiksirani formalinom. Koristite intaktnе stanice za tumačenje rezultata bojenja. Nekrotične ili degenerirane stanice često se boje nespecifično.

Tkivo pacijenta:

Pregledajte uzorce pacijenata obojene navedenim protutijelima posljednji. Intenzitet pozitivnog bojenja treba procijeniti u kontekstu bilo kojeg nespecifičnog pozadinskog bojenja negativne kontrole reagensa. Kao i kod svakog imunohistokemijskog testa, negativan rezultat znači da antigen nije otvoren, a ne da antigen nije bio prisutan u testiranim stanicama/tkivu. Ako je potrebno, upotrijebite panel protutijela za identifikaciju lažno negativnih reakcija.

Pogledajte Sažetak i objašnjenje, Ograničenja i Radne karakteristike za specifične informacije u vezi s indiciranim imunoreaktivnošću protutijela.

Ograničenja:

Opća ograničenja:

1. *Zain vitro* dijagnostička (IVD) upotreba
2. Ovaj proizvod je samo za profesionalnu upotrebu: Imunohistokemija je višestupanjski dijagnostički proces koji se sastoji od specijalizirane obuke u odabiru odgovarajućih reagensa; selekcija, fiksacija i obrada tkiva; priprema IHC stakalca; i tumačenje rezultata bojenja.
3. Za korištenje samo prema liječničkom receptu. (Samo Rx)
4. Bojanje tkiva ovisi o rukovanju i obradi tkiva prije bojenja. Neodgovarajuće fiksiranje, zamrzavanje, odmrzavanje, pranje, sušenje, zagrijavanje, rezanje ili kontaminacija drugim tkivima ili tekućinama može proizvesti artefakte, hvatanje antitijela ili lažno negativne rezultate. Nedosljedni rezultati mogu biti posljedica varijacija u metodama fiksacije i ugradnje ili inherentnih nepravilnosti unutar tkiva.¹³
5. Pretjerano ili nepotpuno kontrastno bojenje može ugroziti pravilno tumačenje rezultata.
6. Kliničku interpretaciju bilo kojeg pozitivnog ili negativnog bojenja treba procijeniti u kontekstu kliničke slike, morfologije i drugih histopatoloških kriterija. Kliničku interpretaciju bilo kojeg pozitivnog ili negativnog bojenja treba nadopuniti morfološkim studijama uz korištenje odgovarajućih pozitivnih i negativnih unutarnjih i vanjskih kontrola, kao i drugih dijagnostičkih testova. Odgovornost je kvalificiranog patologa koji je upoznat s pravilnom upotrebom IHC protutijela, reagensa i metoda za tumačenje svih koraka korištenih za pripremu i tumačenje konačnog IHC pripravka.
7. Optimalni protokoli za određenu aplikaciju mogu varirati. To uključuje, ali nije ograničeno na fiksaciju, metodu povrata topline, vrijeme inkubacije, razrjeđivanje antitijela, deblijnu presjeka tkiva i korišteni pribor za otkrivanje. Za preporučene protokole i uvjete za upotrebu pogledajte upute za uporabu primarnog protutijela i drugih pomoćnih reagensa. Preporuke i protokoli u podatkovnom listu temelje se na isključivoj uporabi Biocare proizvoda. U konačnici, odgovornost je istraživača da odredi optimalne uvjete.
8. Ovaj proizvod nije namijenjen za upotrebu u protočnoj citometriji. Radne karakteristike nisu utvrđene za protočnu citometriju.
9. Tkiva osoba zaraženih virusom hepatitisa B i koja sadrže površinski antigen hepatitisa B (HBsAg) mogu pokazivati nespecifično obojenje peroksidasom hrena.¹⁴
10. Reagensi mogu pokazati neočekivane reakcije u prethodno netestiranim tkivima. Mogućnost neočekivanih reakcija čak ni u ispitivanim skupinama tkiva ne može se u potpunosti eliminirati zbog biološke varijabilnosti ekspresije antiga u novotvorinama, odnosno drugim

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

20/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Croatian

BIOCARE
MEDICAL

- patološkim tkivima.¹⁵ Obratite se Biocare tehničkoj podršci na 1-800-542-2002 ili putem informacija o tehničkoj podršci na biocare.net, uz dokumentirane neočekivane reakcije.
11. Normalni/neimuni serumi iz istog životinjskog izvora kao i sekundarni antiserumi korišteni u koracima blokiranja mogu izazvati lažno negativne ili lažno pozitivne rezultate zbog autoantitijela ili prirodnih antitijela.
 12. Lažno pozitivni rezultati mogu se vidjeti zbog neimunološkog vezanja proteina ili proizvoda reakcije supstrata. Također mogu biti uzrokovanе aktivnoću pseudo peroksidaze (eritrociti), endogenom aktivnoću peroksidaze (citokrom C) ili endogenim biotinom (npr. jetra, dojka, mozar, bubreg) ovisno o vrsti korištenog imunološkog bojenja.¹³
 13. Negativan rezultat znači da antigen nije detektiran, a ne da antigen nije bio prisutan u ispitivanim stanicama ili tkivu.

Specifična ograničenja proizvoda:

Nema dodatnih specifičnih ograničenja proizvoda.

Karakteristike izvedbe:

Bojanje je provedeno korištenjem protokola navedenih u uputama za uporabu specifičnih za antitijela ili kako je navedeno. Osjetljivost i specifičnost bojenja procijenjena je u nizu tipova normalnih i neoplastičnih tkiva procijenjenih tijekom razvoja primarnih protutijela.

Ponovljivost:

Ponovljivost Biocareovih sustava detekcije i reagensa sustava potvrđena je mjerjenjem srednje preciznosti u kojem su različite serije reagensa testirane tijekom duljeg vremenskog razdoblja korištenjem različitih operatera, analitičara, serija reagensa, uzorka tkiva i opreme. Bojanje dobiveno za svaki procijenjeni reagens za detekciju bilo je dosljedno i izvedeno prema očekivanjima.

Rješavanje problema:

1. Nema bojanja niti na jednom predmetnom stakalcu – Provjerite jesu li korištena odgovarajuća pozitivna kontrola tkiva, antitijela i proizvoda za otkrivanje. Provjerite postoji li nepotpuno ili nepravilno uklanjanje ili prethodna obrada voska.
2. Slabo bojenje svih stakalca – Provjerite je li korišteno odgovarajuće tkivo pozitivne kontrole, antitijela i proizvodi za otkrivanje.
3. Prevelika pozadina svih stakalca – Mogu postojati visoke razine endogenog biotina (ako se koriste proizvodi za detekciju na bazi biotina), endogena HRP aktivnost koja pretvara kromogen u obojeni krajni proizvod (koristite blok peroksidaze) ili prekomjerna nespecifična interakcija proteina (koristite protein blok, kao što je otopina za blokiranje na bazi seruma ili kazeina).
4. Dijelovi tkiva ispiru se sa stakalca tijekom inkubacije – Provjerite stakalca kako biste bili sigurni da su pozitivno nabijena.
5. Specifično bojenje pretamno – Provjerite protokol kako biste utvrdili je li na stakalcu primijenjen ispravan titar protutijela, kao i ispravna vremena inkubacije za sve reagense. Osim toga, osigurajte da protokol ima dovoljno koraka ispiranja za uklanjanje viška reagensa nakon završetka koraka inkubacije.

Reference:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.

5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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 Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

21/116



TP v3 (12/15/2021)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Czech

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Zamýšlené použití:

Pro *in vitro* Diagnostické použití

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG je určen pro použití v manuálních nebo automatických imunohistochemických (IHC) protokolech barvení pomocí dvoukrokové aplikací konjugátu streptavidinu a křenové peroxidázy (HRP) nebo alkalické fosfatasy (AP). Tato detekce streptavidinu-konjugátu je navržena pro detekci myších primárních protilátek IgG navazaných na cílové antigeny v tkáních fixovaných ve formalíně, zalitých v parafínu (FFPE) během procesu barvení IHC. Klinická interpretace jakéhokoli zbarvení nebo jeho nepřítomnosti by měla být doplněna morfologickými studiemi a řádnými kontrolami a měla by být vyhodnocena v kontextu pacientovy klinické anamnézy a dalších diagnostických testů kvalifikovaným patologem.

Shrnutí a vysvětlení:

The 4plus Biotinylovaný koží anti-myši IgG je navržen pomocí dvoustupňové metody pro detekci myších primárních protilátek za vzniku komplexu protilátko-enzymu. Tento komplex je poté vizualizován pomocí vhodného substrátu/chromogenu. Ve dvoustupňové metodě je sekundární protilátku biotinylovaná a následně je aplikován další enzymem značený streptavidinem. Dvoustupňová metoda je navržena pro zesílení detekce v případech málo exprimujících antigenů.

Tato biotinylovaná protilátku reaguje s těžkými a lehkými řetězci na myším IgG. Je adsorbován proti koním, skotu a lidem. Reaguje se všemi myšími podtypy IgG a myšími IgM. Byl afinitně purifikován s minimální zkříženou reakcí na lidské, hovězí a koňské sérové proteiny. Mezi biotin a sekundární protilátku bylo umístěno dlouhé distanční rameno, aby se zvýšila citlivost při spojení s konjugáty streptavidinu. 4plus Biotinylovaný koží anti-myši IgG lze použít buď se streptavidinovou křenovou peroxidázou, nebo s detekčními systémy streptavidinové alkalické fosfatasy.

Princip postupu:

Tuto mikropolymerní detekční soupravu lze použít při imunohistochemickém testování tkáňových řezů fixovaných ve formalíně a zalitých v parafínu. Obecně platí, že imunohistochemické (IHC) techniky barvení umožňují vizualizaci antigenů prostřednictvím sekvenční aplikace a specifická protilátku k antigenu (primární protilátku), sekundární protilátku k primární protilátkce (volitelná vazba protilátku/sonda), enzymový komplex a chromogenní substrát s vloženými promývacími kroky. Enzymatická aktivace chromogenu vede k viditelnému reakčnímu produktu v místě antigenu. Vzorek pak může být kontrastně obarven a zakryt krycím skločkem. Výsledky jsou interpretovány pomocí světla mikroskop a pomůckou při diferenciální diagnostice patofyziologických procesů, které mohou popř nemusí být spojen s konkrétním antigenem.

Materiály a metody:

Dodávaná činidla:

Katalogové číslo sady	Katalogové č.	Popis součásti	Množství x Objem
GM601H	GM601H	4plus Biotinylovaný koží anti-myši IgG	1 x 25 ml

Rekonstituce, míchání, ředění, titrace:

Činidla detekční soupravy na bázi streptavidinu jsou optimalizována a připravena k použití s protilátkami Biocare a pomocnými činidly. Není nutná zádná rekonstituce, míchání, ředění nebo titrace.

Známé aplikace:

Imunohistochemie (tkáně zalité v parafínu fixované formalínem)

Druhová reaktivita:

Myší IgG těžké a lehké řetězce

Dodáváno jako:

Puťovaný fyziologický roztok, pH 7,2-7,4, obsahující proteinový nosič a méně než 0,01 % ProClin 300 a/nebo méně než 0,5 % ProClin 950 jako konzervační prostředek. Další podrobnosti viz Bezpečnostní list.

Potřebné materiály a činidla, které nejsou součástí dodávky:

Mikroskopická sklička, kladně nabité

Pozitivní a negativní tkáňové kontroly

Pouštní komora* nebo podobná Sušicí pec (volitelně)

Xylen nebo náhrada xylenu

Ethanol nebo reagenční alkohol

Decloaking Chamber* nebo podobný tlakový hrnec (volitelně)

Deionizovaná nebo destilovaná voda

Promývací pufr*

Činidla pro předúpravu* (volitelné)

Enzymové trávení* (volitelné)

Peroxidázový blok*

Proteinový blok* (volitelné)

Avidin-Biotin Blocking Kit

Primární protilátku*

Označení streptavidin*

Negativní kontrolní činidla*

Chromogeny*

Hematoxylin* (kontrabarva)

Blueingovo čindilo*

Montážní médium*

Krycí sklo

Světelný mikroskop (40-400x zvětšení)

* Biocare Medical Products: Informace týkající se katalogových čísel a objednávek naleznete na webových stránkách Biocare Medical na adrese <http://biocare.net>. Některá výše uvedená činidla jsou založena na specifické aplikaci a použití detekčním systému.

Skladování a stabilita:

Skladujte při teplotě 2°C až 8°C. Při skladování za těchto podmínek je přípravek stabilní do data expirace vytištěného na štítku lahvičky. Nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti. Skladování za jakýchkoliv jiných než uvedených podmínek musí být ověřeno. Činidla soupravy jsou připravena k použití a neměla by se ředit. Stabilita uživateli naředěného činidla nebyla společností Biocare stanovena.

Pozitivní a negativní kontroly by měly být prováděny současně se všemi vzorky pacientů. Pokud zpozorujete neočekávané zbarvení, které nelze vysvětlit odchylkami v laboratorních postupech, a máte podezření na problém s protilátkou, kontaktujte technickou podporu společnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002 nebo prostřednictvím informací o technické podpoře na webu biocare.net.

Příprava vzorku:

Tkáně fixované ve formalíně jsou vhodné pro použití před zalitím parafínum. Kostní tkáň by měla být před zpracováním tkáň odvápněny, aby se usnadnilo řezání tkáni a zabránilo se poškození čepelí mikrotomu.^{1,2}

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

22/116



TP v3 (12/15/2021)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Czech

Správně fixované a zapuštěné tkáně exprimující specifikovaný cílový antigen by měly být skladovány na chladném místě. Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) z roku 1988 vyžaduje v 42 CFR§493.1259(b), že „Laborator musí uchovávat obarvená sklíčka nejméně deset let od data vyšetření a uchovávat bloky vzorků nejméně dva roky od data vyšetření.“³

Ošetření tkání před barvením:

Provedte Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) podle doporučeného protokolu níže. Ukázalo se, že rutinní použití HIER před IHC minimalizuje nekonzistenci a standardizuje barvení.^{4,5}

Upozornění a bezpečnostní opatření:

1. Činidla soupravy obsahují méně než <0,05 % ProClin 300 a/nebo méně než 1 % 950. Při manipulaci používejte rukavice a ochranný oděv a přijměte přiměřená opatření, protože ProClin je klasifikován jako dráždivý a může způsobit senzibilizaci při styku s kůží. Zabraňte kontaktu s očima, kůží a sliznicemi.
2. Zacházejte s materiály lidského nebo zvířecího původu jako s potenciálně biologicky nebezpečnými a likvidujte je s náležitými opatřeními. V případě expozice se řídte zdravotními směrnicemi odpovědných úřadů, kde byly použity.^{6,7}
3. Se vzorky před a po fixaci a se všemi materiály, které jim byly vystaveny, by se mělo zacházet jako s těmi, které mohou přenášet infekci, a likvidujte je podle náležitých opatření. Nikdy nepipete reagence ústy a vyhněte se kontaktu kůže a sliznic s reagenciami a vzorky. Pokud se činidla nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody.⁸
4. Mikrobiální kontaminace reagencí může vést ke zvýšení nespecifického zbarvení.
5. Jiné než specifikované doby inkubace nebo teploty mohou vést k chybám výsledkům. Uživatel musí každou takovou změnu potvrdit.
6. Nepoužívejte činidlo po uplynutí doby použitelnosti vytíštěné na lahvičce.
7. Činidla mikropolymerové detekční soupravy jsou optimalizována a připravena k použití s protilátkami Biocare a pomocnými činidly. Doporučené protokoly a podmínky použití naleznete v pokynech k použití primární protilátky a dalších pomocných činidel.
8. Dodržujte požadavky místních a/nebo státních úřadů na způsob likvidace.
9. Bezpečnostní list je k dispozici na vyžádání a je umístěn na adrese <http://biocare.net>.
10. Oznamte jakékoli vážné incidenty související s tímto zařízením kontaktováním místního zástupce společnosti Biocare a příslušného úřadu českého státu nebo země, kde se uživatel nachází.

Návod k použití:

Činidla soupravy pro detekci mikropolymerů jsou optimalizována a připravena k použití s protilátkami Biocare a pomocnými činidly. Doporučené protokoly a podmínky použití naleznete v pokynech k použití primární protilátky a dalších pomocných činidel. Inkubační doba a teploty se budou lišit v závislosti na specifickém protokolu protilátek.

Při použití automatického barvícího přístroje si provozní parametry prostudujte v návodu k obsluze konkrétního přístroje a v návodu k použití.

Obecné procedurální kroky pro provádění IHC:

1. Deparafinizace: Deparafinizujte sklíčka pomocí Slide Brite nebo xylenu. Hydratujte sklíčka v sérii odstupňovaných alkoholů do vody.
2. Peroxidový blok: Blokujte 5 minut pomocí Peroxidized 1.
3. Roztok/protokol pro předběžnou úpravu: Doporučený roztok a protokol pro předúpravu naleznete v příslušném datovém listu primární protilátky.
5. Blokování avidinu: Inkubujte 10–20 minut při teplotě místnosti s Avidinem od Biocare.
6. Biotinový blok: Inkubujte 10–20 minut při teplotě místnosti s biotinem Biocare.

BIOCARE
MEDICAL

7. Proteinový blok (volitelně): Inkubujte 10–15 minut při pokojové teplotě (RT) s odstřelovačem pozadí.

8. Primární protilátka: Inkubační dobu naleznete v příslušném datovém listu primární protilátky.

9. Spoj: Inkubujte 10 minut při teplotě místnosti s 4plus Biotinylated Link.

10. Označení: Inkubujte 10–20 minut při teplotě místnosti s 4plus Streptavidin HRP nebo Streptavidin AP Label.

11. Chromogen: Inkubujte 10–20 minut při teplotě místnosti s Biocare's DAB nebo inkubujte 5–7 minut při teplotě místnosti s Warp Red.

12. Kontrabarva: Kontrabarva hematoxylinem. Opláchněte deionizovanou vodou. Aplikujte Tacha's Blueing Solution na 1 minutu. Opláchněte deionizovanou vodou.

Technické poznámky:

1. Pro promývací kroky použijte TBS.

Kontrola kvality:

Viz standary kvality CLSI pro návrh a implementaci imunohistochemických testů; Schwálená směrnice – druhé vydání (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁹

Pozitivní tkáňová kontrola:

Materiály pro externí pozitivní kontrolu by měly být čerstvé vzorky fixované, zpracované a zalité co nejdříve stejným způsobem jako vzorky pacienta. Pozitivní tkáňové kontroly ukazují na správně připravené tkáň a správné techniky barvení. V každém cyklu barvení by měla být zahrnuta jedna pozitivní externí tkáňová kontrola pro každou sadu testovacích podmínek.

Tkáně použité pro externí materiály pro pozitivní kontrolu by měly být vybrány ze vzorků pacientů s dobře charakterizovanou nízkou úrovni pozitivní cílové aktivity, která poskytuje slabé pozitivní barvení. Nízká úroveň pozitivity pro externí pozitivní kontroly je navržena tak, aby zajistila detekci jemných změn citlivosti primárních protilátek z nestability nebo problémů s IHC metodikou. Komerčně dostupná tkáňová kontrolní sklíčka nebo vzorky zpracované odlišně od vzorku (vzorků) pacienta pouze ověřují účinnost reagencí a neověřují přípravu tkáně.

Známé pozitivní tkáňové kontroly by se měly používat pouze pro monitorování správného výkonu zpracovaných tkání a testovacích činidel, spíše než jako pomůcka při formulování specifické diagnózy vzorků pacientů. Pokud pozitivní tkáňové kontroly nevykazují pozitivní zbarvení, výsledky s testovacími vzorky by měly být považovány za neplatné.

Negativní tkáňová kontrola:

Použijte negativní tkáňovou kontrolu fixovanou, zpracovanou a zalitou stejným způsobem jako vzorek (vzorky) pacienta s každým barvením, abyste ověřili specifitu primární IHC protilátky pro prokázání cílového antigenu a poskytnutí indikace specifického barvení pozadí (falešně pozitivní barvení). Také může být rozmanitost různých typů buněk přítomných ve většině tkáňových řezů být používány laboratoří jako interní negativní kontrolní místa k ověření výkonu IHC Specifikace. Typy a zdroje vzorků, které lze použít pro negativní tkáň ovládající prvky jsou uvedeny v části Výkonové charakteristiky.

Pokud se u negativní tkáňové kontroly objeví specifické zbarvení (falešně pozitivní barvení), výsledky se vzorky pacienta by měly být považovány za neplatné.

Nespecifická kontrola negativních činidel:

Použijte nespecifickou negativní reagenční kontrolu místo primární protilátky s řezem každého vzorku pacienta k vyhodnocení nespecifického zbarvení a umožňují lepší interpretaci specifického zbarvení v místě antigenu. V ideálním případě negativní reagenční kontrola obsahuje protilátku vyrobenou a připravenou (tj. naředěnou na stejnou koncentraci za použití stejněho ředitla)

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

23/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Czech

pro použití stejným způsobem jako primární protilátka, ale nevykazuje žádnou specifickou reaktivitu s lidskými tkáněmi ve stejné matrici/roztoku jako protilátka Biocare. Samotné ředidlo může být použito jako méně žádoucí alternativa k dříve popsaným negativním reagenčním kontrolám. Inkubační doba pro negativní reagenční kontrolu by měla odpovídat inkubační době primární protilátky.

Když se na sériových řezech použijí panely několika protilátek, negativně barvené oblasti jednoho sklíčka mohou sloužit jako negativní/nespecifická vazebná kontrola pozadí pro jiné protilátky. Pro odlišení endogenní enzymové aktivity nebo nespecifické vazby enzymů od specifické imunoreaktivity mohou být další tkáně pacienta obarvené výhradně substrát-chromogen nebo komplexy enzymů (PAP, avidin-biotin, streptavidin) a substrát-chromogen, v daném pořadí.

Ověření testu:

Před prvním použitím protilátky nebo barvícího systému v diagnostickém postupu by měl uživatel ověřit specifitu protilátky testováním na řadě vlastních tkání se známými imunohistochemickými charakteristikami, které představují známé pozitivní a negativní tkáně. Viz postupy kontroly kvality dříve uvedené v této části příbalové informace k produktu a doporučení kontroly kvality certifikačního programu CAP¹⁰ pro imunohistochemii a/nebo doporučení NCCLS IHC¹¹. Tyto postupy kontroly kvality by se měly opakovat pro každou novou šárži protilátek nebo kdykoli dojde ke změně parametrů testu. Tkáně uvedené v části Výkonnostní charakteristiky jsou vhodné pro ověření testu.

Odstraňování problémů:

Dodržujte doporučení specifického protokolu protilátek podle dodaného datového listu. Pokud se objeví atypické výsledky, kontaktujte technickou podporu Biocare na čísle 1-800-542-2002.

Interpretace barvení:

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG vytváří hnědou (HRP) nebo červenou (AP) barevnou reakci na místech antigenu lokalizovaných primární protilátkou. Před interpretací výsledků pacienta musí barvení kontrol vyhodnotit kvalifikovaný patolog. Negativní kontroly se vyhodnotí a porovnají s obarvenými sklíčky, aby se zajistilo, že jakékoli pozorované zbarvení není výsledkem nespecifických interakcí.

Pozitivní tkáňová kontrola:

Pozitivní tkáňová kontrola obarvená indikovanou protilátkou by měla být nejprve vyšetřena, aby se zjistilo, že všechna činička fungují správně. Vhodné barvení cílových buněk (jak je uvedeno výše) svědčí o pozitivní reaktivitě. Pokud pozitivní tkáňové kontroly nevykazují pozitivní zbarvení, jakékoli výsledky s testovacími vzorky by měly být považovány za neplatné.

Barva reakčního produktu se může lišit v závislosti na použitých substrátových chromogenech. Očekávané barevné reakce najdete v příbalových informacích substrátu. Dále může být ve variantách způsobu barvení pozorována metachromázie.¹²

Když se použije kontrastní barvivo, v závislosti na délce inkubace a síle použitého kontrastního barviva, povede kontrastní barvivo ke zbarvení buněčných jader. Nadměrné nebo neúplné kontrastní barvení může ohrozit správnou interpretaci výsledků. Doporučené kontrastní barvivo viz protokol(y).

Negativní tkáňová kontrola:

Negativní tkáňová kontrola by měla být vyšetřena po pozitivní tkáňové kontrole, aby se ověřila specificita značení cílového antigenu primární protilátkou. Absence specifického barvení v negativní tkáňové kontrole potvrzuje nedostatek zkřížené reaktivity protilátek s buňkami/buněčnými složkami. Pokud se u negativní externí tkáňové kontroly objeví specifické

BIOCARE
MEDICAL

zbarvení (falešně pozitivní barvení), výsledky se vzorkem pacienta by měly být považovány za neplatné.

Nespecifické zbarvení, pokud je přítomno, má obvykle difúzní vzhled. Sporadické barvení pojivové tkáně lze také pozorovat v řezech z tkání nadměrně fixovaných formalinem. Pro interpretaci výsledků barvení použijte neporušené buňky. Nekrotické nebo degenerované buňky se často barví nespecificky.

Pacientská tkání:

Prohlédnete si vzorky pacientů obarvené indikovanou protilátkou poslední. Intenzita pozitivního zbarvení by měla být posouzena v kontextu jakéhokoli nespecifického zbarvení pozadí negativní kontroly reagencii. Jako u každého imunohistochemického testu negativní výsledek znamená, že antigen nebyl detekován, nikoli že antigen v testovaných buňkách/tkání chybí. V případě potřeby použijte panel protilátek k identifikaci falešně negativních reakcí.

Specifické informace týkající se indikované imunoreaktivity protilátek naleznete v části Souhrn a vysvělení, omezení a výkonnostní charakteristiky.

Omezení:

Obecná omezení:

1. *In vitro* diagnostické (IVD) Použití
2. Tento produkt je určen pouze pro profesionální použití: Imunohistochemie je vícestupňový diagnostický proces, který se skládá ze specializovaného školení ve výběru vhodných činiel; výběr, fixace a zpracování tkáně; příprava podložního sklíčka IHC; a interpretaci výsledků barvení.
3. Pro použití pouze na lékařský předpis. (Pouze Rx)
4. Barvení tkáně závisí na manipulaci a zpracování tkáně před barvením. Nesprávná fixace, zmrazování, rozmrazování, mytí, sušení, zahřívání, krájení nebo kontaminace jinými tkáněmi nebo tekutinami může způsobit artefakty, zachycení protilátek nebo falešně negativní výsledky. Nekonzistentní výsledky mohou být způsobeny odchylkami v metodách fixace a zálepání nebo přirozenými nepravidelnostmi v tkání.¹³
5. Nadměrné nebo neúplné kontrastní barvení může ohrozit správnou interpretaci výsledků.
6. Klinická interpretace jakéhokoli pozitivního nebo negativního zbarvení by měla být vyhodnocena v kontextu klinické prezentace, morfologie a dalších histopatologických kritérií. Klinická interpretace jakéhokoli pozitivního nebo negativního zbarvení by měla být doplněna morfologickými studiemi s použitím správných pozitivních a negativních interních a externích kontrol, jakož i dalších diagnostických testů. Je odpovědností kvalifikovaného patologa, který je obeznámen se správným použitím IHC protilátek, činiel a metod, aby interpretoval všechny kroky použité k přípravě a interpretaci konečného IHC přípravky.
7. Optimální protokoly pro konkrétní aplikaci se mohou lišit. Mezi ně patří mimo jiné fixace, metoda získávání tepla, inkubační doba, ředění protilátek, tloušťka řezu tkáně a použitá detekční souprava. Doporučené protokoly a podmínky použití naleznete v pokynech k použití primární protilátky a dalších pomocných činiel. Doporučení a protokoly datových listů jsou založeny na výhradním použití produktů Biocare. V konečném důsledku je odpovědností vyšetřovatele určit optimální podmínky.
8. Tento produkt není určen pro použití v průtokové cytometrii. Výkonnostní charakteristiky nebyly pro průtokovou cytometrii stanoveny.
9. Tkáně osob infikovaných virem hepatitidy B a obsahující povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg) mohou vykazovat nespecifické barvení křenovou peroxidázou.¹⁴
10. Reagencie mohou vykazovat neočekávané reakce v dříve netestovaných tkáních. Možnost neočekávaných reakcí i u testovaných

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

24/116

TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Czech

BIOCARE
MEDICAL

- skupin tkání nelze zcela eliminovat z důvodu biologické variability exprese antigenu v novotvarech nebo jiných patologických tkání.¹⁵ Kontaktujte technickou podporu společnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002 nebo prostřednictvím informací o technické podpoře uvedených na biocare.net se zdokumentovanými neočekávanými reakcemi.
11. Normální/neimunitní séra ze stejněho zvířecího zdroje jako sekundární antiséra použitá v blokovacích krocích mohou způsobit falešně negativní nebo falešně pozitivní výsledky v důsledku autoprotilátek nebo přirozených protilátek.
 12. Falešně pozitivní výsledky mohou být pozorovány v důsledku neimunologické vazby proteinů nebo produktů reakce substrátu. Mohou být také způsobeny pseudoperoxidázovou aktivitou (erytrocyty), endogenní peroxidázovou aktivitou (cytochrom C) nebo endogenním biotinem (např. játra, prsa, mozek, ledviny) v závislosti na typu použitého imunobarvení.¹³
 13. Negativní výsledek znamená, že antigen nebyl detekován, nikoli že antigen ve vyšetřovaných buňkách nebo tkání chyběl.

Specifická omezení produktu:

Žádná další specifická omezení produktu.

Výkonové charakteristiky:

Barvení bylo provedeno pomocí protokolů poskytnutých v pokynech pro použití specifických pro protilátku nebo jak je uvedeno. Citlivost a specificita barvení byla hodnocena v celé řadě normálních a neoplastických typů tkání hodnocených během vývoje primárních protilátek.

Reprodukčnost:

Reprodukčnost detekčních systémů a systémových reagencí Biocare je ověřena měřením střední přesnosti, při kterém byly různé šárže reagencí testovány po delší dobu pomocí různých operátorů, analytiků, šárží reagencí, vzorků tkání a vybavení. Barvení získané pro každé hodnocené detekční činidlo bylo konzistentní a provedlo se podle očekávání.

4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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 Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

Odstraňování problémů:

1. Žádné barvení sklíček – Zkontrolujte, zda byly použity vhodné pozitivní kontrolní tkáně, protilátky a detekční produkty. Zkontrolujte neúplné nebo nesprávné odstranění vosku nebo předúpravu.
2. Slabé zabarvení všech sklíček – Zkontrolujte, zda byly použity vhodné pozitivní kontrolní tkáně, protilátky a detekční produkty.
3. Nadměrné pozadí všech preparátů – Mohou existovat vysoké hladiny endogenního biotinu (pokud používáte detekční produkty na bázi biotinu), endogenní aktivita HRP přeměňující chromogen na barevný konečný produkt (použijte peroxidázový blok) nebo nadměrná nespecifická proteinová interakce (použijte protein blok, jako je blokovací roztok na bázi séra nebo kaseinu).
4. Tkáňové řezy smyjte sklíčka během inkubace – Zkontrolujte sklíčka, abyste se ujistili, že jsou kladně nabité.
5. Specifické barvení je příliš tmavé – Zkontrolujte protokol, abyste zjistili, zda byl na podložní sklíčko aplikován správný titr protilátek, a také správné inkubační doby pro všechna činidla. Dále zajistěte, aby protokol obsahoval dostatek promývacích kroků k odstranění přebytečných činidel po dokončení inkubačních kroků.

Reference:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

25/116



TP v3 (12/15/2021)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Danish

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Anvendelsesformål:

Til *in vitro* Diagnostisk brug

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG er beregnet til brug i enten manuel eller automatiseret immunhistokemi (IHC) farvningsprotokoller ved hjælp af en peberrodsperoxidase (HRP) eller alkalisk phosphatase (AP) streptavidin-konjugat to-trins påføringsmetode. Denne streptavidin-konjugatdetektion er designet til påvisning af primære muse-IgG-antistoffer bundet til måltantigen i det formalinfikserede, paraffinindlejrede (FFPE) væv under IHC-farvningsprocessen. Den kliniske fortolkning af enhver farvning eller dens fravær bør suppleres af morfologiske undersøgelser og korrekte kontroller og bør evalueres i sammenhæng med patientens kliniske historie og andre diagnostiske test af en kvalificeret patolog.

Sammenfatning og forklaring:

Det4plus biotinylerede gede anti-mus IgG er designet ved hjælp af en to-trins metode til påvisning af primære museantistoffer for at danne et antistof-enzymkompleks. Dette kompleks visualiseres derefter under anvendelse af et passende substrat/kromogen. I to-trinsmetoden biotinyleres det sekundære antistof, og et yderligere enzymmærket streptavidin påføres sekventielt. Totrinsmetoden er designet til at amplificere påvisningen i tilfælde af lavt udtrykkende antigener.

Dette biotinylerede antistof reagerer med tunge og lette kæder på muse-IgG. Det adsorberes mod heste, kvæg og mennesker. Det reagerer med alle muse-IgG-underklasser og muse-IgM. Det er blevet affinitetsopnæret med minimal krydsreaktion på humane, bovine og hesteserumproteiner. En lang afstandsarm er blevet placeret mellem biotinet og det sekundære antistof for at øge følsomheden, når det kobles med streptavidinkonjugater. 4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG kan bruges med enten streptavidin peberrodsperoxidase eller streptavidin alkalisk phosphatase detektionssystemer.

Procedureprincip:

Dette mikropolymerdetektionskit kan bruges til immunhistokemisk testning af formalinfikserede, paraffinindlejrede vævssnit. Generelt immunhistokemisk (IHC) farvningsteknikker muliggør visualisering af antigener via sekventiel påføring af en specifik antistof til antigenet (primært antistof), et sekundært antistof til det primære antistof (valgfrit link-antistof/probe), et enzymkompleks og et kromogenet substrat med indskudte vasketrin. Den enzymatiske aktivering af kromogenet resulterer i et synligt reaktionsprodukt på antigenestedet. Prøven kan derefter modfarves og dækglas. Resultater fortolkes ved hjælp af et lys mikroskop og hjælp til differentialdiagnose af patofisiologiske processer, som evt er muligvis ikke forbundet med et bestemt antigen.

Materialer og metoder:

Medfølgende reagenser:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Rekonstitution, blanding, fortynding, titrering:

Det/de streptavidin-baserede detektionskit-reagenser er optimeret og klar til brug med Biocare-antistoffer og hjælpereagenser. Ingen rekonstitution, blanding, fortynding eller titrering er påkrævet.

Kendte applikationer:

Immunhistokemi (formalinfixeret paraffinindlejret væv)

Artsreaktivitet:

Muse IgG tunge og lette kæder

Leveres som:

Bufret saltvandsopløsning, pH 7,2-7,4, indeholdende en proteinbærer og mindre end 0,01 % ProClin 300 og/eller mindre end 0,5 % ProClin 950 som konserveringsmiddel. Se sikkerhedsdatabladet for yderligere detaljer.

Nødvendige, men ikke medfølgende materialer og reagenser:

Mikroskopobjektglas, positivt ladede
Positive og negative vævskontroller
Desert Chamber* eller lignende tørreovn (valgfrit)
Xylen eller xylenesterstning
Ethanol eller reagens alkohol
Decloaking Chamber* eller lignende trykkoger (valgfrit)
Deioniseret eller destilleret vand
Vaskebuffer*
Forbehandlingsreagenser* (valgfrit)
Enzymfordøjelse* (valgfrit)
Peroxidaseblok*
Proteinblok* (valgfrit)
Avidin-Biotin Blocking Kit
Primært antistof*
Streptavidin-mærke*
Negative kontrolreagenser*
Kromogener*
Hæmatoxylin* (modfarvning)
Blåreagens*
Monteringsmedium*
Dækglas
Lysmikroskop (40-400X forstørrelse)

* Biocare Medical Products: Se Biocare Medicals websted på <http://biocare.net> for at få oplysninger om katalognumre og bestilling. Visse reagenser anført ovenfor er baseret på specifik anvendelse og det anvendte detektionssystem.

Opbevaring og stabilitet:

Opbevares ved 2°C til 8°C. Produktet er stabilt til den udløbsdato, der er trykt på hætteglasetiketten, når det opbevares under disse forhold. Må ikke bruges efter udløbsdatoen. Opbevaring under alle andre forhold end de specificerede skal verificeres. Kit-reagenserne er klar til brug og bør ikke fortyndes. Stabiliteten af brugerfortydet reagens er ikke blevet fastslået af Biocare.

Positive og negative kontroller skal køres samtidigt med alle patientprøver. Hvis der observeres uventet farvning, som ikke kan forklares med variationer i laboratorieprocedurer, og der er mistanke om et problem med antistoffet, skal du kontakte Biocares tekniske support på 1-800-542-2002 eller via den tekniske supportinformation, der findes på biocare.net.

Prøveforberedelse:

Væv fikseret i formalin er velegnede til brug før paraffinindstøbning. Ossøst væv bør afkalkes før vævsbehandling for at lette vævskæring og forhindre beskadigelse af mikrotomblade.^{1,2}

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

26/116



TP v3 (12/15/2021)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Danish

BIOCARE
MEDICAL

Korrekt fikserede og indlejrede væv, der udtrykker det specifiserede antigenmål, skal opbevares på et koldt sted. Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) fra 1988 kræver i 42 CFR§493.1259(b), at "Laboratoriet skal opbevare farvede objektglas mindst ti år fra datoen for undersøgelse og behold prøveblokke mindst to år fra eksamensdatoen."³

Behandling af væv før farvning:

Udfør Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) i henhold til den anbefalede protokol nedenfor. Den rutinemæssige brug af HIER før IHC har vist sig at minimere inkonsistens og standardisere farvning.^{4,5}

Advarsel og forholdsregler:

- Kit-reagenser indeholder mindre end <0,05 % ProClin 300 og/eller mindre end 1 % 950> Bær handsker og beskyttelsesøj og tag rimelige forholdsregler ved håndtering, da ProClin er klassificeret som irriterende og kan forårsage hudkontaktsensibilisering. Undgå kontakt med øjne, hud og slimhinder.
- Håndter materialer af menneskelig eller animalsk oprindelse som potentielt biofarlige og bortskaf sådanne materialer med passende forholdsregler. I tilfælde af eksponering, følg sundhedsdirektiverne fra de ansvarlige myndigheder, hvor det anvendes.^{6,7}
- Prøver, før og efter fiksering, og alle materialer, der udsættes for dem, skal håndteres, som om de er i stand til at overføre infektion og bortskaffes med passende forholdsregler. Pipettér aldrig reagenser gennem munden, og undgå at komme i kontakt med hud og slimhinder med reagenser og prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal du vaske med rigelige mængder vand.⁸
- Mikrobiel kontaminering af reagenser kan resultere i en stigning i uspecifik farvning.
- Andre inkubationstider eller temperaturer end de angivne kan give fejlafgjorte resultater. Brugeren skal validere enhver sådan ændring.
- Brug ikke reagens efter den udløbsdato, der er trykt på hætteglaset.
- Mikropolymerdetektionsreagenserne er optimeret og klar til brug med Biocare-antistoffer og hjælpereagenser. Se instruktionerne til det primære antistof og andre hjælpereagenser til brug for anbefalede protokoller og betingelser for brug.
- Følg lokale og/eller statslige myndigheders krav til bortskaffelsesmetode.
- SDS er tilgængeligt efter anmodning og er placeret på <http://biocare.net>.
- Rapporter alle alvorlige hændelser relateret til denne enhed ved at kontakte den lokale Biocare-repræsentant og den relevante kompetente myndighed i den medlemsstat eller det land, hvor brugeren befinner sig.

Brugsanvisning:

Mikropolymerdetektionsreagenserne er optimeret og klar til brug med Biocare-antistoffer og hjælpereagenser. Se instruktionerne til det primære antistof og andre hjælpereagenser til brug for anbefalede protokoller og betingelser for brug. Inkubationstider og temperaturer vil variere afhængigt af den specifikke antistofprotokol, der følges.

Når du bruger et automatiseret farningsinstrument, skal du se den specifikke betjeningsvejledning til instrumentet og brugsanvisningen for driftsparametre.

Generelle proceduremæssige trin til udførelse af IHC:

- Afparaffinering: Afparaffinér objektglassene i Slide Brite eller xylen. Hydrat objektglas i en række graderede alkoholer til vand.
- Peroxidblok: Bloker i 5 minutter med Peroxidized 1.
- Forbehandlingsopløsning/-protokol: Se venligst det respektive primære antistofdatablad for anbefalet forbehandlingsopløsning og protokol.
- Avidinblok: Inkuber i 10-20 minutter ved stuetemperatur med Biocares Avidin.
- Biotinblok: Inkuber i 10-20 minutter ved stuetemperatur med Biocares Biotin.

7. Proteinblok (valgfrit): Inkuber i 10-15 minutter ved stuetemperatur (RT) med Background Sniper.

8. Primært antistof: Se venligst det respektive primære antistofdatablad for inkubationstid.

9. Link: Inkuber i 10 minutter ved stuetemperatur med 4plus Biotinylated Link.

10. Etiket: Inkuber i 10-20 minutter ved stuetemperatur med 4plus Streptavidin HRP eller Streptavidin AP Label.

11. Chromogen: Inkuber i 10-20 minutter ved RT med Biocares DAB eller inkuber i 5-7 minutter ved RT med Warp Red.

12. Modfarvning: Modfarvning med hämatoxilin. Skyl med deioniseret vand. Påfør Tacha's Blueing Solution i 1 minut. Skyl med deioniseret vand.

Tekniske noter:

- Brug TBS til vasketrin.

Kvalitetskontrol:

Se CLSI kvalitetsstandarder for design og implementering af immunhistokemiske analyser; Godkendt guideline-anden udgave (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁹

Positiv vævskontrol:

Eksterne positive kontrolmaterialer skal være friske prøver fikset, behandlet og indlejet så hurtigt som muligt på samme måde som patientprøven/patienterne. Positive vævskontroller er tegn på korrekt forberedt væv og korrekte farvingsteknikker. En positiv ekstern vævskontrol for hvert sæt af testbettinger bør inkluderes i hver farningskørsel.

De væv, der anvendes til de eksterne positive kontrolmaterialer, bør vælges fra patientprøver med velkarakteriserede lave niveauer af den positive målaktivitet, der giver svag positiv farvning. Det lave niveau af positivitet for eksterne positive kontroller er designet til at sikre påvisning af subtile ændringer i det primære antistoffølsomhed fra ustabilitet eller problemer med IHC-metoden. Kommercielt tilgængelige vævskontrolobjektglas eller -prøver, der er behandlet anderledes end patientprøven(-erne), validerer kun reagensydelse og verificerer ikke vævsforberedelse.

Kendte positive vævskontroller bør kun bruges til at overvåge den korrekte ydeevne af behandlet væv og testreagenser, snarere end som en hjælp til at formulere en specifik diagnose af patientprøver. Hvis de positive vævskontroller ikke viser positiv farvning, bør resultaterne med testprøverne betragtes som ugyldige.

Negativ vævskontrol:

Brug en negativ vævskontrol fikset, behandlet og indlejet på en måde, der er identisk med patientprøven/patienterne med hver farningskørsel for at verificere specifiteten af det primære IHC-antistof for demonstration af målantigenet og for at give en indikation af specifik baggrundsfarvning (falsk positiv farvning). Det kan også være mange forskellige celletyper, der findes i de fleste vævsnit bruges af laboratoriet som interne negative kontrolsteder for at verificere IHC's ydeevne specifikationer. Typer og kilder til prøver, der kan bruges til negativt væv kontroller er angivet i afsnittet Ydelsesegenskaber.

Hvis der forekommer specifik farvning (falsk positiv farvning) i den negative vævskontrol, bør resultaterne med patientprøverne betragtes som ugyldige.

Uspecifik negativ reagenskontrol:

Brug en uspecifik negativ reagenskontrol i stedet for det primære antistof med et udsnit af hver patientprøve til at evaluere uspecifik farvning og tillade bedre fortolkning af specifik farvning på antigenstedet. Ideelt set indeholder en negativ reagenskontrol et antistof produceret og forberedt (dvs. fortyndet til samme koncentration ved hjælp af samme fortyndingsmiddel) til

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

27/116



TP v3 (12/15/2021) | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Danish

BIOCARE
MEDICAL

brug på samme måde som det primære antistof, men udviser ingen specifik reaktivitet med humant væv i samme matrix/opløsning som Biocare-antistoffet. Fortyndingsmiddel alene kan anvendes som et mindre ønskeligt alternativ til de tidlige beskrevne negative reagenskontroller. Inkubationsperioden for den negative reagenskontrol skal svare til den for det primære antistof.

Når paneler af flere antistoffer anvendes på serielle snit, kan de negativt farvningsområder på et objektglas tjene som en negativ/uspecifik bindingsbaggrundskontrol for andre antistoffer. For at differentiere endogen enzymaktivitet eller uspecifik binding af enzymer fra specifik immunreakтивitet, kan yderligere patientvæv udelukkende farves med holdsvis substrat-chromogen eller enzymkompleks (PAP, avidin-biotin, streptavidin) og substrat-chromogen.

Assaybekræftelse:

Før den første brug af et antistof eller farvingssystem i en diagnostisk procedure, skal brugeren verificere antistoffets specificitet ved at teste det på en række interne væv med kendte immunhistokemiske præstationskarakteristika, der repræsenterer kendte positive og negative væv. Se de kvalitetskontrolprocedurer, der tidligere er beskrevet i dette afsnit af produktindlægget og til kvalitetskontrolanbefalingerne fra CAP-certificeringsprogrammet¹⁰ til immunhistokemi og/eller NCCLS IHC guideline¹¹. Disse kvalitetskontrolprocedurer bør gentages for hvert nyt antistoflot, eller når der er en ændring i assayparametrene. Væv, der er angivet i afsnittet Ydelsesegenskaber, er egnede til assayverifikation.

Fejlfinding:

Følg de antistofspecifikke protokolanbefalinger i henhold til det medfølgende datablad. Hvis der opstår atypiske resultater, skal du kontakte Biocares tekniske support på 1-800-542-2002.

Fortolkning af farvning:

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG producerer en brun (HRP) eller rød (AP) farvereaktion på antigenstederne lokaliseret af det primære antistof. Inden fortolkning af patientresultater skal farvningen af kontroller evalueres af en kvalificeret patolog. Negative kontroller evalueres og sammenlignes med farvede objektglas for at sikre, at enhver observeret farvning ikke er et resultat af uspecifikke interaktioner.

Positiv vævskontrol:

Den positive vævskontrol farvet med det angivne antistof bør undersøges først for at sikre, at alle reagenser fungerer korrekt. Den passende farvning af målceller (som angivet ovenfor) er tegn på positiv reaktivitet. Hvis de positive vævskontroller ikke viser positiv farvning, bør alle resultater med testprøverne betragtes som ugyldige.

Farven på reaktionsproduktet kan variere afhængigt af de anvendte substratkromogener. Se substratets indlægssæder for forventede farvereaktioner. Yderligere kan metakromasi observeres i variationer af farningsmetoden.¹²

Når den anvendes en modfarvning, vil modfarvning, afhængigt af inkubationslængden og styrken af den anvendte modfarvning, resultere i en farvning af cellekernerne. Overdreven eller ufuldstændig modfarvning kan kompromittere korrekt fortolkning af resultater. Se protokollen(er) for anbefalet modfarvning.

Negativ vævskontrol:

Den negative vævskontrol bør undersøges efter den positive vævskontrol for at verificere specificiteten af mærkningen af målantigenet med det primære antistof. Fraværet af specifik farvning i den negative vævskontrol bekræfter manglen på antistofkrydsreaktivitet over for celler/cellulære komponenter. Hvis specifik farvning (falsk positiv farvning) forekommer i den negative

eksterne vævskontrol, bør resultaterne med patientprøven betragtes som ugyldige.

Uspecifik farvning, hvis den er til stede, har normalt et diffust udseende. Sporadisk farvning af bindevæv kan også observeres i snit fra formalinfikseret væv. Brug intakte celler til fortolkning af farvningsresultater. Nekrotiske eller degenererede celler farves ofte uspecifikt.

Patientvæv:

Undersøg patientprøver farvet med angivet antistof sidst. Positiv farvningsintensitet bør vurderes i sammenhæng med enhver uspecifik baggrundsfarvning af den negative reagenskontrol. Som med enhver immunhistokemisk test betyder et negativt resultat, at antigenet ikke blev påvist, ikke at antigenet var fravarende i de analyserede celler/væv. Brug om nødvendigt et panel af antistoffer til at identificere falsk-negative reaktioner.

Se Resumé og forklaring, begrænsninger og ydeevnekarakteristika for specifik information vedrørende indiceret antistof-immunreaktivitet.

Begrænsninger:

Generelle begrænsninger:

1. *Til in vitro diagnostisk (IVD) brug*
2. Dette produkt er kun til professionel brug: Immunhistokemi er en flertrins diagnostisk proces, der består af specialiseret træning i udvælgelsen af de passende reagenser; vævsudvælgelse, fiksering og behandling; forberedelse af IHC-glasset; og fortolkning af farvningsresultaterne.
3. Kun til brug efter lægerecept. (Kun Rx)
4. Vævsfarvning er afhængig af håndtering og behandling af vævet før farvning. Forkert fiksering, frysning, optøning, vask, tørring, opvarmning, sektionering eller kontaminering med andre væv eller væsker kan producere artefakter, antistoffangning eller falsk negative resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes variationer i fiksérings- og indlejringsmetoder eller iboende uregelmæssigheder i vævet.¹³
5. Overdreven eller ufuldstændig modfarvning kan kompromittere korrekt fortolkning af resultater.
6. Den kliniske fortolkning af enhver positiv eller negativ farvning bør evalueres i sammenhæng med klinisk præsentation, morfologi og andre histopatologiske kriterier. Den kliniske fortolkning af enhver positiv eller negativ farvning bør suppleres med morfologiske undersøgelser med korrekte positive og negative interne og eksterne kontroller samt andre diagnostiske tests. Det er en kvalificeret patologs ansvar, som er fortrolig med den korrekte brug af IHC-antistoffer, reagenser og metoder, at fortolke alle de trin, der bruges til at forberede og fortolke det endelige IHC-præparat.
7. De optimale protokoller til en specifik applikation kan variere. Disse omfatter, men er ikke begrænset til fiksering, varmehentningsmetode, inkubationstider, antistoffortyding, vævssnittykkelse og det anvendte detektionskit. Se instruktionerne til det primære antistof og andre hjælpereagenser til brug for anbefaede protokoller og betingelser for brug. Databladets anbefalinger og protokoller er baseret på eksklusiv brug af Biocare-produkter. I sidste ende er det efterforskerens ansvar at bestemme optimale forhold.
8. Dette produkt er ikke beregnet til brug i flowcytometri. Ydeevnekarakteristika er ikke blevet bestemt for flowcytometri.
9. Væv fra personer inficeret med hepatitis B-virus og indeholdende hepatitis B-overfladeantigen (HBsAg) kan udvise uspecifik farvning med peberrodsperoxidase.¹⁴
10. Reagenser kan udvise uventede reaktioner i tidlige utestede væv. Muligheden for uventede reaktioner selv i testede vævsggrupper kan ikke fuldstændigt elimineres på grund af biologisk variabilitet af antigenekspression i neoplasmer eller andre patologiske væv.¹⁵ Kontakt

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

28/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Danish

BIOCARE
MEDICAL

- Biocares tekniske support på 1-800-542-2002 eller via de tekniske supportoplysninger, der er angivet på biocare.net, med dokumenterede uventede reaktioner.
11. Normale/ikke-immune sera fra samme dyrekilde som sekundære antisera, der anvendes i blokeringstrin, kan forårsage falsk-negative eller falsk-positive resultater på grund af autoantistoffer eller naturlige antistoffer.
 12. Falsk-positive resultater kan ses på grund af ikke-immunologisk binding af proteiner eller substratreaktionsprodukter. De kan også være forårsaget af pseudoperoxidaseaktivitet (erythrocytter), endogen peroxidaseaktivitet (cytochrom C) eller endogen biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) afhængigt af den anvendte type immunfarvning.¹³
 13. Et negativt resultat betyder, at antigenet ikke blev påvist, ikke at antigenet var fraværende i de undersøgte celler eller væv.

Produktspecifikke begrænsninger:

Ingen yderligere produktspecifikke begrænsninger.

Ydelseskarakteristika:

Farvning blev udført ved hjælp af protokoller, der er angivet i de antistofspecifikke brugsanvisninger eller som specificeret. Sensitivitet og specifitet af farvning blev evalueret på tværs af en række normale og neoplastiske vævstyper evalueret under udvikling af primære antistoffer.

Reproducerbarhed:

Reproducerbarheden af Biocares detektionssystemer og systemreagenser verificeres gennem en måling af mellempræcision, hvor forskellige reagenslots blev testet over en længere periode ved hjælp af forskellige operatører, analytikere, reagenslots, vævsprøver og udstyr. Farvningen opnået for hvert detektionsreagens, der blev evalueret, var konsistent og udført som forventet.

6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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 Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

Fejlfinding:

1. Ingen farvning af nogen objektglas – Tjek for at fastslå, om der er brugt passende positivt kontrolvæv, antistof og detektionsprodukter. Tjek for fuldstændig eller ukorrekt voksfjernelse eller forbehandling.
2. Svag farvning af alle objektglas – Tjek for at fastslå, om der er anvendt passende positivt kontrolvæv, antistof og detektionsprodukter.
3. Overdreven baggrund af alle objektglas - Der kan være høje niveauer af endogen biotin (hvis der bruges biotinbaserede detektionsprodukter), endogen HRP-aktivitet, der omdanner kromogen til farvet slutprodukt (brug peroxidaseblok) eller overskydende uspecifik proteininteraktion (brug et protein blokering, såsom serum- eller kaseinbaseret blokeringsopløsning).
4. Vævssekctioner vasker objektglas af under inkubation – Tjek objektglas for at sikre, at de er positivt ladede.
5. Specifik farvning for mørk – Tjek protokollen for at bestemme, om korrekt antistoftiter blev anvendt på objektglasset, samt korrekte inkubationstider for alle reagenser. Sørg desuden for, at protokollen har nok vasketrin til at fjerne overskydende reagenser, efter at inkubationstrinene er afsluttet.

Referencer:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Dutch

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Beoogd gebruik:

Voor *in vitro* Diagnostisch gebruik

De 4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG is bedoeld voor gebruik in handmatige of geautomatiseerde immunohistochemie (IHC) kleuringsprotocollen met behulp van een tweestaps applicatiemethode van mierikswortelperoxidase (HRP) of alkalische fosfatase (AP) streptavidine-conjugaat. Deze streptavidine-conjugaatdetectie is ontworpen voor de detectie van primaire IgG-antilichamen van muizen die zijn gebonden aan doelantigenen in de formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde (FFPE) weefsels tijdens het IHC-kleuringsproces. De klinische interpretatie van eventuele kleuringen of de afwezigheid ervan moet worden aangevuld met morfologisch onderzoek en goede controles, en moet worden geëvalueerd binnen de context van de klinische geschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests door een gekwalificeerde patholoog.

Samenvatting en uitleg:

De 4plus gebiotinyleerde anti-muis IgG van geitis ontworpen met behulp van een tweestapsmethode voor het detecteren van primaire antilichamen van muizen om een antilichaam-enzymcomplex te vormen. Dit complex wordt vervolgens zichtbaar gemaakt met behulp van een geschikt substraat/chromogeen. Bij de tweestapsmethode wordt het secundaire antilichaam gebiotinyleerd en wordt achtereenvolgens een extra enzymgelabeld streptavidine aangebracht. De tweestapsmethode is ontworpen om de detectie te versterken in gevallen van antigenen die weinig tot expressie komen.

De gebiotinyleerde antilichaam reageert met zware en lichte ketens op IgG van muizen. Het wordt geadsorbeerd tegen paarden, runderen en mensen. Het reageert met alle IgG-subklassen van muizen en IgM van muizen. Het is op affinititeit gezuiverd met minimale kruisreactie met serumeiwitten van mensen, runderen en paarden. Tussen de biotine en het secundaire antilichaam is een lange afstandsarm geplaatst om de gevoeligheid te vergroten wanneer deze wordt gekoppeld aan streptavidineconjugaten. 4plus Biotinyleerd anti-muis-IgG van geit kan worden gebruikt met detectiesystemen voor streptavidine-mierikswortelperoxidase of streptavidine-alkalische fosfatase.

Procedureprincipe:

Deze micropolymeredetectiekits kunnen worden gebruikt bij immunohistochemische tests van in formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde weefselcoupes. In het algemeen immunohistochemisch (IHC) kleuringstechnieken maken de visualisatie van antigenen mogelijk via de opeenvolgende toepassing van een specifiek antilichaam tegen het antigen (primair antilichaam), een secundair antilichaam tegen het primaire antilichaam (optioneel verbindingssantilichaam/probe), een enzymcomplex en een chromogeen substraat met tussenliggende wasstappen. De enzymatische activering van het chromogeen resulteert in een zichtbaar reactieproduct op de antigenplaats. Het monster kan vervolgens worden tegengekleurd en afgedeekt. De resultaten worden geïnterpreteerd met behulp van een lamp microscoop en hulp bij de differentiële diagnose van pathofysiologische processen, die mogelijk is mogelijk niet geassocieerd met een bepaald antigen.

Materialen en methodes:

Meegeleverde reagentia:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Reconstitutie, mengen, verdunnen, titratie:

De op streptavidine gebaseerde detectiekits zijn geoptimaliseerd en klaar voor gebruik met Biocare-antilichamen en aanvullende reagentia. Er is geen reconstitutie, menging, verdunning of titratie vereist.

Bekende toepassing:

Immunohistochemie (formaline-gefixeerde, in paraffine ingebedde weefsels)

Soortreactiviteit:

Muis IgG zware en lichte ketens

Geleverd als:

Gebufferde zoutoplossing, pH 7,2-7,4, met een eiwitdrager en minder dan 0,01% ProClin 300 en/of minder dan 0,5% ProClin 950 als conservermiddel. Zie het veiligheidsinformatieblad voor aanvullende details.

Materialen en reagentia die nodig zijn, maar niet worden meegeleverd:

Microscopoglaasjes, positief geladen
Positieve en negatieve weefselcontroles
Woestijnkamer* of soortgelijke droogoven (optioneel)
Xyleen of xyleenvervanger
Ethanol of reagensalcohol
Onthulkamer* of soortgelijke snelkookpan (optioneel)
Gedeioniseerd of gedestilleerd water
Wasbuffer*
Voorbehandelingsreagentia* (optioneel)
Enzymvertering* (optioneel)
Peroxidaseblok*
Eiwitblok* (optioneel)
Avidine-biotine-blokkeerkit
Primair antilichaam*
Streptavidine-label*
Negatieve controlereagentia*
Chromogenen*
Hematoxyline* (tegenkleuring)
Blauwingsreagens*
Montagemedium*
Dekglasje
Lichtmicroscoop (40-400x vergroting)

* Biocare Medical Products: Raadpleeg de Biocare Medical-website op <http://biocare.net> voor informatie over catalogusnummers en bestellingen. Bepaalde hierboven genoemde reagentia zijn gebaseerd op de specifieke toepassing en het gebruikte detectiesysteem.

Opslag en stabiliteit:

Bewaren bij 2°C tot 8°C. Het product is stabiel tot de vervaldatum die op het etiket van de injectieflacon staat vermeld, wanneer het onder deze omstandigheden wordt bewaard. Niet gebruiken na de vervaldatum. Opslag onder alle andere omstandigheden dan gespecificeerd moet worden geverified. De reagentia uit de kit zijn klaar voor gebruik en mogen niet worden verdunt. De stabiliteit van door de gebruiker verdunt reagens is niet vastgesteld door Biocare.

Positieve en negatieve controles moeten gelijktijdig met alle patiëntmonsters worden uitgevoerd. Als er onverwachte kleuring wordt waargenomen die niet kan worden verklaard door variaties in laboratoriumprocedures en er wordt

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Dutch

BIOCARE
MEDICAL

vermoed dat er een probleem is met het antilichaam, neem dan contact op met de technische ondersteuning van Biocare op 1-800-542-2002 of via de technische ondersteuningsinformatie op biocare.net.

Monstervoorbereiding:

In formaline gefixerde weefsels zijn geschikt voor gebruik vóór het inbedden in paraffine. Botweefsel moet vóór de weefselverwerking worden ontkalkt om het snijden van het weefsel te vergemakkelijken en schade aan de microtoombladen te voorkomen.^{1,2}

Goed gefixerde en ingebedde weefsels die het gespecificeerde antigeendoel tot expressie brengen, moeten op een koele plaats worden bewaard. De Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) van 1988 vereist 42 CFR§493.1259(b) dat "Het laboratorium gekleurde objectglaasjes ten minste tien jaar vanaf de datum van onderzoeken en monsterblokken ten minste twee jaar na de datum van onderzoek bewaren."³

Behandeling van weefsels voorafgaand aan kleuring:

Voer Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) uit volgens het aanbevolen protocol hieronder. Er is aangetoond dat het routinematische gebruik van HIER voorafgaand aan IHC de inconsistentie minimaliseert en de kleuring standaardiseert.^{4,5}

Waarschuwing en voorzorgsmaatregelen:

- Kitreagentia bevatten minder dan <0,05% ProClin 300 en/of minder dan 1% 950> Draag handschoenen en beschermende kleding en neem redelijke voorzorgsmaatregelen bij het hanteren, aangezien ProClin is geklassificeerd als irriterend en huidcontactsensibilisering kan veroorzaken. Vermijd contact met ogen, huid en slijmvlies.
- Behandel materialen van menselijke of dierlijke oorsprong als potentieel biologisch gevaarlijk en voer dergelijke materialen met de juiste voorzorgsmaatregelen af. Volg in geval van blootstelling de gezondheidsrichtlijnen van de verantwoordelijke autoriteiten waar het wordt gebruikt.^{6,7}
- Monsters, voor en na fixatie, en alle materialen die eraan worden blootgesteld, moeten worden behandeld alsof ze infecties kunnen overbrengen, en moeten met de juiste voorzorgsmaatregelen worden verwijderd. Pipetteer reagentia nooit via de mond en vermijd contact van de huid en slijmvlies met reagentia en monsters. Als reagentia of monsters in contact komen met gevoelige gebieden, spoel ze dan met grote hoeveelheden water.⁸
- Microbiële contaminatie van reagentia kan resulteren in een toename van niet-specifieke kleuring.
- Andere incubatietijden of temperaturen dan gespecificeerd kunnen foutieve resultaten opleveren. De gebruiker moet een dergelijke wijziging valideren.
- Gebruik geen reagens na de vervaldatum die op de injectieflacon staat vermeld.
- De reagens(en) van de micropolymerdetectiekit zijn geoptimaliseerd en klaar voor gebruik met Biocare-antilichamen en aanvullende reagentia. Raadpleeg de gebruiksaanwijzingen voor het primaire antilichaam en andere hulpreagentia voor aanbevolen protocollen en gebruiksomstandigheden.
- Volg de plaatselijke en/of nationale vereisten voor de verwijderingsmethode.
- Het veiligheidsinformatieblad is op aanvraag verkrijgbaar en bevindt zich op <http://biocare.net>.
- Meld eventuele ernstige incidenten met betrekking tot dit apparaat door contact op te nemen met de plaatselijke Biocare-vertegenwoordiger en de toepasselijke bevoegde autoriteit van de lidstaat of het land waar de gebruiker zich bevindt.

Gebruiksaanwijzing:

De reagens(en) van de micropolymerdetectiekit zijn geoptimaliseerd en klaar voor gebruik met Biocare-antilichamen en aanvullende reagentia. Raadpleeg de gebruiksaanwijzingen voor het primaire antilichaam en andere aanvullende reagentia voor aanbevolen protocollen en gebruiksomstandigheden. De incubatietijden en -temperaturen zullen variëren afhankelijk van het gevolgde specifieke antilichaamprotocol.

Wanneer u een geautomatiseerd kleuringsinstrument gebruikt, raadpleeg dan de specifieke bedieningshandleiding van het instrument en de gebruiksinstructies voor de bedrijfsparameters.

Algemene procedurestappen voor het uitvoeren van IHC:

1. Deparaffineren: Deparaffineer objectglasjes in Slide Brite of xyleen. Hydrate dia's in een reeks gesorteerde alcoholes tot water.
2. Peroxide Block: Blokkeer gedurende 5 minuten met Peroxidized 1.
3. Voorbehandelingsoplossing/protocol: Raadpleeg het betreffende gegevensblad voor primaire antilichamen voor de aanbevolen voorbehandelingsoplossing en het protocol.
4. Avidin Block: Incubeer gedurende 10-20 minuten bij kamertemperatuur met Avidin van Biocare.
5. Biotineblok: Incubeer gedurende 10-20 minuten bij kamertemperatuur met Biotine van Biocare.
6. Eiwitblok (optioneel): Incubeer gedurende 10-15 minuten bij kamertemperatuur (RT) met Background Sniper.
7. Primair antilichaam: Raadpleeg het betreffende gegevensblad voor het primaire antilichaam voor de incubatietijd.
8. Link: Incubeer gedurende 10 minuten bij kamertemperatuur met 4plus Biotinylated Link.
9. Etiket: Incubeer gedurende 10-20 minuten bij kamertemperatuur met 4plus Streptavidin HRP of Streptavidin AP Label.
10. Chromogen: Incubeer gedurende 10-20 minuten bij kamertemperatuur met DAB van Biocare of incubeer gedurende 5-7 minuten bij kamertemperatuur met Warp Red.
11. Tegenkleuring: Tegenkleuring met hematoxyline. Spoelen met gedeioniseerd water. Breng Tacha's Blueing Solution aan gedurende 1 minuut. Spoelen met gedeioniseerd water.

Technische opmerkingen:

1. Gebruik TBS voor wasstappen.

Kwaliteitscontrole:

Raadpleeg de CLSI-kwaliteitsnormen voor ontwerp en implementatie van immunohistochemische tests; Goedgekeurde richtlijn-tweede editie (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁹

Positieve weefselcontrole:

Externe positieve controlesmaterialen moeten verse monsters zijn die zo snel mogelijk op dezelfde manier zijn gefixeerd, verwerkt en ingebed als de patiëntmonsters. Positieve weefselcontroles duiden op correct geprepareerde weefsels en juiste kleuringstechnieken. Bij elke kleuringstransitie moet voor elke reeks testomstandigheden één positieve externe weefselcontrole worden meegenomen.

De weefsels die voor de externe positieve controlesmaterialen worden gebruikt, moeten worden geselecteerd uit patiëntenproeven met goed gekarakteriseerde lage niveaus van de positieve doelactiviteit die een zwakke positieve kleuring veroorzaken. Het lage niveau van positiviteit voor externe positieve controles is zo ontworpen dat detectie van subtiel veranderingen in de primaire antilichaamgevoeligheid als gevolg van instabiliteit of problemen met de IHC-methodologie wordt gegarandeerd. In de handel verkrijgbare objectglaasjes of monsters voor weefselcontrole die op een

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Dutch

BIOCARE
MEDICAL

andere manier zijn verwerkt dan het/de patiëntmonster(s), valideren alleen de prestaties van het reagens en verifiëren de weefselpreparatie niet.

Bekende positieve weefselcontroles mogen alleen worden gebruikt voor het monitoren van de juiste prestatie van verwerkte weefsels en testreagentia, en niet als hulpmiddel bij het formuleren van een specifieke diagnose van patiëntmonsters. Als de positieve weefselcontroles geen positieve kleuring vertonen, moeten de resultaten met de testmonsters als ongeldig worden beschouwd.

Negatieve weefselcontrole:

Gebruik bij elke kleuringsrun een negatieve weefselcontrole die is gefixeerd, verwerkt en ingebed op een manier die identiek is aan het/de patiëntmonster(s) om de specificiteit van het primaire IHC-antilichaam te verifiëren. demonstratie van het doelantigeen, en om een indicatie te geven van specifieke achtergrondkleuring (vals-positieve kleuring). Ook de verscheidenheid aan verschillende celtypen die in de meeste weefselcoupes aanwezig zijn, kan dat doen door het laboratorium worden gebruikt als interne negatieve controlelocaties om de prestaties van de IHC te verifiëren specificaties. De soorten en bronnen van specimens die voor negatief weefsel kunnen worden gebruikt bedieningselementen vindt u in het gedeelte Prestatiekenmerken.

Als er specifieke kleuring (vals-positieve kleuring) optreedt in de negatieve weefselcontrole, moeten de resultaten met de patiëntspecimens als ongeldig worden beschouwd.

Niet-specificke negatieve reagenscontrole:

Gebruik een niet-specificke negatieve reagenscontrole in plaats van het primaire antilichaam met een deel van elk patiëntmonster om niet-specificke kleuring en maken een betere interpretatie van specifieke kleuring op de antigenplaats mogelijk. Idealiter bevat een negatieve reagenscontrole een antilichaam dat is geproduceerd en bereid (d.w.z. verduld tot dezelfde concentratie met hetzelfde verdunningsmiddel) voor gebruik op dezelfde manier als het primaire antilichaam, maar vertoont geen specifieke reactiviteit met menselijke weefsels in dezelfde matrix/oplossing als het Biocare-antilichaam. Alleen verdunningsmiddel kan worden gebruikt als een minder wenselijk alternatief voor de eerder beschreven negatieve reagenscontroles. De incubatietyl voor de negatieve reagenscontrole moet overeenkomen met die van het primaire antilichaam.

Wanneer op seriële secties panels van verschillende antilichamen worden gebruikt, kunnen de negatief kleurende gebieden van één objectglaasje dienen als een negatieve/niet-specificke bindende achtergrondcontrole voor andere antilichamen. Om endogene enzymactiviteit of niet-specificke binding van enzymen te onderscheiden van specifieke immuunreactiviteit, kunnen extra patiëntweefsels uitsluitend worden gekleurd met respectievelijk substraat-chromogeen of enzymcomplexen (PAP, avidine-biotine, streptavidine) en substraat-chromogeen.

Assayverificatie:

Voorafgaand aan het eerste gebruik van een antilichaam of kleursysteem in een diagnostische procedure moet de gebruiker de specificiteit van het antilichaam verifiëren door het te testen op een reeks interne weefsels met bekende immunohistochemische prestatiekenmerken die bekende positieve en negatieve weefsels vertegenwoordigen. Raadpleeg de kwaliteitscontroleprocedures die eerder in dit gedeelte van de productbijsluiter zijn beschreven en de aanbevelingen voor kwaliteitscontrole van het CAP-certificeringsprogramma[®] voor immunohistochemie en/of de NCCLS IHC-richtlijn[™]. Deze kwaliteitscontroleprocedures moeten worden herhaald voor elke nieuwe partij antilichamen, of telkens wanneer er een verandering in de testparameters optreedt. Weefsels vermeld in de sectie Prestatiekenmerken zijn geschikt voor assayverificatie.

Probleemoplossen:

Volg de antilichaamspecifieke protocolaanbevelingen volgens het meegeleverde gegevensblad. Als er atypische resultaten optreden, neem dan contact op met de technische ondersteuning van Biocare op 1-800-542-2002.

Interpretatie van kleuring:

Het 4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG produceert een bruine (HRP) of rode (AP) kleurreactie op de antigenplaatsen die door het primaire antilichaam zijn gelokaliseerd. Voordat de patiëntresultaten worden geïnterpreteerd, moet de kleuring van controles worden beoordeeld door een gekwalificeerde patholoog. Negatieve controles worden geëvalueerd en vergeleken met gekleurde objectglaasjes om er zeker van te zijn dat eventuele waargenomen kleuring niet het gevolg is van niet-specificke interacties.

Positieve weefselcontrole:

De positieve weefselcontrole, gekleurd met het aangegeven antilichaam, moet eerst worden onderzocht om er zeker van te zijn dat alle reagentia goed functioneren. De juiste kleuring van doelcellen (zoals hierboven aangegeven) is indicatief voor positieve reactiviteit. Als de positieve weefselcontroles geen positieve kleuring vertonen, moeten alle resultaten met de testmonsters als ongeldig worden beschouwd.

De kleur van het reactieproduct kan variëren afhankelijk van de gebruikte substraatchromogeenen. Raadpleeg de bijsluuters van het substraat voor de verwachte kleurreacties. Verder kan metachromasie worden waargenomen bij variaties op de kleuringsmethode.¹²

Wanneer een tegenkleuring wordt gebruikt, zal de tegenkleuring, afhankelijk van de incubatieduur en de sterkte van de gebruikte tegenkleuring, resulteren in een verkleuring van de celkernen. Overmatige of onvolledige tegenkleuring kan de juiste interpretatie van de resultaten in gevaar brengen. Raadpleeg protocol(en) voor aanbevolen tegenkleuring.

Negatieve weefselcontrole:

De negatieve weefselcontrole moet na de positieve weefselcontrole worden onderzocht om de specificiteit van de labeling van het doelantigeen door het primaire antilichaam te verifiëren. De afwezigheid van specifieke kleuring in de negatieve weefselcontrole bevestigt het ontbreken van kruisreactiviteit van antilichamen met cellen/cellulaire componenten. Als er specifieke kleuring (vals-positieve kleuring) optreedt in de negatieve externe weefselcontrole, moeten de resultaten met het patiëntmonster als ongeldig worden beschouwd.

Niet-specificke kleuring, indien aanwezig, heeft gewoonlijk een diffus uiterlijk. Sporadische kleuring van bindweefsel kan ook worden waargenomen in coupes van overmatig formalinegefixeerd weefsel. Gebruik intacte cellen voor de interpretatie van kleuringsresultaten. Necrotische of gedegenererde cellen kleuren vaak niet-specificiek.

Patiëntenweefsel:

Onderzoek patiëntspecimens die zijn gekleurd met het aangegeven antilichaam laatst. De positieve kleurintensiteit moet worden beoordeeld binnen de context van eventuele niet-specificke achtergrondkleuring van de negatieve reagenscontrole. Zoals bij elke immunohistochemische test betekent een negatief resultaat dat het antigen niet is gedetecteerd, en niet dat het antigen afwezig was in de geteste cellen/weefsels. Gebruik indien nodig een panel antilichamen om vals-negatieve reacties te identificeren.

Raadpleeg de Samenvatting en uitleg, beperkingen en prestatiekenmerken voor specifieke informatie over de aangegeven immunoreactiviteit van antilichamen.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

32/116

TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Dutch

BIOCARE
MEDICAL

Beperkingen:

Algemene beperkingen:

1. Voor *in vitro* diagnostisch (IVD) gebruik
2. Dit product is uitsluitend bedoeld voor professioneel gebruik: Immunohistochemie is een uit meerdere stappen bestaand diagnostisch proces dat bestaat uit gespecialiseerde training in de selectie van de juiste reagentia; weefselselectie, fixatie en verwerking; voorbereiding van het IHC-glaasje; en interpretatie van de kleuringsresultaten.
3. Alleen voor gebruik op doktersvoorschrift. (Alleen Rx)
4. Weefselkleuring is afhankelijk van de behandeling en verwerking van het weefsel voorafgaand aan de kleuring. Onjuiste fixatie, invriezen, ontdooien, wassen, drogen, verwarmen, snijden of contaminatie met andere weefsels of vloeistoffen kan artefacten, het opsluiten van antilichamen of vals-negatieve resultaten veroorzaken. Inconsistente resultaten kunnen te wijten zijn aan variaties in de fixatie- en inbeddingsmethoden, of aan inherente onregelmatigheden in het weefsel.¹³
5. Overmatige of onvolledige tegenkleuring kan de juiste interpretatie van de resultaten in gevaar brengen.
6. De klinische interpretatie van elke positieve of negatieve kleuring moet worden beoordeeld binnen de context van de klinische presentatie, morfologie en andere histopathologische criteria. De klinische interpretatie van elke positieve of negatieve kleuring moet worden aangevuld met morfologisch onderzoek waarbij gebruik wordt gemaakt van de juiste positieve en negatieve interne en externe controles, evenals andere diagnostische tests. Het is de verantwoordelijkheid van een gekwalificeerde patholoog die bekend is met het juiste gebruik van IHC-antilichamen, reagentia en methoden om alle stappen te interpreteren die worden gebruikt om het uiteindelijke IHC-preparaat voor te bereiden en te interpreteren.
7. De optimale protocollen voor een specifieke toepassing kunnen variëren. Deze omvatten, maar zijn niet beperkt tot fixatie, warmtewinningsmethode, incubatietijden, antilichaamverdunning, dikte van de weefselcoupes en de gebruikte detectiekit. Raadpleeg de gebruiksaanwijzingen voor het primaire antilichaam en andere aanvullende reagentia voor aanbevolen protocollen en gebruiksomstandigheden. De aanbevelingen en protocollen in het gegevensblad zijn gebaseerd op exclusief gebruik van Biocare-producten. Uiteindelijk is het de verantwoordelijkheid van de onderzoeker om optimale omstandigheden te bepalen.
8. Dit product is niet bedoeld voor gebruik bij flowcytometrie. Prestatiemerkens zijn niet bepaald voor flowcytometrie.
9. Weefsels van personen die zijn geïnfecteerd met het hepatitis B-virus en die hepatitis B-oppervlakteantigen (HBsAg) bevatten, kunnen niet-specificieke kleuring vertonen met mierikswortelperoxidase.¹⁴
10. Reagentia kunnen onverwachte reacties vertonen in niet eerder geteste weefsels. De mogelijkheid van onverwachte reacties, zelfs in geteste weefselgroepen, kan niet volledig worden uitgesloten vanwege de biologische variabiliteit van antigenexpressie in neoplasmata of andere pathologische weefsels.¹⁵ Neem contact op met de technische ondersteuning van Biocare op 1-800-542-2002, of via de technische ondersteuningsinformatie op biocare.net, met gedocumenteerde onverwachte reactie(s).
11. Normale/niet-immune sera uit dezelfde dierlijke bron als secundaire antisera die bij blokkingsstappen worden gebruikt, kunnen vals-negatieve of vals-positieve resultaten veroorzaken als gevolg van auto-antilichamen of natuurlijke antilichamen.
12. Er kunnen vals-positieve resultaten optreden als gevolg van niet-immunologische binding van eiwitken of substraatreactieproducten. Ze kunnen ook worden veroorzaakt door pseudo-peroxidase-activiteit (erytrocyten), endogene peroxidase-activiteit (cytochrom C) of endogene biotine (bijv. Lever, borst, hersenen, nier), afhankelijk van het gebruikte type immunokleuring.¹³

13. Een negatief resultaat betekent dat het antigeen niet is gedetecteerd en niet dat het antigeen afwezig was in de onderzochte cellen of weefsels.

Productspecifieke beperkingen:

Geen aanvullende productspecifieke beperkingen.

Prestatiemerkens:

De kleuring werd uitgevoerd met behulp van de protocollen die in de antilichaamspecifieke gebruiksinstructies zijn vermeld of zoals gespecificeerd. De gevoeligheid en specificiteit van de kleuring werden geëvalueerd voor een reeks normale en neoplastische weefseltypen, beoordeeld tijdens de ontwikkeling van primaire antilichamen.

Reproduceerbaarheid:

De reproduceerbaarheid van de detectiesystemen en systeemreagentia van Biocare wordt geverifieerd door middel van een meting van gemiddelde nauwkeurigheid, waarbij verschillende partijen reagens gedurende een langere periode werden getest met behulp van verschillende operators, analisten, partijen reagens, weefselmonsters en apparatuur. De kleuring die voor elk geëvalueerd detectiereagens werd verkregen, was consistent en werd uitgevoerd zoals verwacht.

Probleemoplossen:

1. Geen kleuring van objectglaasjes – Controleer of er geschikt positief controleweefsel, antilichaam en detectieproducten zijn gebruikt. Controleer op onvolledige of onjuiste wasverwijdering of voorbehandeling.
2. Zwakke kleuring van alle objectglaasjes – Controleer of er geschikt positief controleweefsel, antilichaam en detectieproducten zijn gebruikt.
3. Overmatige achtergrond van alle objectglaasjes – Er kunnen hoge niveaus van endogene biotine zijn (bij gebruik van op biotine gebaseerde detectieproducten), endogene HRP-activiteit die chromogeen omzet in gekleurd eindproduct (gebruik peroxidaseblok) of overmatige niet-specificieke eiwitinteractie (gebruik een eiwit blok, zoals een blokkeeroplossing op basis van serum of caseïne).
4. Weefselcoupes worden tijdens de incubatie van de objectglaasjes gewassen – Controleer de objectglaasjes om er zeker van te zijn dat ze positief geladen zijn.
5. Specifieke kleuring te donker – Controleer het protocol om te bepalen of de juiste antilichaamtiter op het objectglaasje is aangebracht, evenals de juiste incubatiertijden voor alle reagentia. Zorg er bovendien voor dat het protocol voldoende wasstappen heeft om overtollige reagentia te verwijderen nadat de incubatiestappen zijn voltooid.

Referenties:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

33/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Dutch

BIOCARE
M E D I C A L

9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. *Histochemistry* 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. *Lab Med* 1983; 14:767.
14. 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. *AmJ Clin Path* 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfent EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Estonian

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Mõeldud kasutamiseks:

Sestin vitro Diagnostiline kasutamine

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG on ette nähtud kasutamiseks kas kätsitsi või automatiseritud immunohistokeemia (IHC) värvimisprotokollides, kasutades mädaröika peroksidaasi (HRP) või leeliselise fosfataasi (AP) streptavidiini-konjugaadi kaheastmelist pealekandmismeetodit. See streptavidiini-konjugaadi tuvastamine on mõeldud hiire IgG primaarseste antikehade tuvastamiseks, mis on seotud IHC värvimisprotsessi käigus formaliiiniga fikseeritud, parafiiiniga manustatud (FFPE) kudedes sihtantigeenidega. Mis tahes värvimise või selle puudumise kliinilist tõlgendamist peaksid täiendama morfoloogilised uuringud ja nõuetekohased kontrollid ning kvalifitseeritud patoloog peaks seda hindama patsiendi kliinilise ajaloo ja muude diagnostiliste testide kontekstis.

Kokkuvõte ja selgitus:

The4plus biotinüülitud kitse hiirevastane IgG on loodud kasutades kaheastmelist meetodit hiire primaarseste antikehade tuvastamiseks, et moodustada antikeha-ensüüm kompleksi. Seejärel visualiseeritakse see kompleks sobiva substraadi/kromogeeni abil. Kaheetapilise meetodi korral biotinüleeritakse sekundaarne antikeha ja järestikku rakendatakse täiendavat ensüümiga märgistatud streptavidiini. Kaheetapilise meetod on mõeldud tuvastamise võimendamiseks madala ekspressioniga antigeenide korral.

See biotinüülitud antikeha reageerib hiire IgG raskete ja kergete ahlatega. See on adsorbeeritud hobuse, veiste ja inimeste vastu. See reageerib kõigi hiire IgG alamklasside ja hiire IgM-iga. See on afiinsuspuhastatud minimaalse ristreaktsiooniga inimese, veise ja hobuse seerumi valkudele. Biotiini ja sekundaarse antikeha vahele on paigutatud pikk speisserölg, et suurendada tundlikkust streptavidiini konjugaatidega ühendamisel. 4plus Biotinüülitud kitse hiirevastast IgG-d saab kasutada kas streptavidiini mädaröika peroksidaasi või streptavidiini aluselise fosfataasi tuvastamissüsteemidega.

Menetluse põhimõte:

Seda mikropõlumeeride tuvastamise komplekti saab kasutada formaliiiniga fikseeritud parafiiiniga manustatud koelökide immunohistokeemia testimisel. Üldiselt immunohistokeemiline (IHC) värvimistehnikad võimaldavad visualiseerida antigeene, kasutades järjestikku a antigeeni vastane spetsiifiline antikeha (primaarne antikeha), primaarse antikeha sekundaarne antikeha (valikuline linkantikeha/sond), ensüümikompleksi ja kromogeenne substraat, millesse on paigutatud pesemisetapid. Kromogeeni ensüümaatiline aktiveerimine annab antigeeni kohas nähtava reaktsiooniprodukti. Seejärel võib proovi värvida ja katta katteklaasiga. Tulemusi tõlgendatakse valguse abil mikroskoop ja abi patofüsioloogiliste protsesside diferentsiaaldiagnostikas, mis võivad või ei pruugi olla seotud konkreetse antigeeniga.

Materjalid ja meetodid:

Kaasasolevad reaktiivid:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Lahustamine, segamine, lahjendamine, tiitrimine:

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

Streptavidiinil põhinev tuvastamiskomplekti reaktiiv(id) on optimeeritud ja valmis kasutamiseks koos Biocare'i antikehade ja abireaktiividega. Lahustamine, segamine, lahjendamine või tiitrimine ei ole vajalik.

Tundutud rakendused:

Immunohistokeemia (formaliiniga fikseeritud parafiiiniga kaetud koed)

Liigi reaktsioonivõime:

Hiire IgG rasked ja kerged ahdad

Tarnitakse järgmiselt:

Puhverdatud soolalahus, pH 7,2–7,4, mis sisaldb aroteiini kandjat ja vähem kui 0,01% ProClin 300 ja/või alla 0,5% ProClin 950 säilitusainena. Lisateabe saamiseks vaadake ohutuskaarti.

Vajalikud materialid ja reaktiivid, mida pole kaasas:

Mikroskoobi slaidid, positiivselt laetud

Positiivsed ja negatiivsed koekontrollid

Desert Chamber* või sarnane kuivatusahi (valikuline)

Ksüleen või ksüleeni asendaja

Etanol või reaktiivalkohol

Decloaking Chamber* või sarnane kiirkeetja (valikuline)

Deioniseeritud või destilleeritud vesi

pesupuhver*

Eeltöötlusreaktiivid* (valikuline)

Ensüümi seedimine* (valikuline)

peroksidaasi blokaad*

Valguplokk* (valikuline)

Avidiini-biotiini blokeerimiskomplekt

Primaarne antikeha*

Streptavidiini märgis*

Negatiivsed kontrollreaktiivid*

Kromogeenid*

Hematoksüliin* (vastuvärv)

Sinistamise reaktiiv*

Paigaldusvahend*

Katteklas

Valgusmikroskoop (40-400X suurendus)

* Biocare Medical Products: katalooginumbrite ja tellimise kohta teabe saamiseks vaadake Biocare Medicali veebisaiti aadressil <http://biocare.net>. Teatud ülaltoodud reaktiivid põhinevad konkreetsel kasutusel ja kasutataval tuvastamissüsteemil.

Säilitamine ja stabiilsus:

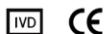
Hoida temperatuuril 2°C kuni 8°C. Toode on sellistes tingimustes säilitamisel stabiilne kuni viibli etiketile trükitud aegumiskuupäevani. Ärge kasutage pärast aegumiskuupäeva. Säilitamist muudes tingimustes kui ette nähtud tuleb kontrollida. Komplekti reaktiiv(id) on kasutusvalmis ja neid ei tohi lahendada. Biocare ei ole kindlaks teinud kasutaja lahendatud reaktiivi stabiilsust.

Positiivsed ja negatiivsed kontrollid tuleb läbi viia samaaegselt kõigi patsiendi proovidega. Kui täheldatakse ootamatut värvimist, mida ei saa seletada erinevustega laboratoorieses protseduurides, ja kahtlustate probleemi antikehaga, võtke ühendust Biocare'i tehnilise toega numbril 1-800-542-2002 või veebisaidil biocare.net pakutava teabe kaudu.

Proovi ettevalmistamine:

Formaliinis fikseeritud koed sobivad kasutamiseks enne parafiiini manustamist. Luukudele tuleb enne kudede töölemist katlakivi eemaldada, et hõlbustada kudede lõikamist ja vältida mikrotoomi labade kahjustamist.^{1,2}

35/116



TP v3 (12/15/2021)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Estonian

BIOCARE
MEDICAL

Korralikult fikseeritud ja sisestatud kudesid, mis ekspressoerivad määratud sihtmärkantigeeni, tuleb hoida jahedas. 1988. aasta Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) nõub 42 CFR-i §493.1259(b), et „Labor peab säilitama värvitud objektklaase vähemalt kümme aastat alates uurige ja säilitage prooviplokid vähemalt kaks aastat alates uurimise kuupäevast.“³

Kudede töötlemine enne värvimist:

Tehke kuumuse põhjustatud epitooopide otsimine (HIER) vastavalt alolevale soovitud protokollile. On näidatud, et HIER-i rutiinne kasutamine enne IHC-d vähendab ebakõlasid ja standardiseerib värvimist.^{4,5}

Hoiatus ja ettevaatusabinööd:

1. Komplekti reaktiivid sisaldavad vähem kui <0,05% ProClin 300 ja/või vähem kui 1% 950> Kandke kindaid ja kaitserieltust ning võtke käsitsemisel kasutusele mõistlikud ettevaatusabinööd, kuna ProClin on klassifitseeritud ärritavaks ja võib põhjustada nahakontakti ülitundlikkust. Vältida kokkupuudet silmade, naha ja limaskestadega.
2. Käsitsege inim- või loomset päritolu materjale kui potentsiaalselt bioloogiliselt ohtlikke materjale ja kõrvaldage need materjalid asjakohaste ettevaatusabinööudega. Kokkupuute korral järgige kasutamise korral vastutavate astutuse tervisejuhiseid.^{6,7}
3. Proove enne ja pärast fikseerimist ning kõiki nendega kokkupuutuvaid materjale tuleb käsitseda nii, nagu need oleksid võimalised nakkust edasi kandma, ja kõrvaldada asjakohaste ettevaatusabinööudega. Ärge kunagi pipeteerige reaktiive suu kaudu ning vältige reaktiivid ja proovidega kokkupuudet naha ja limaskestadega. Kui reaktiivid või proovid puutuvad kokku tundlike piirkondadega, peske neid rohke veega.⁸
4. Reaktiivid mikroobne saastumine võib põhjustada mittespetsiifilise värvumise suurenemist.
5. Määratletust erinevad inkubatsiooniajad või temperatuurid võivad anda ekslikke tulemusi. Kasutaja peab kõik sellised muudatused kinnitama.
6. Ärge kasutage reaktiivi pärast viaalile trükitud kõlbulikkusaega.
7. Mikropolümeeride tuvastamise komplekti reaktiiv(id) on optimeeritud ja valmis kasutamiseks koos Biocare'i antikehade ja abireaktiividega. Soovitatavate protokollide ja kasutustingimuste kohta vaadake esmase antikeha ja teiste lisareaktiividate kasutusjuhiseid.
8. Järgige kõrvaldamismeetodi osas kohalike ja/või riigiasutustute nõudeid.
9. SDS on saadaval nõudmisel ja asub aadressil <http://biocare.net>.
10. Teatage kögist selle seadmega seotud tõsistest vahejuhtumitest, võttes ühendust kohaliku Biocare'i esindaja ja kasutaja asukohaliikmesriigi või riigi pädeva asutusega.

Kasutusjuhend:

Mikropolümeeride tuvastamise komplekti reaktiiv(id) on optimeeritud ja valmis kasutamiseks koos Biocare'i antikehade ja abireaktiividega. Soovitatavate protokollide ja kasutustingimuste kohta vaadake esmase antikeha ja teiste lisareaktiividate kasutusjuhiseid. Inkubatsiooniajad ja temperatuurid varieeruvad sõltuvalt järgitavast spetsiifilisest antikehade protokollist.

Automaatse värvimisinstrumendi kasutamisel lugege tööparametrite kohta konkreetse instrumendi kasutusjuhendit ja kasutusjuhendit.

Üldised protseduurietapid IHC läbiviimiseks:

1. Parafiini eemaldamine: Deparafiini eemaldage objektklaasid Slide Brite'iis või ksüleenis. Hüdraatiseerige slaidid sorteeritud alkoholide seerias vette.
2. Peroksidiplook: blokeerige 5 minutit Peroxidized 1-ga.
3. Eeltöötluslahus/-protokoll: soovitatud eeltöötluslahuse ja -protokoli leiate vastava primaarse antikeha andmelehel.
5. Avidin Block: inkubeerige 10-20 minutit toatemperatuuril Biocare'i avidiiniga.
6. Biotiiniplokk: inkubeerige 10-20 minutit toatemperatuuril Biocare'i biotiiniga.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Estonian

BIOCARE
MEDICAL

valmistatud (st lahjendatud sama kontsentratsioonini, kasutades sama lahjendit) kasutamiseks samal viisil kui esmane antikeha, kuid sellel ei ole spetsiifilist reaktiivsust inimese kudedega samas maatriksis/lahuses kui Biocare'i antikeha. Ainuksi lahjendit võib kasutada vähem soovitava alternatiivina eelnevalt kirjeldatud negatiivsete reaktiivide kontrollidele. Negatiivse reaktiivi kontrolli inkubatsiooniperiood peaks vastama primaarse antikeha inkubatsiooniperioodile.

Kui seerialöikudel kasutatakse mitme antikeha paneele, võivad ühe objektiklaasi negatiivselt värvunud alad toimida negatiivse/mittespetsiifilise seondumise taustakontrollina teiste antikehade jaoks. Endogeense ensüümi aktiivsuse või ensüümide mittespetsiifilise seondumise eristamiseks spetsiifilisest immunoreaktiivsusest võib täiendavaid patsiendi kudesid värvida ainult substraat-kromogeeni või ensüümi kompleksidega (PAP, avidiin-biotiin, streptaviidiin) ja substraat-kromogeeniga.

Testi kinnitamine:

Enne antikeha või värvimissüsteemi esmakordset kasutamist diagnostilises protseduuris peaks kasutaja kontrollima antikeha spetsiifilisust, testides seda mitmel ettevõttesisesel kudedel, millel on teadaolevad immunohistokeemilised omadused, mis esindavad teadaolevaid positiivseid ja negatiivseid kudesid. Vaadake eelnevalt selles tootelehe jaotises kirjeldatud kvaliteedikontrolli protseduuri ja CAP sertifitseerimisprogrammi kvaliteedikontrolli soovitusti,¹⁰ immunohistokeemia ja/või NCCLS IHC juhiste jaoks¹¹. Neid kvaliteedikontrolli protseduure tuleks korraga iga uue antikehaharjutus puhul või alati, kui analüüsiparametrid muutuvad. Katse kontrollimiseks sobivad koed, mis on loetletud jaotises Performance Characteristics.

Veaotsing:

Järgige antikehaspetsiifilise protokolli soovitusi vastavalt kaasasolevale andmelehele. Ebatüüpiliste tulemuste ilmnemisel võtke ühendust Biocare'i tehnilise toega numbril 1-800-542-2002.

Värvimise tölgendamine:

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG tekib pruuni (HRP) või punase (AP) värvuse reaktsiooni primaarse antikeha poolt lokaliseeritud antigeeni saitel. Enne patsiendi tulemuste tölgendamist peab kvalifitseeritud patoloog kontrollide värvimist hindama. Negatiivseid kontolle hinnatakse ja võrreldakse värvitud objektklaasidega, et tagada, et tähdatud värvumine ei ole mittespetsiifiliste interaktsioonide tagajärg.

Positiivne koekontroll:

Näidatud antikehaga värvitud positiivset koekontrolli tuleks esmalt uurida, et teha kindlaks, kas kõik reaktiivid töötavad korralikult. Sihtakkude sobiv värvimine (nagu ülapool näidatud) näitab positiivset reaktsioonivõimet. Kui positiivset koekontrolli ei näita positiivset värvumist, tuleks katseproovide tulemused lugeda kehtetuks.

Reaktsioniprodukti värvus võib varieeruda sõltuvalt kasutatud substraadi kromogeenidest. Oodatavate värvireaktsioonide kohta vaadake aluspinna pakendi infolehti. Lisaks võib metakromaasiat tähdada värvimismeetodi variatsioonides.¹²

Kui kasutatakse vastuvärvi, olenevalt kasutatud vastuvärvi inkubatsiooni pikkusest ja töhususest, põhjustab vastuvärvimine raku tuumade värvuse. Liigne või mittetäielik vastuvärvimine võib kahjustada tulemuste õiget tölgendamist. Soovitatud vastuvärvimise kohta vaadake protokolli/protokolli.

Negatiivsete kudedede kontroll:

Negatiivset koekontrolli tuleks uurida pärast positiivset koekontrolli, et kontrollida sihtantigeeni märgistamise spetsiifilisust primaarse antikehaga. Spetsiifilise värvimise puudumine negatiivses koekontrollis kinnitab antikehade ristreaktiivsuse puudumist rakkude/rakukomponentide suhtes.

Kui negatiivse väliskoe kontrolli korral ilmneb spetsiifiline värvumine (valepositiivne värvumine), tuleb patsiendi proovi tulemusi lugeda kehtetuks.

Mittespetsiifiline värvumine, kui see on olemas, on tavaiselt hajusa välimusega. Sidekoe juhuslikku värvimist võib tähdada ka liigelt formaliiiniga fikseeritud kudedede lõikudes. Värvimistulemuste tölgendamiseks kasutage terveid rakke. Nekrootilised või degenereerunud rakud värvuvad sageli mittespetsiifiliselt.

Patsiendi kude:

Uurige näidatud antikehaga värvitud patsiendi proove viimane. Positiivset värvimise intensiivsust tuleks hinnata negatiivse reaktiivi kontrolli mis tahes mittespetsiifilise taustavärvimise kontekstis. Nagu iga immunohistokeemilise testi puhul, tähdab negatiivne tulemus seda, et antigeeni ei tuvastatud, mitte seda, et antigeen ei olnud analüüsitud rakkudes/koes. Vajadusel kasutage valenegatiivsete reaktsioonide tuvastamiseks antikehade paneeli.

Täpsemat teavet näidatud antikehade immunoreaktiivsuse kohta leiate jaotisest Kokkuvõte ja selgitus, Piirangud ja Toimivusomadused.

Piirangud:

Üldised piirangud:

1. Sest *in vitro* diagnostika (IVD) kasutamine
2. See toode on mõeldud ainult professionaalseks kasutamiseks: Immunohistokeemia on mitmeastmeline diagnostiline protsess, mis koosneb sobivate reaktiivide valimise erikoolitusest; kudedele valik, fikseerimine ja töötlemine; IHC slaidi ettevalmistamine; ja värvimistulemuste tölgendamine.
3. Kasutamiseks ainult arsti retsepti alusel. (Ainult Rx)
4. Kudedele värvimine sõltub koe käsitsemisest ja töötlemisest enne värvimist. Ebaõige fikseerimine, külmutamine, sulatamine, pesemine, kuivatamine, kuumutamine, lõikamine või saastumine teiste kudedele või vedelikega võib põhjustada artefakte, antikehade kinnijäämist või valenegatiivseid tulemusi. Ebajärjekindlad tulemused võivad olla tingitud fikseerimis- ja kinnistamismeetodite erinevustest või koe omastest ebakorrapärasustest.¹³
5. Liigne või mittetäielik vastuvärvimine võib kahjustada tulemuste õiget tölgendamist.
6. Iga positiivse või negatiivse värvumise kliinilist tölgendust tuleks hinnata kliinilise pildi, morfoloogia ja muude histopatoloogiliste kriteeriumide kontekstis. Positiivse või negatiivse värvumise kliinilist tölgendamist tuleks täiendada morfoloogiliste uuringutega, milles kasutatakse nõuetekohast positiivset ja negatiivset sise- ja väliskontrolli ning muid diagnostilisi teste. Kvalifitseeritud patoloog, kes tunneb IHC antikehade, reaktiivid ja meetodite õiget kasutamist, vastab kõigi IHC lõpliku preparaadi ettevalmistamiseks ja tölgendamiseks kasutatud etappide tölgendamise eest.
7. Konkreetse rakenduse optimaalsed protokollid võivad erineda. Nende hulka kuuluvad (kuid mitte ainult) fikseerimine, kuumuse taastamine meetod, inkubatsioonijad, antikehade lahjendamine, koelöike paksus ja kasutatud tuvastamiskomplekt. Soovitatavate protokollide ja kasutustingimuste kohta vaadake esmase antikeha ja teiste lisareaktiivide kasutusjuhiseid. Andmelehe soovitused ja protokollid põhinevad ainult Biocare toodete kasutamisel. Löppkokkuvõttes vastab urija optimaalsete tingimuste kindlaks määramise eest.
8. See toode ei ole ette nähtud kasutamiseks voolutsütomeetriasis. Voolutsütomeetria jõudlusnäitajaid ei ole määratud.
9. B-hepatiidi viirusega nakatunud ja B-hepatiidi pinnaantigeeni (HBsAg) sisaldavate inimeste kudedel võib ilmneda mädaröika peroksüdaasiga mittespetsiifiline värvumine.¹⁴
10. Reaktiivid võivad avaldada ootamatuid reaktsioone varem testimata kudedes. Ootamatute reaktsioonide võimalust isegi testimist koerühmades ei saa täielikult välistada antigeeni ekspressooni

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

37/116
 TP v3 (12/15/2021)
Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Estonian

BIOCARE
MEDICAL

- bioloogilise varieeruvuse tõttu kasvajates või muudes patoloogilistes kudedes.¹⁵ Dokumenteeritud ootamatu(te) reaktsiooni(de)ga võtke ühendust Biocare'i tehnilise toega numbril 1-800-542-2002 või veebisaidil biocare.net pakutava tehnilise toe teabe kaudu.
11. Normaalsed/mitteimmununsed seerumid, mis pärinevad samast loomsest allikast kui blokeerimisetappides kasutatavad sekundaarsed antiseerumid, võivad autoantikehadesse vooluduslike antikehadesse tõttu põhjustada valenegatiivseid või valepositiivseid tulemusi.
 12. Valepositiivseid tulemusi võib näha valkude või substraadi reaktsiooniproduktide mitteimmunoloogilise seondumise tõttu. Need võivad olla põhjustatud ka pseudoperoksidaasi aktiivsusest (erütrotsüüdid), endogeense peroksidaasi aktiivsusest (tsütokroom C) või endogeensed biotiinist (nt maks, rind, aju, neer), olenevalt kasutatavast immunovärvi tüübist.¹³
 13. Negatiivne tulemus tähendab, et antigeni ei tuvastatud, mitte seda, et uuritud rakkudes või koes antigeni puudus.

Tootepõhised piirangud:

Täiedavaid tootespetsiifilisi piiranguid pole.

Toimivusomadused:

Värvimine viidi läbi, kasutades protokolle, mis on esitatud antikehaspetsiifilistes kasutusjuhistes või vastavalt täpsustatule. Värvimise tundlikkust ja spetsiifilust hinnati mitmesugustes normaalsete neoplastiliste koetüüpide puhul, mida hinnati primaarsete antikehadesse väljatöötamise ajal.

Reprodutseeritavus:

Biocare'i tuvastamissüsteemide ja süsteemireaktiivide reproduutseeritavust kontrollitakse keskmise täpsusega mõõtmise teel, mille käigus testiti erinevaid reaktiivipartiisid pikema aja jooksul, kasutades erinevaid operaatoreid, analüütikuid, reaktiivipartiisid, kooproove ja seadmeid. Iga hinnatud tuvastamisreagendi värvimine oli järgepidev ja viidi läbi otuspärasel.

Veaotsing:

1. Objektiklaasid ei värvunud – Kontrollige, kas on kasutatud sobivat positiivset kontrollkudet, antikeha ja tuvastamisprodukte. Kontrollige, kas vaha eemaldamine võib eeltöötlemine pole täielik või vale.
2. Kõigi objektiklaaside nõrk värvamine – Kontrollige, kas on kasutatud sobivat positiivset kontrollkudet, antikeha ja tuvastamistooteid.
3. Kõigi slaidide liigne taust – võib esineda kõrge endogeense biotiini tase (kui kasutate biotiinipõhiseid tuvastamistooteid), endogeenset HRP aktiivsust, mis muudab kromogeeni värviliseks lõppooteks (kasutage peroksidaasi plökki), või võib esineda liigne mittespetsiifiline valgu interaktsioon (kasutage valku). blokk, nagu seerumi- või kaseiniipõhine blokeeriv lahus).
4. Koeosad pesevad slaididelt inkubeerimise ajal maha – Kontrollige slайдe, et veenduda, et need on positiivselt laetud.
5. Spetsiifiline värvamine on liiga tume – kontrollige protokolli, et teha kindlaks, kas objektiklaasile on rakendatud õige antikehade tiiter, samuti kõigi reaktiivide õiged inkubatsioonijad. Lisaks veenduge, et protokolis on piisavalt pesemisetappe, et eemaldada pärast inkubatsioonietappide lõppu liigsed reaktiivid.

Viited:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.

6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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 Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

38/116

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

TP v3 (12/15/2021)

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Finnish

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Käyttötarkoitus:

varten *in vitro* Diagnostinen käyttö

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG on tarkoitettu käytettäväksi joko manuaalisissa tai automaatisissa immunohistokemian (IHC) värväysten menetelmissä, joissa käytetään piparjuuriperoksidaasi (HRP) tai alkalinen fosfataasi (AP) streptavidiini-konjugauatti kaksivaiheista levitysmenetelmää. Tämä streptavidiini-konjugauattideketoion suunniteltu hiiren primääristen IgG-vasta-aineiden havaitsimiseen, jotka ovat sitoutuneet kohdeantigeeneihin formalinilla kiinnitettyissä, paraafiiniin upotetuissa (FFPE) kudoksissa IHC-värjäysprosessin aikana. Minkä tahansa värväytymisen tai sen puuttumisen klinistä tulkinnaa tulisi täydentää morfologisilla tutkimuksilla ja asianmukaisilla kontrollleilla, ja pätevän patologin tulee arvioida potilaan klinisen historian ja muiden diagnostisten testien yhteydessä.

Yhteenveto ja selitys:

The 4plus biotinyloitut vuohen anti-hiiri-IgG:n suunniteltu käyttämällä kaksivaiheista menetelmää hiiren primääristen vasta-aineiden havaitsemiseksi vasta-aine-entsyymikompleksin muodostamiseksi. Tämä kompleksi visualisoitaa sitten käyttämällä sopivaa substraattia/kromogeenia. Kaksivaiheessa menetelmässä sekundäärinen vasta-aine biotinoidaan ja entsyymileimattua streptavidiinia lisätään peräkkäin. Kaksivaiheinen menetelmä on suunniteltu vahvistamaan havaitsemista tapauksissa, joissa antigeni ilmentäväät vähän. Tämä biotinyloitut vasta-aine reagoi hiiren IgG:n raskaiden ja kevyiden ketjujen kanssa. Se adsorboituu hevosta, nautaa ja ihmistä vastaan. Se reagoi kaikkien hiiren IgG-alaluokkien ja hiiren IgM:n kanssa. Se on affinitettipuhdistettu minimaalisella ristireaktiolla ihmisen, naudan ja hevosien seerumin proteiineihin. Pitkä välikevari on sijoitettu biotiiniin ja sekundaarisen vasta-aineen väliin herkkyyden lisäämiseksi streptavidiinikonjugaattien kanssa kytkeettynä. 4plus Biotinylated goat Anti-Mouse IgG:tä voidaan käyttää joko streptavidiinipiparjuuriperoksidaasin tai streptavidiinialkalisen fosfataasin havaitsemisjärjestelmien kanssa.

Menettelyn periaate:

Tätä mikropolymerien havaitsemistarjaa voidaan käyttää formaliniini-kiinnitetyjen, paraafiiniin upotettujen kudosleikkeiden immunohistokemian testaamiseen. Yleensä immunohistokemiallinen (IHC) värväystekniikat mahdollistavat antigenien visualisoinnin soveltamalla peräkkäin a spesifinen vasta-aine antigenille (primaarin vasta-aine), sekundaarinen vasta-aine primaariselle vasta-aineelle (valinnainen linkkivasta-aine/koetti), entsyymikompleksi ja kromogeelinien substraatti, jossa on pesuvaheet. Kromogeelin entsyymiattein aktivaatio johtaa näkyvään reaktiotuotteeseen antigenikohdassa. Näyte voidaan sitten vastavärjätä ja peittää. Tulokset tulkitaan valon avulla mikroskooppi ja apu patofysiologisten prosessien erotusdiagnoosissa, jotka voivat tai olla ei välittämättä liity tiettyyn antigeniin.

Materiaalit ja menetelmät:

Mukana toimitetut reagenssit:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Liuottaminen, sekoitus, laimennus, titraus:

Streptavidiinipohjaiset tunnistussarjan reagenssit on optimoitu ja valmiita käytettäväksi Biocare-vasta-aineiden ja apureagenssien kanssa. Käyttöövalmiuksi saattamista, sekoittamista, laimentamista tai titrausta ei vaadita.

Tunnetut sovellukset:

Immunohistokemia (formaliinilla kiinnitetyt paraafiiniin upotetut kudokset)

Lajien reaktiivisuus:

Hiiren IgG raskaat ja kevyet ketjut

Toimitettu nimellä:

Puskuroitu suolaliuos, pH 7,2-7,4, sisältää aproteiinikantajaa ja alle 0,01 % ProClin 300 ja/tai alle 0,5 % ProClin 950 säilöntääineena. Katso lisätietoja käyttöturvallisuustiedotteesta.

Tarvittavat materiaalit ja reagenssit, joita ei toimiteta:

Mikroskoopin objektilasit, positiivisesti varautuneet Positiiviset ja negatiiviset kudoskontrollit Desert Chamber* tai vastaava kuivausuuni (valinnainen) Ksyleeni tai ksyleenin korvike Etanol tai reagenssialkoholi Decoaking Chamber* tai vastaava painekattila (valinnainen) Deionisoitu tai tislattu vesi Pesupuskuri* Esikäsitteilyreagenssit* (valinnainen) Entsyymisulatus* (valinnainen) peroksidaasi esto* Proteiinilohko* (valinnainen) Avidin-Biotin Blocking Kit Primaarinen vasta-aine* Streptavidin etiketti* Negatiiviset kontrollireagenssit* Kromogeenit* Hematoksiiliini* (vastavärjäys) Sinityreagenssi* Asennusvälaine* Suojalasi Valomikroskooppi (40-400X suurennus)

* Biocare Medical Products: Lisätietoja luettelonumerista ja tilauksesta on Biocare Medicalin verkkosivustolla osoitteessa <http://biocare.net>. Tietty edellä luetellut reagenssit perustuvat tiettyyn sovellukseen ja käytettyyn tunnistusjärjestelmään.

Varastointi ja vakaus:

Säilytä 2°C - 8°C. Tuote säilyy näissä olosuhteissa säilytettynä injektiopullon etikettiin painettuun viimeiseen käyttöpäivään asti. Älä käytä viimeisen käyttöpäivän jälkeen. Varastointi muissa kuin määritellyissä olosuhteissa on tarkistettava. Sarjan reagenssi(t) ovat käyttöövalmiita, eikä niitä saa laimentaa. Biocare ei ole vahvistanut käyttäjän laimennetun reagenssin stabiilisuutta.

Positiiviset ja negatiiviset kontrollit tulee suorittaa samanaikaisesti kaikkien potilasnäytteiden kanssa. Jos havaitaan odottamatonta värväytymistä, jota ei voida selittää laboratoriomenetelmien vaihteluilla, ja epäillään vasta-aineongelmaa, ota yhteyttä Biocaren tekniseen tukeen numeroon 1-800-542-2002 tai biocare.net-sivustolla olevien teknisen tuen tietojen kautta.

Näytteen valmistus:

Formaliiniin kiinnitetyt kudokset soveltuvat käytettäväksi ennen paraafiiniin upottamista. Luukudokset tulee poistaa kalkki ennen kudosten käsittelyä

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

39/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Finnish

kudoksen leikkaamisen helpottamiseksi ja mikrotomin terien vaurioitumisen estämiseksi.^{1,2}

Asianmukaisesti kiinnitetty ja upotetut kudokset, jotka ilmentävät määritettyä antigenekohdetta, tulee säilyttää viileässä paikassa. Vuoden 1988 Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) -laki edellyttää 42 CFR:ssä §493.1259(b), jonka mukaan "Laboratorion on säilyttävä väärjätty objektilisitit vähintään kymmenen vuotta tutkia ja säilyttää näyttekkäleet vähintään kaksi vuotta tutkimuspäivästä".³

Kudosten hoito ennen väärjäystä:

Suorita Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) alla suositellun protokollan mukaisesti. HIER:n ruttiinomaisen käytön ennen IHC:tä on osoitettu minimoivan epäjohdonmukaisuuden ja standardoivan väärjäytymistä.^{4,5}

Varoitukset ja varotoimet:

1. Sarjan reagenssi sisältää alle <0,05 % ProClin 300:aa ja/tai alle 1 % 950> Käytä käsineitä ja suojaavatusta ja noudata kohtuullisia varotoimia käsittellessäsi, koska ProClin on luokiteltu ärsyttäväksi ja voi aiheuttaa iholosketuksen herkistymistä. Vältä joutumista silmiin, iholle ja limakalvoille.
2. Käsittele ihmisen- tai eläinperäisiä materiaaleja mahdollisesti biologisesti vaarallisina ja hävitä tällaiset materiaalit asianmukaisin varotoimin. Noudata altistumistapauksessa vastaanvien viranomaisten antamia terveysmääräyksiä.^{6,7}
3. Näytteitä ennen kiinnitystä ja sen jälkeen sekä kaikkia niille altistettuja materiaaleja tulee käsittää ikään kuin ne voisivat siirtää infektiota, ja ne on hävitettävä asianmukaisin varotoimin. Älä koskaan pipetoi reagensseja suun kautta ja vältä koskettamasta ihoa ja limakalvoja reagenssien ja näytteiden kanssa. Jos reagenssit tai näytteet joutuvat kosketuksiin herkkien alueiden kanssa, pese runsaalla vedellä.⁸
4. Reagenssien mikrobikontaminaatio voi johtaa epäspesifisen väärjäytymisen lisääntymiseen.
5. Muut kuin ilmoitetut inkubointijat tai lämpötilat voivat antaa virheellisiä tuloksia. Käyttäjän on vahvistettava kaikki tällaiset muutokset.
6. Älä käytä reagenssia pulloon painetun viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.
7. Mikropolymerien tunnistussarjan reagenssi(t) on optimoitu ja valmis käytettäväksi Biocare-vasta-aineiden ja apureagenssien kanssa. Katso suositellut protokollat ja käyttöolosuhteet ensisijaisen vasta-aineen ja muiden apureagenssien käyttöohjeista.
8. Noudata paikallisten ja/tai valtion viranomaisten vaatimuksia hävitysmenetelmistä.
9. Käyttöturvallisuustiedote on saatavilla pyynnöstä ja se sijaitsee osoitteessa <http://biocare.net>.
10. Ilmoita kaikista tähän laitteeseen liittyvistä vakavista tapahtumista ottamalla yhteyttä paikalliseen Biocaren edustajaan ja sen jäsenvaltion tai maan toimivaltaiseen viranomaiseen, jossa käyttäjä sijaitsee.

Käyttöohjeet:

Mikropolymerien tunnistussarjan reagenssi(t) on optimoitu ja valmis käytettäväksi Biocare-vasta-aineiden ja apureagenssien kanssa. Katso suositellut protokollat ja käyttöolosuhteet ensisijaisen vasta-aineen ja muiden apureagenssien käyttöohjeista. Inkubointijat ja -lämpötilat vaihtelevat noudatetun spesifisen vasta-aineen protokollen mukaan.

Kun käytät automaattista väärjäysinstrumenttia, katso laitteen käyttöoppaasta ja käyttöohjeista käyttöparametreja.

Yleiset menettelyvaiheet IHC:n suorittamiseksi:

1. Parafüünien poisto: Poista paraffinointi objektilaiselta Slide Britellä tai ksyleenillä. Hydratoi liukulevyt sarjassa luokiteltuja alkoholeja veteen.
2. Peroksidiblokki: Lopeta 5 minuuttia Peroxidized 1:llä.

BIOCARE
MEDICAL

3. Esikäsittelyliuos/protokolla: Katso suositeltu esikäsittelyliuos ja -protokolla vastaavasta primäärvasta-ainetiedotteesta.

5. Avidin Block: Inkuboi 10-20 minuuttia huoneenlämpötilassa Biocaren Avidinin kanssa.

6. Biotiiniblokki: Inkuboi 10-20 minuuttia huoneenlämpötilassa Biocaren biotiiniin kanssa.

7. Proteiinilohko (valinnainen): Inkuboi 10-15 minuuttia huoneenlämmössä (RT) Background Sniperin kanssa.

8. Primaarinen vasta-aine: Katso inkubaatioaika vastaavasta primäärvasta-aineesta.

9. Linkki: Inkuboi 10 minuuttia huoneenlämpötilassa 4plus Biotinylated Link -yhdisteen kanssa.

10. Leima: Inkuboi 10-20 minuuttia huoneenlämpötilassa 4plus Streptavidin HRP:n tai Streptavidin AP Labelin kanssa.

11. Kromogeeni: Inkuboi 10-20 minuuttia huoneenlämpötilassa Biocaren DAB:n kanssa tai inkuboi 5-7 minuuttia huoneenlämpötilassa Warp Redin kanssa.

12. Vastavärys: Vastavärys hematoksiiliin. Huuhtele deionisoidulla vedellä. Levitä Tacha's Bluing -liuosta 1 minuutin ajan. Huuhtele deionisoidulla vedellä.

Tekniset huomautukset:

1. Käytä pesuvaheisiin TBS:ää.

Laadunvalvonta:

Katso CLSI-laatustandardit immunohistokemiallisten määritysten suunnittelua ja toteutusta varten; Hyväksyty Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011.⁹

Positiivinen kudoskontrolli:

Ulkoisten positiivisten kontrollimateriaalien tulee olla tuoreita näytteitä, jotka on kiinnitetty, käsitelty ja upotettava mahdollisimman pian samalla tavalla kuin potilasnäytteet. Positiiviset kudoskontrollit osoittavat oikein valmistettuja kudosia ja asianmukaisia väärjästekniikoita. Yksi positiivinen ulkoinen kudoskontrolli jokaista testiolosuhteita kohden tulisi sisällyttää jokaiseen väärjäysajoon.

Ulkoisiin positiivisiin kontrollimateriaaleihin käytetyt kudokset tulee valita potilasnäytteistä, joissa on hyvin karakterisoitu alhainen positiivinen kohdeaktiivisuus, joka antaa heikon positiivisen väärjäytymisen. Ulkoisten positiivisten kontrollien alhainen positiivisuustaso on suunniteltu varmistamaan pienesten muutosten havaitsemisen primaarisen vasta-aineen herkyydessä epästabilisudesta tai IHC-metodologian ongelmista. Kaupallisesti saatavilla olevat kudoskontrollilevyt tai näytteet, jotka on käsitelty eri tavalla kuin potilasnäytteet(t), validoivat vain reagenssin suorituskyvyn, eivätkä ne varmista kudosten valmistelua.

Tunnettuja positiivisia kudoskontrolleja tulee käyttää vain prosessoitujen kudosten ja testireagenssien oikean suorituskyyn seurantaan sen sijaan, että ne olisivat apuna potilasnäytteiden erityisen diagnoosin laatimisessa. Jos positiiviset kudoskontrollit eivät osoita positiivista väärjäytymistä, testimäytteiden tuloksia on pidettävä virheellisinä.

Negatiivisten kudosten kontrolli:

Käytä negatiivista kudoskontrollia, joka on kiinnitetty, käsitelty ja upotettu identtisellä tavalla potilasnäytteiden kanssa joka väärjäysajossa varmistakaesi IHC:n primaarisen vasta-aineen spesifisyyden. Kohdeantigenin osoittamiseen ja spesifisen taustaväärjäytymisen osoittamiseen (vääriä positiivinen värys). Myös useimmat eri solutyyppit, joita esiintyy useimmissa kudosleikkkeissä, voivat laboratorio käyttää niitä sisäisinä negatiivisina kontrollipaikkoina IHC:n suorituskyvyn tarkistamiseen tekniset tiedot. Nämetyypit ja -lähteet, joita voidaan käyttää negatiiviseen kudokseen säätitmet on lueteltu Suorituskykyominaisuudet-osiassa.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Finnish

BIOCARE
MEDICAL

Jos negatiivisessa kudoskontrollissa esiintyy spesifistä värjäytymistä (väärä positiivinen värjäytyminen), potilasnäytteillä saatuja tuloksia on pidettävä virheellisinä.

Epäspesifinen negatiivinen reagensikkontrolli:

Käytä epäspesifistä negatiivista reagensikkontrollia primaarisen vasta-aineen sijasta kunkin potilasnäytteen leikkeen kanssa arviodaksesi epäspesifistä värjäytymistä ja mahdollistaan spesifisen värjäytymisen paremman tulkinnan antigenikohdassa. Ihannetapauksessa negatiivinen reagensikkontrolli sisältää vasta-aineen, joka on tuotettu ja valmistettu (eli laimennettu samaan konsentraatioon käyttäen samaa laimennusainetta) käytettäväksi samalla tavalla kuin ensisijainen vasta-aine, mutta sillä ei ole spesifistä reaktiivisuutta ihmiskudosten kanssa samassa matriisissa/liuokseissa kuin Biocare-vasta-aine. Pelkkää laimennusainetta voidaan käyttää vähemmän toivottavana vaihtoehtona aiemmin kuvatuille negatiivisille reagensikkontolleille. Negatiivisen reagensikkontrollin inkubaatioajan tulee vastata primaarisen vasta-aineen inkubaatioaikaan.

Kun sarjalekkeissä käytetään useiden vasta-aineiden paneeleja, yhden objektilasin negatiivisesti värjätyneet alueet voivat toimia negatiivisena/epäspesifisena sitoutumisen taustakontrollina muille vasta-aineille. Endogeennien entsyymiaktiivisuuden tai entsyymien epäspesifisen sitoutumisen erottamiseksi spesifistä immunoreaktiivisuudesta voidaan potilaan lisäkudoksia värjätä yksinomaan substraatti-kromogeeni- tai entsyymikomplekseilla (PAP, avidiini-biotiini, streptavidiini) ja substraatti-kromogeenilla, vastaavasti.

Määritynnan vahvistus:

Ennen vasta-aineen tai värjäysjärjestelmän ensimmäistä käyttöä diagnostisessa toimenpiteessä käyttäjän tulee varmistaa vasta-aineen spesifisyys testaamalla se sarjalla yrityksen sisäisiä kudoksia, joiden immunohistokemialliset suorituskykyominaisuudet tunnetaan ja jotka edustavat tunnettuja positiivisia ja negatiivisia kudoksia. Tutustu laadunvalvontamenettelyihin, jotka on kuvattu aiemmin tässä tuoteselosteossa ja CAP-sertifiointiohjelman laadunvalvontasuosituksissa.¹⁰ Immunohistokemiaa ja/tai NCCLS IHC -ohjetta varten¹¹. Nämä laadunvalvontatoimenpiteet on toistettava jokaiselle uudelle vasta-aineerälle tai aina, kun määritysparametreissa tapahtuu muutokset. Suorituskykyominaisuudet-osiossa luetellut kudokset soveltuват määritynksen todentamiseen.

Ongelmien karttoittaminen:

Noudata vasta-ainekohtaisia protokollan suosituksia toimitetun tietolomakkeen mukaisesti. Jos epätavallisia tuloksia ilmenee, ota yhteyttä Biocaren tekniseen tukeen numerossa 1-800-542-2002.

Värjäyksen tulkinta:

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG tuottaa ruskean (HRP) tai punaisen (AP) värireaktion primaarisen vasta-aineen paikantamissa antigenikohdissa. Ennen potilastulosten tulkintaa pätevän patologin on arvioitava kontrollien värjäyksä. Negatiiviset kontrollit arvioidaan ja niitä verrataan värjätyihin objektilaseihin sen varmistamiseksi, että havaittu värjäytyminen ei ole seurausta epäspesifisistä vuorovaikutuksista.

Positiivinen kudoskontrolli:

Osoitetulla vasta-aineella värjätty positiivinen kudoskontrolli tulee ensin tutkia sen varmistamiseksi, että kaikki reagensit toimivat oikein. Kohdesolujen asianmukainen värjäys (kuten edellä on osoitettu) osoittaa positiivista reaktiivisuutta. Jos positiiviset kudoskontrollit eivät osoita positiivista värjäytymistä, testinäytteillä saatuja tuloksia on pidettävä virheellisinä.

Reaktiottuoteen väri voi vaihdella riippuen käytetyistä substraattikromogeneeista. Katso odotetut värireaktiot alustan pakkaukselosteista. Lisäksi metakromiaa voidaan havaita värjäysmenetelmän muunnelmissa.¹²

Kun käytetään vastavärjäystä, riippuen käytetyn vastavärjäyksen inkubaation pituudesta ja tehotakuudesta, vastavärjäys johtaa soluytimen värjäämiseen. Liiallinen tai epätäydellinen vastavärjäys voi vaarantaa tulosten oikean tulkinnan. Katso suosittut vastavärjäyskäytännöt.

Negatiivinen kudoskontrolli:

Negatiivinen kudoskontrolli tulee tutkia positiivisen kudoskontrollin jälkeen primaarisen vasta-aineen kohdeantigeenin leiman spesifisyden varmistamiseksi. Spesifisen värjäytymisen puuttuminen negatiivisessa kudoskontrollissa vahvistaa vasta-aineen ristireaktiivisuuden puuttumisen soluja/solukomponentteja kohtaan. Jos negatiivisessa ulkoisessa kudoskontrollissa esiintyy erityistä värjäytymistä (väärä positiivinen värjäytyminen), potilasnäytteen tuloksia on pidettävä virheellisinä.

Epäspesifinen värjäys, jos sitä esiintyy, on yleensä hajanainen. Sidekudoksen satunnaista värjäytymistä voidaan havaita myös leikkeissä, jotka ovat peräisin liikaa formaliniasta kiinnitetyistä kudoksista. Käytä ehjää soluja värjäystulosten tulkitsemiseen. Nekroottiset tai rappeutuneet solut värjätyvät usein epäspesifisesti.

Potilaan kudos:

Tutki potilasnäytteet, jotka on värjätty osoitetulla vasta-aineella kestää. Positiivinen värjäytymisintensiteetti tulee arvioida negatiivisen reagensikkontrollin epäspesifisen taustavärjäyksen yhteydessä. Kuten missä tahansa immunohistokemiallisessa testissä, negatiivinen tulos tarkoittaa, että antigeenia ei havaittu, ei sitä, että antigeeni puuttui määritetyistä soluista/kudoksesta. Käytä tarvittaessa vasta-ainepaneelia tunnistakaaksi värät negatiiviset reaktiot.

Katso Yhteenvetö ja selitys, Rajoitukset ja Suorituskykyominaisuudet saadaksesi erityisiä tietoja osoitetusta vasta-aineen immunoreaktiivisuudesta.

Rajoitukset:

Yleiset rajoitukset:

1. varten *in vitro* diagnostinen (IVD) käyttö
2. Tämä tuote on tarkoitettu vain ammattikäytöön: Immunohistokemia on monivaiheinen diagnostinen prosessi, joka koostuu erityiskoulutuksesta sopivien reagensien valinnassa; kudosten valinta, kiinnitys ja käsittely; IHC-levyn valmistus; ja värjäystulosten tulkinta.
3. Vain lääkärin määräyksestä käytettäväksi. (Vain Rx)
4. Kudosvärjäys riippuu kudoksen käsittelystä ja prosessoinnista ennen värjäystä. Väärä kiinnitys, jäädyttäminen, sulattaminen, pesu, kuivaus, kuumennus, leikkaus tai kontaminaatio muilla kudoksilla tai nesteillä voi aiheuttaa artefakteja, vasta-aineen vangitsemista tai väärää negatiivisia tuloksia. Epäjohdonmukaiset tulokset voivat johtua vaihtelista kiinnitys- ja upotusmenetelmästä tai kudoksen sisäisistä epäsäännöllisyyksistä.¹³
5. Liiallinen tai epätäydellinen vastavärjäys voi vaarantaa tulosten oikean tulkinnan.
6. Kaikkien positiivisten tai negatiivisten värjäytymien kliininen tulkinta on arvioitava kliinisen esityksen, morfologian ja muiden histopatologisten kriteerien yhteydessä. Positiivisen tai negatiivisen värjäytymisen kliinistä tulkintaa tulisi täydentää morfolgisilla tutkimuksilla, joissa käytetään asianmukaisia positiivisia ja negatiivisia sisäisiä ja ulkoisia kontroleja sekä muita diagnostisia testejä. Pätevän patologin, joka tuntee IHC-vasta-aineiden, reagensien ja menetelmien oikean käytön, vastuulla on tulkita kaikki vaiheet, joita käytetään lopullisen IHC-valmisteen valmistelussa ja tulkinnassa.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

41/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Finnish

BIOCARE
MEDICAL

7. Optimaaliset protokollat tietylle sovellukselle voivat vaihdella. Näitä ovat muun muassa kiinnitys, lämmön talteenottomenetelmä, inkubaatioajat, vasta-ainelaimennus, kudosleikkeen paksuus ja käytetty havaitsemispakaus. Katso suositellut protokollat ja käyttöehdot ensisijaisen vasta-aineen ja muiden apureagenssien käyttöohjeista. Käyttöturvallisuustiedotteen suositukset ja protokollat perustuvat Biocare-tuotteiden yksinomaiseen käyttöön. Viime kädessä on tutkijan vastuulla määrittää optimaaliset olosuhteet.
8. Tätä tuotetta ei ole tarkoitettu käytettäväksi virtaussytometriassa. Virtaussytometriani suorituskykyominaisuus ei ole määritetty.
9. Hepatiitti B -viruksella infektoituneiden henkilöiden kudoksissa, jotka sisältävät hepatiitti B -pinta-antigeenia (HBsAg), voi esiintyä epäspesifistä piparjuuriperoksidaasin väärjäytymistä.¹⁴
10. Reagenssit voivat osoittaa odottamattomia reaktioita aiemmin testaamattonissa kudoksissa. Odottamattomien reaktioiden mahdollisuutta ei edes testatuissa kudosryhmissä voida täysin eliminoida antigeenin ilmentymisen biologisen vaihtelun vuoksi kasvaimissa tai muissa patologisissa kudoksissa.¹⁵ Ota yhteyttä Biocaren tekniseen tukeen numerossa 1-800-542-2002 tai biocare.net-sivustossa olevien teknisen tuen tietojen kautta ja kerro dokumentoiduista odottamattomista reaktioista.
11. Normaalit/ei-immuuniseerumit samasta eläinlähteestä kuin estovalaiseissa käytetyt sekundaariset antiseerumit voivat aiheuttaa vääriä negatiivisia tai vääriä positiivisia tuloksia autovasta-aineista tai luonnonlisista vasta-aineista johtuen.
12. Vääriä positiivisia tuloksia voidaan nähdä johtuen proteiinien tai substraattireaktiotuotteiden ei-immunologisesta sitoutumisesta. Ne voivat johtua myös pseudoperoksidaasiaktiivisuudesta (erytrosyytit), endogeenisesta peroksidaasiaktiivisuudesta (sytokromi C) tai endogeenisesta biotiinista (esim. maksa, rinta, aivot, munuaiset) riippuen käytetyn immunovärjäykseen tyyppistä.¹³
13. Negatiivinen tulos tarkoittaa, että antigeenia ei havaittu, ei sitä, että antigeeni puuttui tutkituista soluista tai kudoksesta.

Tuotekohtaiset rajoitukset:

Ei muita tuotekohtaisia rajoituksia.

Suorituskykyominaisuudet:

Väärjäys suoritettiin käyttämällä vasta-aineekohtaisissa käyttöohjeissa annettuja tai määriteltyjä protokolia. Väärjäytymisen herkkyys ja spesifisyys arvioitiin useissa normaalissa ja neoplastisissa kudostypeissä, jotka arvioitiin pramaaristen vasta-aineiden kehittymisen aikana.

Toistettavuus:

Biocaren tunnistusjärjestelmien ja järjestelmäreagenssien toistettavuus varmistetaan keskimääräisellä tarkkuudella, jossa eri reagenssierät testattiin pitkän ajanjakson ajan käyttämällä erilaisia toimijoita, analytyikoita, reagenssieriä, kudosnäytteitä ja laitteita. Jokaiselle arvioidulle detektioreagenssille saatu väärjäys oli johdonmukainen ja suoritettiin odotetulla tavalla.

Ongelmien karttoittaminen:

1. Objektilisat ei väärjyneet – Tarkista, että on käytetty asianmukaista positiivista kontrollikudosta, vasta-ainetta ja havaitsemistuotteita. Tarkista, ettei vahanpoisto tai esikäsittely ole täydellinen tai virheellinen.
2. Kaikkien objektilasien heikko väärjäys – Tarkista, että on käytetty asianmukaista positiivista kontrollikudosta, vasta-ainetta ja havaitsemistuotteita.
3. Kaikkien objektilasien liiallinen tausta – Endogeenistä biotiinia (jos käytät biotiinipohjaisia tunnistustuotteita), endogeenistä HRP-aktiivisuutta, joka muuttaa kromogeenin väriiliseksi lopputootteeksi (käytä peroksidaasisalpaa), tai ylimääräistä epäspesifistä

proteiinivuorovaikutusta (käytä proteiinia) esto, kuten seerumi- tai kaseiinipohjainen estoliuos).

4. Kudososat pesevät objektilisat pois inkubaation aikana – Tarkista objektilisat varmistaaksesi, että ne ovat positiivisesti varautuneita.
5. Erityinen väärjäys liian tumma – Tarkista protokolla määritääksesi, onko objektilisaihin käytetty oikea vasta-ainetiitteri, sekä oikeat inkubaatioajat kaikille reagensseille. Varmista lisäksi, että protokollassa on riittävästi pesuvaiheita ylimääräisten reagenssien poistamiseksi inkubointivaiheiden jälkeen.

Viitteet:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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 Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

42/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

French

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Utilisation prévue :

Pour *in vitro* Utilisation diagnostique

L'IgG anti-souris de chèvre biotinylée 4plus est destinée à être utilisée dans les protocoles de coloration d'immunohistochimie (IHC) manuels ou automatisés utilisant une méthode d'application en deux étapes avec un conjugué de streptavidine à la peroxydase de raiort (HRP) ou à la phosphatase alcaline (AP). Cette détection de conjugué streptavidine est conçue pour la détection des anticorps primaires IgG de souris liés aux antigènes cibles dans les tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE) pendant le processus de coloration IHC. L'interprétation clinique de toute coloration ou de son absence doit être complétée par des études morphologiques et des contrôles appropriés et doit être évaluée dans le contexte des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques effectués par un pathologiste qualifié.

Résumé et explication :

Le IgG anti-souris de chèvre biotinylée 4plus est conçu en utilisant une méthode en deux étapes pour détecter les anticorps primaires de souris afin de former un complexe anticorps-enzyme. Ce complexe est ensuite visualisé en utilisant un substrat/chromogène approprié. Dans la méthode en deux étapes, l'anticorps secondaire est biotinylé et une streptavidine supplémentaire marquée par une enzyme est appliquée séquentiellement. La méthode en deux étapes est conçue pour amplifier la détection dans les cas d'antigènes faiblement exprimés.

Cet anticorps biotinylé réagit avec les chaînes lourdes et légères des IgG de souris. Il est adsorbé contre les chevaux, les bovins et les humains. Il réagit avec toutes les sous-classes d'IgG de souris et les IgM de souris. Il a été purifié par affinité avec une réaction croisée minimale avec les protéines sériques humaines, bovines et équines. Un long bras espaceur a été positionné entre la biotine et l'anticorps secondaire, pour augmenter la sensibilité lorsqu'il est couplé à des conjugués de streptavidine. Les IgG anti-souris de chèvre biotinylées 4plus peuvent être utilisées avec les systèmes de détection de streptavidine peroxydase de raiort ou de streptavidine phosphatase alcaline.

Principe de procédure :

Ce kit de détection de micropolymères peut être utilisé dans les tests immunohistochimiques de coupes de tissus fixées au formol et incluses en paraffine. En général, immunohistochimique (IHC) Les techniques de coloration permettent la visualisation des antigènes via l'application séquentielle d'un anticorps spécifique de l'antigène (anticorps primaire), un anticorps secondaire de l'anticorps primaire (lien optionnel anticorps/sonde), un complexe enzymatique et un substrat chromogénique avec étapes de lavage interposées. L'activation enzymatique du chromogène entraîne un produit de réaction visible au site de l'antigène. Le spécimen peut ensuite être contre-coloré et recouvert d'une lamelle. Les résultats sont interprétés à l'aide d'une lumière microscope et aide au diagnostic différentiel des processus physiopathologiques, qui peuvent ou peut ne pas être associé à un antigène particulier.

Matériels et méthodes:

Réactifs fournis :

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Reconstitution, Mélange, Dilution, Titrage :

Le(s) réactif(s) du kit de détection à base de streptavidine sont optimisés et prêts à être utilisés avec les anticorps Biocare et les réactifs auxiliaires. Aucune reconstitution, mélange, dilution ou titrage n'est requis.

Applications connues :

Immunohistochimie (tissus inclus en paraffine fixés au formol)

Réactivité des espèces :

Chaînes lourdes et légères d'IgG de souris

Fourni comme :

Solution saline tamponnée, pH 7,2-7,4, contenant un support protéique et moins de 0,01 % de ProClin 300 et/ou moins de 0,5 % de ProClin 950 comme conservateur. Voir la fiche de données de sécurité pour plus de détails.

Matériels et réactifs nécessaires mais non fournis :

Lames de microscope, chargées positivement
Contrôles tissulaires positifs et négatifs
Chambre du désert* ou étuve de séchage similaire (en option)
Xylène ou substitut de xylène
Éthanol ou alcool réactif
Chambre de décloisonnement* ou autocuiseur similaire (facultatif)
Eau désionisée ou distillée
Tampon de lavage*
Réactifs de prétraitement* (facultatif)
Digestion enzymatique* (facultatif)
Blocage de la peroxydase*
Bloc de protéines* (facultatif)
Kit de blocage avidine-biotine
Anticorps primaire*
Étiquette streptavidine*
Réactifs de contrôle négatif*
Chromogènes*
Hématoxiline* (contre-colorant)
Réactif de bleuississement*
Support de montage*
Lamelle de verre
Microscope optique (grossissement 40-400X)

* Produits Biocare Medical : reportez-vous au site Web Biocare Medical situé à l'adresse <http://biocare.net> pour plus d'informations sur les numéros de catalogue et les commandes. Certains réactifs répertoriés ci-dessus sont basés sur une application spécifique et sur le système de détection utilisé.

Stockage et stabilité :

Conserver entre 2 °C et 8 °C. Le produit est stable jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette du flacon lorsqu'il est conservé dans ces conditions. Ne pas utiliser après la date de péremption. Le stockage dans des conditions autres que celles spécifiées doit être vérifié. Le(s) réactif(s) du kit sont prêts à l'emploi et ne doivent pas être dilués. La stabilité du réactif dilué par l'utilisateur n'a pas été établie par Biocare.

Les contrôles positifs et négatifs doivent être effectués simultanément avec tous les échantillons de patients. Si une coloration inattendue est observée qui ne peut pas être expliquée par des variations dans les procédures de laboratoire et qu'un problème avec l'anticorps est suspecté, contactez le

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

French

support technique de Biocare au 1-800-542-2002 ou via les informations d'assistance technique fournies sur biocare.net.

Préparation des échantillons :

Les tissus fixés dans du formol peuvent être utilisés avant l'inclusion en paraffine. Les tissus osseux doivent être décalcifiés avant le traitement des tissus pour faciliter la coupe des tissus et éviter d'endommager les lames du microtome.^{4,2}

Les tissus correctement fixés et intégrés exprimant l'antigène cible spécifié doivent être conservés dans un endroit frais. La loi sur l'amélioration des laboratoires cliniques (CLIA) de 1988 exige dans 42 CFR§493.1259(b) que « Le laboratoire doit conserver les lames colorées au moins dix ans à compter de la date de examen et conserver les blocs d'échantillons au moins deux ans à compter de la date de l'examen.³

Traitement des tissus avant coloration :

Effectuer la récupération d'épitopes induite par la chaleur (HIER) selon le protocole recommandé ci-dessous. Il a été démontré que l'utilisation systématique de HIER avant l'IHC minimise les incohérences et standardise la coloration.^{4,5}

Avertissement et précautions:

1. Les réactifs du kit contiennent moins de <0,05 % de ProClin 300 et/ou moins de 1 % de 950>. Portez des gants et des vêtements de protection et prenez des précautions raisonnables lors de la manipulation car le ProClin est classé comme irritant et peut provoquer une sensibilisation par contact cutané. Évitez tout contact avec les yeux, la peau et les muqueuses.
2. Manipulez les matériaux d'origine humaine ou animale comme potentiellement dangereux et éliminez ces matériaux avec les précautions appropriées. En cas d'exposition, suivre les directives sanitaires des autorités responsables du lieu d'utilisation.^{6,7}
3. Les échantillons, avant et après fixation, ainsi que tous les matériaux qui y sont exposés doivent être manipulés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre une infection et éliminés avec les précautions appropriées. Ne jamais pipeter les réactifs par la bouche et éviter tout contact avec la peau et les muqueuses avec les réactifs et les échantillons. Si les réactifs ou les échantillons entrent en contact avec des zones sensibles, laver abondamment à l'eau.⁸
4. La contamination microbienne des réactifs peut entraîner une augmentation des colorations non spécifiques.
5. Des durées ou des températures d'incubation autres que celles spécifiées peuvent donner des résultats erronés. L'utilisateur doit valider une telle modification.
6. Ne pas utiliser de réactif après la date de péremption imprimée sur le flacon.
7. Le(s) réactif(s) du kit de détection de micropolymères sont optimisés et prêts à être utilisés avec les anticorps Biocare et les réactifs auxiliaires. Reportez-vous aux instructions d'utilisation des anticorps primaires et des autres réactifs auxiliaires pour connaître les protocoles et les conditions d'utilisation recommandés.
8. Suivez les exigences des autorités locales et/ou nationales concernant la méthode d'élimination.
9. La FDS est disponible sur demande et se trouve à <http://biocare.net>.
10. Signalez tout incident grave lié à cet appareil en contactant le représentant Biocare local et l'autorité compétente applicable de l'État membre ou du pays où se trouve l'utilisateur.

Mode d'emploi:

Le(s) réactif(s) du kit de détection de micropolymères sont optimisés et prêts à être utilisés avec les anticorps Biocare et les réactifs auxiliaires. Reportez-vous aux instructions d'utilisation des anticorps primaires et des autres réactifs auxiliaires pour connaître les protocoles et les conditions d'utilisation

BIOCARE
MEDICAL

recommandés. Les temps et les températures d'incubation varient en fonction du protocole d'anticorps spécifique suivi.

Lorsque vous utilisez un instrument de coloration automatisé, consultez le manuel d'utilisation de l'instrument spécifique et les instructions d'utilisation pour les paramètres de fonctionnement.

Étapes procédurales générales pour effectuer l'IHC :

1. Déparaffinisation : Déparaffinez les lames dans du Slide Brite ou du xylène. Hydratez les lames dans une série d'alcools classés pour arroser.
2. Blocage du peroxyde : Bloquer pendant 5 minutes avec Peroxidized 1.
3. Solution/Protocole de prétraitement : Veuillez vous référer à la fiche technique de l'anticorps primaire concerné pour connaître la solution et le protocole de prétraitement recommandés.
4. Bloc Avidine : Incuber pendant 10 à 20 minutes à température ambiante avec l'Avidine de Biocare.
5. Bloc de biotine : Incuber pendant 10 à 20 minutes à température ambiante avec la biotine de Biocare.
6. Bloc protéique (facultatif) : Incuber pendant 10 à 15 minutes à température ambiante (RT) avec Background Sniper.
7. Anticorps primaires : Veuillez vous référer à la fiche technique de l'anticorps primaire concerné pour connaître la durée d'incubation.
8. Link : Incuber pendant 10 minutes à température ambiante avec 4plus Biotinylated Link.
9. Étiquette : Incuber pendant 10 à 20 minutes à température ambiante avec 4plus Streptavidin HRP ou Streptavidin AP Label.
10. Chromogène : Incuber pendant 10 à 20 minutes à température ambiante avec le DAB de Biocare ou incuber pendant 5 à 7 minutes à température ambiante avec Warp Red.
11. Contre-coloration : Contre-coloration à l'hématoxyline. Rincer à l'eau déminéralisée. Appliquez la solution bleuissante de Tacha pendant 1 minute. Rincer à l'eau déminéralisée.

Notes techniques :

1. Utilisez TBS pour les étapes de lavage.

Contrôle de qualité:

Reportez-vous aux normes de qualité du CLSI pour la conception et la mise en œuvre de tests d'immunohistochimie ; Directives approuvées-Deuxième édition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁹

Contrôle tissulaire positif :

Les matériaux de contrôle positif externe doivent être des échantillons frais fixés, traités et incorporés dès que possible de la même manière que les échantillons du patient. Les contrôles tissulaires positifs indiquent des tissus correctement préparés et des techniques de coloration appropriées. Un contrôle tissulaire externe positif pour chaque ensemble de conditions de test doit être inclus dans chaque série de coloration.

Les tissus utilisés pour les matériaux de contrôle positif externe doivent être sélectionnés à partir d'échantillons de patients présentant de faibles niveaux bien caractérisés d'activité cible positive qui donnent une faible coloration positive. Le faible niveau de positivité des contrôles positifs externes est conçu de manière à garantir la détection de changements subtils dans la sensibilité des anticorps primaires dus à une instabilité ou à des problèmes avec la méthodologie IHC. Les lames de contrôle tissulaire disponibles dans le commerce ou les échantillons traités différemment des échantillons du patient valident uniquement les performances du réactif et ne vérifient pas la préparation des tissus.

Les contrôles tissulaires positifs connus ne doivent être utilisés que pour surveiller les performances correctes des tissus traités et des réactifs de test, plutôt que pour aider à formuler un diagnostic spécifique à partir

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

French

BIOCARE
MEDICAL

d'échantillons de patients. Si les contrôles tissulaires positifs ne parviennent pas à démontrer une coloration positive, les résultats des échantillons de test doivent être considérés comme invalides.

Contrôle tissulaire négatif :

Utilisez un contrôle tissulaire négatif fixé, traité et incorporé d'une manière identique aux échantillons du patient à chaque cycle de coloration pour vérifier la spécificité de l'anticorps primaire IHC pour démonstration de l'antigène cible et fournir une indication de la coloration de fond spécifique (coloration faussement positive). En outre, la variété des différents types de cellules présents dans la plupart des coupes de tissus peut être utilisé par le laboratoire comme sites de contrôle négatif interne pour vérifier les performances de l'IHC Caractéristiques. Les types et sources d'échantillons pouvant être utilisés pour les tissus négatifs les contrôles sont répertoriés dans la section Caractéristiques de performance.

Si une coloration spécifique (fausse coloration positive) se produit dans le contrôle tissulaire négatif, les résultats obtenus avec les échantillons du patient doivent être considérés comme invalides.

Contrôle réactif négatif non spécifique :

Utiliser un contrôle réactif négatif non spécifique à la place de l'anticorps primaire avec une section de chaque échantillon de patient pour évaluer la coloration non spécifique et permettre une meilleure interprétation de la coloration spécifique au site de l'antigène. Idéalement, un contrôle réactif négatif contient un anticorps produit et préparé (c'est-à-dire dilué à la même concentration en utilisant le même diluant) pour être utilisé de la même manière que l'anticorps primaire, mais ne présente aucune réactivité spécifique avec les tissus humains dans la même matrice/solution que l'anticorps Biocare. Le diluant seul peut être utilisé comme alternative moins souhaitable aux contrôles réactifs négatifs décrits précédemment. La période d'incubation du contrôle réactif négatif doit correspondre à celle de l'anticorps primaire.

Lorsque des panels de plusieurs anticorps sont utilisés sur des coupes en série, les zones de coloration négative d'une lame peuvent servir de contrôle de fond de liaison négatif/non spécifique pour d'autres anticorps. Pour différencier l'activité enzymatique endogène ou la liaison non spécifique des enzymes de l'immunoréactivité spécifique, des tissus supplémentaires du patient peuvent être colorés exclusivement avec des complexes substrat-chromogène ou enzymatiques (PAP, avidine-biotine, streptavidine) et substrat-chromogène, respectivement.

Vérification des analyses :

Avant la première utilisation d'un anticorps ou d'un système de coloration dans une procédure de diagnostic, l'utilisateur doit vérifier la spécificité de l'anticorps en le testant sur une série de tissus internes présentant des caractéristiques de performance immunohistochimiques connues représentant des tissus positifs et négatifs connus. Référez-vous aux procédures de contrôle qualité précédemment décrites dans cette section de la notice du produit et aux recommandations de contrôle qualité du programme de certification CAP^{ex} pour l'immunohistochimie et/ou la directive NCCLS IHC^c. Ces procédures de contrôle qualité doivent être répétées pour chaque nouveau lot d'anticorps ou chaque fois qu'il y a un changement dans les paramètres du test. Les tissus répertoriés dans la section Caractéristiques de performance conviennent à la vérification du test.

Dépannage:

Suivez les recommandations du protocole spécifique aux anticorps selon la fiche technique fournie. Si des résultats atypiques apparaissent, contactez le support technique de Biocare au 1-800-542-2002.

Interprétation de la coloration :

L'IgG anti-souris de chèvre biotinylée 4plus produit une réaction de couleur brune (HRP) ou rouge (AP) au niveau des sites antigéniques localisés par l'anticorps primaire. Avant l'interprétation des résultats des patients, la coloration des contrôles doit être évaluée par un pathologiste qualifié. Les contrôles négatifs sont évalués et comparés aux lames colorées pour garantir que toute coloration observée n'est pas le résultat d'interactions non spécifiques.

Contrôle tissulaire positif :

Le contrôle tissulaire positif coloré avec l'anticorps indiqué doit être examiné en premier pour s'assurer que tous les réactifs fonctionnent correctement. La coloration appropriée des cellules cibles (comme indiqué ci-dessus) indique une réactivité positive. Si les contrôles tissulaires positifs ne parviennent pas à démontrer une coloration positive, tous les résultats obtenus avec les échantillons de test doivent être considérés comme invalides.

La couleur du produit de réaction peut varier en fonction des chromogènes du substrat utilisé. Reportez-vous aux notices du substrat pour connaître les réactions de couleur attendues. De plus, une métachromasie peut être observée dans des variations de la méthode de coloration.¹²

Lorsqu'une contre-coloration est utilisée, en fonction de la durée d'incubation et de la puissance de la contre-coloration utilisée, la contre-coloration entraînera une coloration des noyaux cellulaires. Une contre-coloration excessive ou incomplète peut compromettre la bonne interprétation des résultats. Reportez-vous au(x) protocole(s) pour connaître la contre-coloration recommandée.

Contrôle tissulaire négatif:

Le contrôle tissulaire négatif doit être examiné après le contrôle tissulaire positif afin de vérifier la spécificité du marquage de l'antigène cible par l'anticorps primaire. L'absence de coloration spécifique dans le contrôle tissulaire négatif confirme l'absence de réactivité croisée des anticorps avec les cellules/composants cellulaires. Si une coloration spécifique (fausse coloration positive) se produit dans le contrôle tissulaire externe négatif, les résultats obtenus avec l'échantillon du patient doivent être considérés comme invalides.

La coloration non spécifique, si elle est présente, a généralement un aspect diffus. Des colorations sporadiques du tissu conjonctif peuvent également être observées dans des coupes de tissus excessivement fixés au formol. Utilisez des cellules intactes pour l'interprétation des résultats de coloration. Les cellules nécrotiques ou dégénérées se colorent souvent de manière non spécifique.

Tissu du patient :

Examiner les échantillons de patients colorés avec l'anticorps indiqué dernier. L'intensité de la coloration positive doit être évaluée dans le contexte de toute coloration de fond non spécifique du contrôle réactif négatif. Comme pour tout test immunohistochimique, un résultat négatif signifie que l'antigène n'a pas été détecté, et non que l'antigène était absent dans les cellules/tissus analysés. Si nécessaire, utilisez un panel d'anticorps pour identifier les réactions faussement négatives.

Reportez-vous au résumé et à l'explication, aux limites et aux caractéristiques de performance pour obtenir des informations spécifiques concernant l'immunoréactivité des anticorps indiquée.

Limites:

Limites générales :

- Pour *in vitro* utilisation diagnostique (IVD)

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

French

BIOCARE
MEDICAL

2. Ce produit est destiné à un usage professionnel uniquement : L'immunohistochimie est un processus de diagnostic en plusieurs étapes qui consiste en une formation spécialisée dans la sélection des réactifs appropriés ; sélection, fixation et traitement des tissus ; préparation de la lame IHC ; et interprétation des résultats de coloration.
3. À utiliser uniquement sur prescription médicale. (Réception uniquement)
4. La coloration des tissus dépend de la manipulation et du traitement du tissu avant la coloration. Une mauvaise fixation, congélation, décongélation, lavage, séchage, chauffage, sectionnement ou contamination par d'autres tissus ou fluides peut produire des artefacts, un piègeage d'anticorps ou des résultats faussement négatifs. Des résultats incohérents peuvent être dus à des variations dans les méthodes de fixation et d'intégration, ou à des irrégularités inhérentes au tissu.¹³
5. Une contre-coloration excessive ou incomplète peut compromettre la bonne interprétation des résultats.
6. L'interprétation clinique de toute coloration positive ou négative doit être évaluée dans le contexte de la présentation clinique, de la morphologie et d'autres critères histopathologiques. L'interprétation clinique de toute coloration positive ou négative doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles internes et externes positifs et négatifs appropriés ainsi que d'autres tests de diagnostic. Il est de la responsabilité d'un pathologiste qualifié qui connaît l'utilisation appropriée des anticorps, des réactifs et des méthodes IHC d'interpréter toutes les étapes utilisées pour préparer et interpréter la préparation IHC finale.
7. Les protocoles optimaux pour une application spécifique peuvent varier. Ceux-ci incluent, sans s'y limiter, la fixation, la méthode de récupération de chaleur, les temps d'incubation, la dilution des anticorps, l'épaisseur des coupes de tissu et le kit de détection utilisé. Reportez-vous aux instructions d'utilisation des anticorps primaires et des autres réactifs auxiliaires pour connaître les protocoles et les conditions d'utilisation recommandés. Les recommandations et protocoles de la fiche technique sont basés sur l'utilisation exclusive des produits Biocare. En fin de compte, il incombe à l'enquêteur de déterminer les conditions optimales.
8. Ce produit n'est pas destiné à être utilisé en cytométrie en flux. Les caractéristiques de performance n'ont pas été déterminées pour la cytométrie en flux.
9. Les tissus provenant de personnes infectées par le virus de l'hépatite B et contenant l'antigène de surface de l'hépatite B (AgHBs) peuvent présenter une coloration non spécifique à la peroxydase de raifort.¹⁴
10. Les réactifs peuvent présenter des réactions inattendues dans des tissus non testés auparavant. La possibilité de réactions inattendues, même dans les groupes de tissus testés, ne peut être complètement éliminée en raison de la variabilité biologique de l'expression de l'antigène dans les néoplasmes ou dans d'autres tissus pathologiques.¹⁵ Contactez le support technique de Biocare au 1-800-542-2002, ou via les informations de support technique fournies sur biocare.net, avec une ou plusieurs réactions inattendues documentées.
11. Les sérum normaux/non immuns provenant de la même source animale que les antisérum secondaires utilisés dans les étapes de blocage peuvent provoquer des résultats faussement négatifs ou faussement positifs en raison d'auto-anticorps ou d'anticorps naturels.
12. Des résultats faussement positifs peuvent être observés en raison d'une liaison non immunologique des protéines ou des produits de réaction du substrat. Ils peuvent également être causés par une activité pseudo-peroxydase (érythrocytes), une activité peroxydase endogène (cytochrome C) ou une biotine endogène (par exemple, foie, sein, cerveau, rein), selon le type d'immunocoloration utilisé.¹³
13. Un résultat négatif signifie que l'antigène n'a pas été détecté et non que l'antigène était absent dans les cellules ou les tissus examinés.

Limites spécifiques au produit :

Aucune limitation supplémentaire spécifique au produit.

Caractéristiques de performance:

La coloration a été réalisée en utilisant les protocoles fournis dans les instructions d'utilisation spécifiques de l'anticorps ou comme spécifié. La sensibilité et la spécificité de la coloration ont été évaluées sur une gamme de types de tissus normaux et néoplasiques évalués lors du développement d'anticorps primaires.

Reproductibilité :

La reproductibilité des systèmes de détection et des réactifs du système Biocare est vérifiée par une mesure de précision intermédiaire dans laquelle divers lots de réactifs ont été testés sur une période prolongée en utilisant divers opérateurs, analystes, lots de réactifs, échantillons de tissus et équipements. La coloration obtenue pour chaque réactif de détection évalué était cohérente et réalisée comme prévu.

Dépannage:

1. Aucune coloration des lames – Vérifiez que le tissu de contrôle positif, les anticorps et les produits de détection appropriés ont été utilisés. Vérifiez si le retrait ou le prétraitement de la cire est incomplet ou inappropriate.
2. Faible coloration de toutes les lames – Vérifiez que le tissu de contrôle positif, les anticorps et les produits de détection appropriés ont été utilisés.
3. Fond excessif de toutes les lames – Il peut y avoir des niveaux élevés de biotine endogène (si vous utilisez des produits de détection à base de biotine), une activité HRP endogène convertissant le chromogène en produit final coloré (utilisez un bloc de peroxydase) ou une interaction protéique non spécifique excessive (utilisez un bloc, comme une solution de blocage à base de sérum ou de caséine).
4. Les coupes de tissus sont lavées sur les lames pendant l'incubation. Vérifiez les lames pour vous assurer qu'elles sont chargées positivement.
5. Coloration spécifique trop foncée – Vérifiez le protocole pour déterminer si le titre d'anticorps approprié a été appliqué à la lame, ainsi que les temps d'incubation appropriés pour tous les réactifs. De plus, assurez-vous que le protocole comporte suffisamment d'étapes de lavage pour éliminer les réactifs en excès une fois les étapes d'incubation terminées.

Les références:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

French

BIOCARE
M E D I C A L

12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. *Histochemistry* 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. *Lab Med* 1983; 14:767.
14. 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 Path* 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

German

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Verwendungszweck:

Für *in vitro* Diagnostische Verwendung

Das 4plus biotinylierte Ziegen-Anti-Maus-IgG ist für die Verwendung in manuellen oder automatisierten immunhistochemischen (IHC)-Färbeprotokollen unter Verwendung einer zweistufigen Applikationsmethode aus Meerrettichperoxidase (HRP) oder alkalischer Phosphatase (AP) Streptavidin-Konjugat vorgesehen. Dieser Streptavidin-Konjugat-Nachweis ist für den Nachweis von Maus-IgG-Primärantikörpern konzipiert, die während des IHC-Färbungsprozesses an Zielantigene in den formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten (FFPE) Geweben gebunden sind. Die klinische Interpretation jeglicher Verfärbung oder ihres Fehlens sollte durch morphologische Studien und geeignete Kontrollen ergänzt und im Kontext der Krankengeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests durch einen qualifizierten Pathologen bewertet werden.

Zusammenfassung und Erklärung:

Der 4plus biotinyliertes Ziegen-Anti-Maus-IgG basiert auf einer zweistufigen Methode zum Nachweis von Maus-Primärantikörpern zur Bildung eines Antikörper-Enzym-Komplexes. Dieser Komplex wird dann mit einem geeigneten Substrat/Chromogen sichtbar gemacht. Bei der zweistufigen Methode wird der Sekundärantikörper biotinyliert und anschließend ein zusätzliches enzymmarkiertes Streptavidin aufgetragen. Die zweistufige Methode soll den Nachweis bei schwach exprimierenden Antigenen verstärken.

Dieser biotinylierte Antikörper reagiert mit schweren und leichten Ketten auf Maus-IgG. Es wird bei Pferden, Rindern und Menschen adsorbiert. Es reagiert mit allen Maus-IgG-Unterklassen und Maus-IgM. Es wurde affinitätsgereinigt und weist nur minimale Kreuzreaktionen mit Serumproteinen von Menschen, Rindern und Pferden auf. Zwischen dem Biotin und dem Sekundärantikörper wurde ein langer Abstandsarm positioniert, um die Empfindlichkeit bei Kopplung mit Streptavidin-Konjugaten zu erhöhen. 4plus biotinyliertes Ziegen-Anti-Maus-IgG kann entweder mit Streptavidin-Meerrettich-Peroxidase- oder Streptavidin-Alkalische-Phosphatase-Nachweissystemen verwendet werden.

Verfahrensgrundsatz:

Dieses Mikopolymer-Nachweiskit kann für immunhistochemische Tests von formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten Gewebschnitten verwendet werden. Im Allgemeinen immunhistochemische (IHC) Färbearten ermöglichen die Visualisierung von Antigenen durch die sequentielle Anwendung von einem spezifischen Antikörper gegen das Antigen (primärer Antikörper), einem sekundären Antikörper gegen den primären Antikörper (optionaler Link-Antikörper/Sonde), einem Enzymkomplex und einem chromogenen Substrat mit zwischengeschalteten Waschschritten. Die enzymatische Aktivierung des Chromogens führt zu einem sichtbaren Reaktionsprodukt an der Antigenstelle. Anschließend kann die Probe gegengefärbt und abgedeckt werden. Die Ergebnisse werden mithilfe eines Lichts interpretiert Mikroskop und Hilfe bei der Differentialdiagnose pathophysiologischer Prozesse, die oder ist möglicherweise nicht mit einem bestimmten Antigen verbunden.

Materialen und Methoden:

Mitgelieferte Reagenzien:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Rekonstitution, Mischen, Verdünnung, Titration:

Die Reagenzien des Streptavidin-basierten Nachweiskits sind optimiert und können sofort mit Biocare-Antikörpern und Hilfsreagenzien verwendet werden. Es ist keine Rekonstitution, Mischung, Verdünnung oder Titration erforderlich.

Bekannte Anwendungen:

Immunhistochemie (formalinfixierte, in Paraffin eingebettete Gewebe)

Speziesreakтивität:

Schwere und leichte Maus-IgG-Ketten

Geliefert als:

Gepufferte Kochsalzlösung, pH 7,2–7,4, enthält einen Proteinträger und weniger als 0,01 % ProClin 300 und/oder weniger als 0,5 % ProClin 950 als Konservierungsmittel. Weitere Einzelheiten finden Sie im Sicherheitsdatenblatt.

Benötigte, aber nicht bereitgestellte Materialien und Reagenzien:

Objektträger, positiv geladen
Positive und negative Gewebekontrollen
Wüstenkammer* oder ähnliches Trockenofen (optional)
Xylol oder Xyloolersatz
Ethanol oder Reagenzalkohol
Enttarnungskammer* oder ähnlicher Schnellkochtopf (optional)
Entionisiertes oder destilliertes Wasser
Waschpuffer*
Vorbehandlungsreagenzien* (optional)
Enzymverdauung* (optional)
Peroxidase-Block*
Proteinblock* (optional)
Avidin-Biotin-Blockierungskit
Primärantikörper*
Streptavidin-Kennzeichnung*
Negativkontrollreagenzien*
Chromogene*
Hämatoxylin* (Gegenfärbung)
Bläuungsreagenz*
Eindeckmedium*
Schutzglas
Lichtmikroskop (40-400-fache Vergrößerung)

* Produkte von Biocare Medical: Informationen zu Katalognummern und zur Bestellung finden Sie auf der Website von Biocare Medical unter <http://biocare.net>. Bestimmte oben aufgeführte Reagenzien basieren auf der spezifischen Anwendung und dem verwendeten Nachweissystem.

Lagerung und Stabilität:

Bei 2 °C bis 8 °C lagern. Bei Lagerung unter diesen Bedingungen ist das Produkt bis zum auf dem Fläschchenetikett aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden. Die Lagerung unter anderen als den angegebenen Bedingungen muss überprüft werden. Die Reagenzien des Kits sind gebrauchsfertig und sollten nicht verdünnt werden. Die Stabilität des vom Benutzer verdünnten Reagenzes wurde von Biocare nicht nachgewiesen.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

German

BIOCARE
MEDICAL

Positiv- und Negativkontrollen sollten gleichzeitig mit allen Patientenproben durchgeführt werden. Wenn eine unerwartete Färbung beobachtet wird, die nicht durch Abweichungen in den Laborverfahren erklärt werden kann, und ein Problem mit dem Antikörper vermutet wird, wenden Sie sich an den technischen Support von Biocare unter 1-800-542-2002 oder über die technischen Supportinformationen auf biocare.net.

Probenvorbereitung:

Zur Verwendung vor der Paraffineinbettung eignen sich in Formalin fixierte Gewebe. Knochengewebe sollte vor der Gewebebearbeitung entkalkt werden, um das Gewebeschneiden zu erleichtern und Schäden an den Mikrotomklingen zu verhindern.^{1,2}

Ordnungsgemäß fixierte und eingebettete Gewebe, die das angegebene Antigen-Ziel exprimieren, sollten an einem kühlen Ort gelagert werden. Der Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) von 1988 schreibt 42 CFR vor §493.1259(b) besagt: „Das Labor muss gefärbte Objekträger mindestens zehn Jahre ab dem Datum aufbewahren Prüfung durchführen und Probenblöcke mindestens zwei Jahre ab dem Datum der Prüfung aufzubewahren.“³

Behandlung von Geweben vor der Färbung:

Führen Sie die hitzeinduzierte Epitopgewinnung (HIER) gemäß dem unten empfohlenen Protokoll durch. Es hat sich gezeigt, dass die routinemäßige Verwendung von HIER vor der IHC Inkonsistenzen minimiert und die Färbung standardisiert.^{4,5}

Warnung und Vorsichtsmaßnahmen:

1. Kit-Reagenzien enthalten weniger als <0,05 % ProClin 300 und/oder weniger als 1 % 950>. Tragen Sie Handschuhe und Schutzkleidung und treffen Sie angemessene Vorsichtsmaßnahmen bei der Handhabung, da ProClin als reizend eingestuft ist und eine Sensibilisierung bei Hautkontakt verursachen kann. Kontakt mit Augen, Haut und Schleimhäuten vermeiden.
2. Behandeln Sie Materialien menschlichen oder tierischen Ursprungs als potenziell biologisch gefährlich und entsorgen Sie diese Materialien mit den entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen. Befolgen Sie im Falle einer Exposition die Gesundheitsvorschriften der zuständigen Behörden am Einsatzort.^{6,7}
3. Proben vor und nach der Fixierung sowie alle ihnen ausgesetzten Materialien sollten so behandelt werden, als ob sie Infektionen übertragen könnten, und mit den entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen entsorgt werden. Pipettieren Sie Reagenzien niemals mit dem Mund und vermeiden Sie den Kontakt der Reagenzien und Proben mit der Haut und den Schleimhäuten. Wenn Reagenzien oder Proben mit empfindlichen Bereichen in Kontakt kommen, waschen Sie diese mit reichlich Wasser ab.⁸
4. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien kann zu einer Zunahme unspezifischer Färbungen führen.
5. Andere als die angegebenen Inkubationszeiten oder Temperaturen können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Der Benutzer muss jede solche Änderung validieren.
6. Verwenden Sie das Reagenz nach dem auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfallsdatum nicht mehr.
7. Die Reagenzien des Mikropolymer-Nachweiskits sind optimiert und können mit Biocare-Antikörpern und Hilfsreagenzien verwendet werden. Empfohlene Protokolle und Verwendungsbedingungen finden Sie in den Gebrauchsanweisungen für Primärantikörper und andere Hilfsreagenzien.
8. Befolgen Sie die Anforderungen der örtlichen und/oder staatlichen Behörden hinsichtlich der Entsorgungsmethode.
9. Das Sicherheitsdatenblatt ist auf Anfrage erhältlich und befindet sich unter <http://biocare.net>.
10. Melden Sie schwerwiegende Vorfälle im Zusammenhang mit diesem Gerät, indem Sie sich an den örtlichen Biocare-Vertreter und die zuständige Behörde des Mitgliedstaats oder Landes wenden, in dem sich der Benutzer befindet.

Gebrauchsanweisung:

Die Reagenzien des Mikropolymer-Nachweiskits sind optimiert und können sofort mit Biocare-Antikörpern und Hilfsreagenzien verwendet werden. Empfohlene Protokolle und Verwendungsbedingungen finden Sie in den Gebrauchsanweisungen für Primärantikörper und andere Hilfsreagenzien. Die Inkubationszeiten und -temperaturen variieren je nach dem spezifischen Antikörperprotokoll.

Wenn Sie ein automatisiertes Färbegerät verwenden, konsultieren Sie die jeweilige Bedienungsanleitung und Gebrauchsanweisung des Geräts zu den Betriebsparametern.

Allgemeine Verfahrensschritte zur Durchführung der IHC:

1. Entparaffinierung: Objekträger in Slide Brite oder Xylol entparaffinieren. Hydrat-Objekträger in einer Reihe abgestufter Alkohole zu Wasser geben.
2. Peroxidblock: 5 Minuten lang mit Peroxidized 1 blockieren.
3. Vorbehandlungslösung/Protokoll: Die empfohlene Vorbehandlungslösung und das empfohlene Protokoll finden Sie im Datenblatt des jeweiligen Primärantikörpers.
4. Avidin-Block: 10–20 Minuten bei RT mit Avidin von Biocare inkubieren.
5. Biotin-Block: 10–20 Minuten bei RT mit Biocare's Biotin inkubieren.
6. Proteinblock (optional): 10–15 Minuten bei Raumtemperatur (RT) mit Background Sniper inkubieren.
7. Primärantikörper: Die Inkubationszeit entnehmen Sie bitte dem Datenblatt des jeweiligen Primärantikörpers.
8. Link: 10 Minuten bei RT mit 4plus biotinyliertem Link inkubieren.
9. Chromogen: 10–20 Minuten bei RT mit Biocare's DAB oder 5–7 Minuten bei RT mit Warp Red inkubieren.
10. Etikett: 10–20 Minuten bei RT mit 4plus Streptavidin HRP oder Streptavidin AP Label inkubieren.
11. Gegenfärbung: Gegenfärbung mit Hämatoxylin. Mit entionisiertem Wasser spülen. Tragen Sie Tachas Bläuungslösung 1 Minute lang auf. Mit entionisiertem Wasser spülen.

Technische Hinweise:

1. Verwenden Sie TBS für die Waschschrifte.

Qualitätskontrolle:

Siehe CLSI-Qualitätsstandards für Design und Implementierung von Immunhistochemie-Assays; Genehmigte Richtlinie – Zweite Auflage (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁹

Positive Gewebekontrolle:

Externe positive Kontrollmaterialien sollten frische Proben sein, die so schnell wie möglich auf die gleiche Weise wie die Patientenprobe(n) fixiert, verarbeitet und eingebettet werden. Positive Gewebekontrollen weisen auf korrekt vorbereitetes Gewebe und geeignete Färbetechniken hin. In jedem Färbedurchlauf sollte eine positive externe Gewebekontrolle für jeden Satz Testbedingungen enthalten sein.

Die für die externen Positivkontrollmaterialien verwendeten Gewebe sollten aus Patientenproben mit gut charakterisierten niedrigen Konzentrationen der positiven Zielaktivität ausgewählt werden, die eine schwach positive Färbung ergeben. Der niedrige Positivitätsgrad für externe Positivkontrollen soll die Erkennung geringfügiger Veränderungen der primären Antikörperempfindlichkeit aufgrund von Instabilität oder Problemen mit der IHC-Methodik gewährleisten. Im Handel erhältliche Gewebekontrollobjekträger oder Proben, die anders als die Patientenprobe(n) verarbeitet wurden, validieren nur die Leistung der Reagenzien und nicht die Gewebevorbereitung.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

German

BIOCARE
MEDICAL

Bekannte positive Gewebekontrollen sollten nur zur Überwachung der korrekten Leistung verarbeiteter Gewebe und Testreagenzien verwendet werden und nicht als Hilfe bei der Formulierung einer spezifischen Diagnose von Patientenproben. Wenn die positiven Gewebekontrollen keine positive Färbung zeigen, sollten die Ergebnisse mit den Testproben als ungültig betrachtet werden.

Negative Gewebekontrolle:

Verwenden Sie bei jedem Färbedurchlauf eine negative Gewebekontrolle, die auf die gleiche Weise wie die Patientenprobe(n) fixiert, verarbeitet und eingebettet ist, um die Spezifität des IHC-Primärantikörpers zu überprüfen. Nachweis des Zielantigens und um einen Hinweis auf eine spezifische Hintergrundfärbung zu liefern (falsch positive Färbung). Auch die Vielfalt der verschiedenen Zelltypen, die in den meisten Gewebeschnitten vorhanden sind, kann dazu beitragen können vom Laboratorium als interne Negativkontrollstellen zur Überprüfung der Leistung des IHC verwendet werden Spezifikationen. Die Arten und Quellen der Proben, die für negatives Gewebe verwendet werden können Die Steuerelemente sind im Abschnitt „Leistungsmerkmale“ aufgeführt.

Wenn in der negativen Gewebekontrolle eine spezifische Färbung (falsch positive Färbung) auftritt, sollten die Ergebnisse mit den Patientenproben als ungültig betrachtet werden.

Unspezifische Negativreagenzkontrolle:

Verwenden Sie anstelle des Primärantikörpers eine unspezifische Negativreagenzkontrolle mit einem Abschnitt jeder Patientenprobe, um die unspezifische Färbung zu bewerten und ermöglichen eine bessere Interpretation der spezifischen Färbung an der Antigenstelle. Idealerweise enthält eine negative Reagenzkontrolle einen Antikörper, der auf die gleiche Weise wie der Primärantikörper hergestellt und vorbereitet (d. h. mit demselben Verdünnungsmittel auf die gleiche Konzentration verdünnt) wurde, aber keine spezifische Reaktivität mit menschlichen Geweben in derselben Matrix/Lösung wie der Biocare-Antikörper zeigt. Die Verwendung von Verdünnungsmittel allein kann eine weniger wünschenswerte Alternative zu den zuvor beschriebenen negativen Reagenzienkontrollen sein. Die Inkubationszeit der Negativreagenzkontrolle sollte der des Primärantikörpers entsprechen.

Wenn Panels mit mehreren Antikörpern auf Serienschnitten verwendet werden, können die negativ gefärbten Bereiche eines Objektträgers als negative/unspezifische Bindungshintergrundkontrolle für andere Antikörper dienen. Um endogene Enzymaktivität oder unspezifische Bindung von Enzymen von spezifischer Immunreakтивität zu unterscheiden, können zusätzliche Patientengewebe ausschließlich mit Substrat-Chromogen oder Enzymkomplexen (PAP, Avidin-Biotin, Streptavidin) bzw. Substrat-Chromogen gefärbt werden.

Assay-Verifizierung:

Vor der erstmaligen Verwendung eines Antikörpers oder Färbesystems in einem diagnostischen Verfahren sollte der Benutzer die Spezifität des Antikörpers überprüfen, indem er ihn an einer Reihe interner Gewebe mit bekannten immunhistochemischen Leistungsmerkmalen testet, die bekanntermaßen positive und negative Gewebe darstellen. Beachten Sie die zuvor in diesem Abschnitt der Produktbeilage beschriebenen Qualitätskontrollverfahren und die Qualitätskontrollempfehlungen des CAP-Zertifizierungsprogramms[®] für Immunhistochemie und/oder die NCCLS IHC-Leitlinie[®]. Diese Qualitätskontrollverfahren sollten für jede neue Antikörpercharge oder bei jeder Änderung der Testparameter wiederholt werden. Die im Abschnitt „Leistungsmerkmale“ aufgeführten Gewebe sind für die Testverifizierung geeignet.

Fehlerbehebung:

Befolgen Sie die Antikörper-spezifischen Protokollempfehlungen gemäß dem bereitgestellten Datenblatt. Wenn atypische Ergebnisse auftreten, wenden Sie sich unter 1-800-542-2002 an den technischen Support von Biocare.

Interpretation der Färbung:

Das 4plus biotinylierte Ziegen-Anti-Maus-IgG erzeugt eine braune (HRP) oder rote (AP) Farbreaktion an den durch den Primärantikörper lokalisierten Antigenstellen. Vor der Interpretation der Patientenergebnisse muss die Färbung der Kontrollen von einem qualifizierten Pathologen beurteilt werden. Negativkontrollen werden ausgewertet und mit gefärbten Objektträgern verglichen, um sicherzustellen, dass die beobachtete Färbung nicht auf unspezifische Wechselwirkungen zurückzuführen ist.

Positive Gewebekontrolle:

Die mit dem angegebenen Antikörper gefärbte positive Gewebekontrolle sollte zunächst untersucht werden, um sicherzustellen, dass alle Reagenzien ordnungsgemäß funktionieren. Die entsprechende Färbung der Zielzellen (wie oben angegeben) weist auf eine positive Reaktivität hin. Wenn die positiven Gewebekontrollen keine positive Färbung zeigen, sollten alle Ergebnisse mit den Testproben als ungültig betrachtet werden.

Die Farbe des Reaktionsprodukts kann abhängig von den verwendeten Substratchromogenen variieren. Informationen zu den erwarteten Farbreaktionen finden Sie in den Packungsbeilagen des Substrats. Darüber hinaus kann bei Variationen der Färbemethode Metachromasie beobachtet werden.¹²

Wenn eine Gegenfärbung verwendet wird, führt die Gegenfärbung je nach Inkubationsdauer und Wirksamkeit der verwendeten Gegenfärbung zu einer Färbung der Zellkerne. Übermäßiges oder unvollständiges Gegenfärben kann die korrekte Interpretation der Ergebnisse beeinträchtigen. Die empfohlene Gegenfärbung finden Sie im/in den Protokollen.

Negative Gewebekontrolle:

Die negative Gewebekontrolle sollte nach der positiven Gewebekontrolle untersucht werden, um die Spezifität der Markierung des Zielantigens durch den Primärantikörper zu überprüfen. Das Fehlen einer spezifischen Färbung in der negativen Gewebekontrolle bestätigt das Fehlen einer Antikörper-Kreuzreakтивität mit Zellen/Zellkomponenten. Wenn bei der negativen externen Gewebekontrolle eine spezifische Färbung (falsch positive Färbung) auftritt, sollten die Ergebnisse mit der Patientenprobe als ungültig betrachtet werden.

Wenn eine unspezifische Färbung vorliegt, wirkt sie normalerweise diffus. In Schnitten aus übermäßig formalinfixiertem Gewebe kann es auch zu sporadischen Verfärbungen des Bindegewebes kommen. Verwenden Sie intakte Zellen zur Interpretation der Färbeergebnisse. Nekrotische oder degenerierte Zellen verfärben sich häufig unspezifisch.

Patientengewebe:

Untersuchen Sie Patientenproben, die mit dem angegebenen Antikörper gefärbt sind zuletzt. Die Intensität der positiven Färbung sollte im Zusammenhang mit einer unspezifischen Hintergrundfärbung der negativen Reagenzkontrolle beurteilt werden. Wie bei jedem immunhistochemischen Test bedeutet ein negatives Ergebnis, dass das Antigen nicht nachgewiesen wurde und nicht, dass das Antigen in den untersuchten Zellen/Geweben fehlte. Verwenden Sie bei Bedarf ein Antikörper-Panel, um falsch-negative Reaktionen zu identifizieren.

Spezifische Informationen zur angegebenen Antikörper-Immunreakтивität finden Sie unter „Zusammenfassung und Erläuterung, Einschränkungen und Leistungsmerkmale“.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

50/116



TP v3 (12/15/2021)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

German

BIOCARE
MEDICAL

Einschränkungen:

Allgemeine Einschränkungen:

1. Für *in vitro* diagnostische (IVD) Verwendung
2. Dieses Produkt ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt: Die Immunhistochemie ist ein mehrstufiger diagnostischer Prozess, der aus einer speziellen Schulung zur Auswahl der geeigneten Reagenzien besteht; Gewebeauswahl, -fixierung und -verarbeitung; Vorbereitung der IHC-Folie; und Interpretation der Färbeergebnisse.
3. Nur auf ärztliche Verschreibung anwenden. (Nur Rx)
4. Die Gewebefärbung hängt von der Handhabung und Verarbeitung des Gewebes vor der Färbung ab. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erhitzen, Schneiden oder Kontamination mit anderen Geweben oder Flüssigkeiten kann zu Artefakten, Antikörpereinschlüssen oder falsch negativen Ergebnissen führen. Inkonsistente Ergebnisse können auf unterschiedliche Fixierungs- und Einbettungsmethoden oder auf inhärente Unregelmäßigkeiten im Gewebe zurückzuführen sein.¹³
5. Übermäßiges oder unvollständiges Gegenfärben kann die korrekte Interpretation der Ergebnisse beeinträchtigen.
6. Die klinische Interpretation jeder positiven oder negativen Färbung sollte im Kontext des klinischen Erscheinungsbilds, der Morphologie und anderer histopathologischer Kriterien bewertet werden. Die klinische Interpretation jeder positiven oder negativen Färbung sollte durch morphologische Studien unter Verwendung geeigneter positiver und negativer interner und externer Kontrollen sowie anderer diagnostischer Tests ergänzt werden. Es liegt in der Verantwortung eines qualifizierten Pathologen, der mit der ordnungsgemäßen Verwendung von IHC-Antikörpern, Reagenzien und Methoden vertraut ist, alle Schritte zur Vorbereitung und Interpretation der endgültigen IHC-Präparation zu interpretieren.
7. Die optimalen Protokolle für eine bestimmte Anwendung können variieren. Dazu gehören unter anderem Fixierung, Wärmerückgewinnungsmethode, Inkubationszeiten, Antikörperverdünnung, Gewebeschichtdicke und das verwendete Nachweiskit. Empfohlene Protokolle und Verwendungsbedingungen finden Sie in den Gebrauchsanweisungen für Primärantikörper und andere Hilfsreagenzien. Die Empfehlungen und Protokolle im Datenblatt basieren auf der ausschließlichen Verwendung von Biocare-Produkten. Letztendlich liegt es in der Verantwortung des Forschers, optimale Bedingungen zu ermitteln.
8. Dieses Produkt ist nicht für die Verwendung in der Durchflusszytometrie bestimmt. Für die Durchflusszytometrie wurden keine Leistungsmerkmale ermittelt.
9. Gewebe von Personen, die mit dem Hepatitis-B-Virus infiziert sind und Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAg) enthalten, können eine unspezifische Färbung mit Meerrettichperoxidase aufweisen.¹⁴
10. Reagenzien können in zuvor nicht getesteten Geweben unerwartete Reaktionen hervorrufen. Die Möglichkeit unerwarteter Reaktionen selbst in getesteten Gewebegruppen kann aufgrund der biologischen Variabilität der Antigenexpression in Neoplasmen oder anderen pathologischen Geweben nicht vollständig ausgeschlossen werden.¹⁵ Kontaktieren Sie den technischen Support von Biocare unter 1-800-542-2002 oder über die technischen Supportinformationen auf biocare.net mit dokumentierten unerwarteten Reaktionen.
11. Normale/nichtimmune Seren aus derselben tierischen Quelle wie sekundäre Antiseren, die in Blockierungsschritten verwendet werden, können aufgrund von Autoantikörpern oder natürlichen Antikörpern zu falsch negativen oder falsch positiven Ergebnissen führen.
12. Falsch positive Ergebnisse können aufgrund einer nicht immunologischen Bindung von Proteinen oder Substratreaktionsprodukten auftreten. Abhängig von der Art der verwendeten Immunfärbung können sie auch durch Pseudoperoxidaseaktivität (Erythrozyten), endogene Peroxidaseaktivität (Cytochrom C) oder endogenes Biotin (z. B. Leber, Brust, Gehirn, Niere) verursacht werden.¹³

13. Ein negatives Ergebnis bedeutet, dass das Antigen nicht nachgewiesen wurde und nicht, dass das Antigen in den untersuchten Zellen oder im untersuchten Gewebe fehlte.

Produktspezifische Einschränkungen:

Keine zusätzlichen produktspezifischen Einschränkungen.

Leistungsmerkmale:

Die Färbung wurde unter Verwendung der Protokolle durchgeführt, die in der spezifischen Gebrauchsanweisung des Antikörpers enthalten sind oder wie angegeben. Die Sensitivität und Spezifität der Färbung wurde für eine Reihe normaler und neoplastischer Gewebetypen bewertet, die während der Entwicklung von Primärantikörpern untersucht wurden.

Reproduzierbarkeit:

Die Reproduzierbarkeit der Nachweissysteme und Systemreagenzien von Biocare wird durch eine Messung mittlerer Präzision überprüft, bei der verschiedene Reagenzienchargen über einen längeren Zeitraum unter Verwendung verschiedener Bediener, Analysten, Reagenzienchargen, Gewebeproben und Geräte getestet wurden. Die für jedes ausgewertete Nachweisreagenz erhaltene Färbung war konsistent und verlief wie erwartet.

Fehlerbehebung:

1. Keine Färbung der Objektträger – Überprüfen Sie, ob geeignetes positives Kontrollgewebe, Antikörper und Nachweisprodukte verwendet wurden. Überprüfen Sie, ob die Wachstumsfernung oder Vorbehandlung unvollständig oder unsachgemäß erfolgt ist.
2. Schwache Färbung aller Objektträger – Überprüfen Sie, ob geeignetes positives Kontrollgewebe, Antikörper und Nachweisprodukte verwendet wurden.
3. Übermäßiger Hintergrund auf allen Objektträgern – Es können hohe Mengen an endogenem Biotin (bei Verwendung biotinbasierter Nachweisprodukte), endogene HRP-Aktivität, die Chromogen in ein farbiges Endprodukt umwandelt (Peroxidase-Block verwenden), oder übermäßige unspezifische Proteininteraktion (Verwendung eines Proteins) vorhanden sein (z. B. eine Serum- oder Casein-basierte Blockierungslösung).
4. Gewebebeschneidungen werden während der Inkubation von den Objektträgern abgewaschen – Überprüfen Sie die Objektträger, um sicherzustellen, dass sie positiv geladen sind.
5. Spezifische Färbung zu dunkel – Überprüfen Sie das Protokoll, um festzustellen, ob der richtige Antikörpertiter auf den Objektträger aufgetragen wurde und ob die Inkubationszeiten für alle Reagenzien korrekt sind. Stellen Sie außerdem sicher, dass das Protokoll genügend Waschschritte enthält, um überschüssige Reagenzien nach Abschluss der Inkubationsschritte zu entfernen.

Verweise:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.

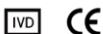
 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

51/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

German

BIOCARE
M E D I C A L

7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. *Histochemistry* 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. *Lab Med* 1983; 14:767.
14. 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. *AmJ Clin Path* 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Greek

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Προβλεπόμενη χρήση:

Γιατί *vitro* Διαγνωστική χρήση

Το 4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG προορίζεται για χρήση είτε σε χειροκίνητα είτε σε αυτοματοποιημένα πρωτόκολλα χρώσης ανοσοϊστοχημείας (IHC) χρησιμοποιώντας μέθοδο εφαρμογής δύο σταδίων συζυγούς στρεπταβιδίνης-υπεροξειδάσης αγριορισπανίδας (HRP) ή αλκαλικής φωσφατάσης (AP). Αυτή η ανίχνευση συζυγούς στρεπταβιδίνης έχει σχεδιαστεί για την ανίχνευση πρωτογενών αντισωμάτων IgG ποντικού που συνδέονται με αντιγόνα-στόχους στους ιστούς που είναι σταθεροποιημένοι με φορμαλίνη, ενωματωμένοι σε παραφίνη (FFPE) κατά τη διάρκεια της διαδικασίας χρώσης IHC. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται από μορφολογικές μελέτες και κατάλληλους ελέγχους και θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από εξειδικευμένο παθολόγο.

Περίληψη και Επεξήγηση:

Ο 4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgGέχει σχεδιαστεί χρησιμοποιώντας μια μέθοδο δύο σταδίων για την ανίχνευση πρωτογενών αντισωμάτων ποντικού για το σχηματισμό ενός συμπλέγματος αντισώματος-ενζύμου. Αυτό το σύμπλεγμα στη συνέχεια οπτικοποιείται χρησιμοποιώντας ένα κατάλληλο υπόστρωμα/χρωμογόνο. Στη μέθοδο των δύο σταδίων το δευτερογενές αντίσωμα βιοτινυλώνεται και μια επιπρόσθετη σημασμένη με ένζυμο στρεπταβιδίνη εφαρμόζεται διαδοχικά. Η μέθοδος δύο σταδίων έχει σχεδιαστεί για να ενισχύει την ανίχνευση σε περιπτώσεις αντιγόνων χαμηλής έκφρασης.

Αυτό το βιοτινυλωμένο αντίσωμα αντιδρά με βαριές και ελαφριές αλυσίδες σε IgG ποντικού. Προσροφάται ενάντια σε άλογα, βοοειδή και ανθρώπους. Αντιδρά με όλες τις υποκατηγορίες IgG ποντικού και IgM ποντικού. Έχει καθαριστεί με συγγένεια με ελάχιστη διασταυρώμενη αντίδραση σε πρωτεΐνες ορού ανθρώπου, βοείου και αλόγου. Ένας μακρύς διαχωριστικός βραχίονας έχει τοποθετηθεί μεταξύ της βιοτίνης και του δευτερογενούς αντισώματος, για να αυξηθεί η ευαισθησία όταν συνδυάζεται με σύγχρονη στρεπταβιδίνη. Το 4plus Biotinylated goat Anti-Mouse IgG μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε με συστήματα ανίχνευσης της αλκαλικής φωσφατάσης της στρεπταβιδίνης είτε με την υπεροξειδάση της στρεπταβιδίνης.

Αρχή Διαδικασίας:

Αυτό το κιτ ανίχνευσης μικρο-πολυμερούς μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ανοσοϊστοχημικές δοκιμές τριμάτων ιστού που έχουν στρεωθεί με φορμαλίνη, ενωματωμένες σε παραφίνη. Γενικά, η ανοσοϊστοχημική (IHC) οι τεχνικές χρώσης επιτρέπουν την οπτικοποίηση των αντιγόνων μέσω της διαδοχικής εφαρμογής του α ειδικό αντίσωμα στο αντιγόνο (πρωτεύον αντίσωμα), ένα δευτερεύον αντίσωμα στο πρωτεύον αντίσωμα (προαιρετικό αντίσωμα σύνδεσης/ανίχνευσης), ένα σύμπλεγμα ενζύμων και ένα χρωμογόνο υπόστρωμα με παρεμβαλλόμενα στάδια έκπλυσης. Η ενζυματική ενεργοποίηση του χρωμογόνου έχει ως αποτέλεσμα ένα ορατό προϊόν αντίδρασης στη θέση του αντιγόνου. Στη συνέχεια, το δείγμα μπορεί να αντιχρωματιστεί και να καλυφθεί. Τα αποτελέσματα ερμηνεύονται χρησιμοποιώντας ένα φως μικροσκόπιο και βοήθεια στη διαφορική διάγνωση παθοφυσιολογικών διεργασιών, που μπορεί να μην σχετίζεται με ένα συγκεκριμένο αντιγόνο.

Υλικά και μέθοδοι:

Παρεχόμενα αντιδραστήρια:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Ανασύσταση, ανάμειξη, αραίωση, τιτλοδότηση:

Τα αντιδραστήρια του κιτ ανίχνευσης με βάση τη στρεπταβιδίνη είναι βελτιστοποιημένα και έτοιμα για χρήση με αντισώματα Biocare και βοηθητικά αντιδραστήρια. Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμειξη, αραίωση ή τιτλοδότηση.

Γνωστές εφαρμογές:

Ανοσοϊστοχημεία (ιστοί ενσωματωμένοι σε παραφίνη σταθεροποιημένοι με φορμαλίνη)

Αντιδραστικότητα ειδους:

Βαριές και ελαφριές αλυσίδες IgG ποντικού

Παρέχεται ως:

Ρυθμισμένο αλατούχο διάλυμα, pH 7,2-7,4, που περιέχει φορέα απρωτεΐνης και λιγότερο από 0,01% ProClin 300 και/ή λιγότερο από 0,5% ProClin 950 ως συντηρητικό. Δείτε το Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας για πρόσθετες λεπτομέρειες.

Υλικά και αντιδραστήρια που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται:

Διαφάνειες μικροσκοπίου, θετικά φορτισμένες

Θετικοί και αρνητικοί έλεγχοι ιστών

Desert Chamber® ή παρόμοιος φούρνος στεγνώματος (προαιρετικό)

Ξυλόλιο ή υποκατάστατο ξυλολίου

Αιθανόλη ή αλκοόλη αντιδραστηρίου

Θάλαμος αποκάλυψης* ή παρόμοια χύτρα ταχύτητας (προαιρετικά)

Απιονισμένο ή απεσταγμένο νερό

Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης*

Αντιδραστήρια προεπεξεργασίας* (προαιρετικά)

Πέψη ενζύμων* (προαιρετικό)

Μπλοκ υπεροξειδάσης*

Μπλοκ πρωτεΐνης* (προαιρετικό)

Κιτ αποκλεισμού Avidin-Biotin

Πρωτογενές αντίσωμα*

Επικέτα στρεπταβιδίνης*

Αντιδραστήρια αρνητικού ελέγχου*

Χρωμογόνα*

Αιματοξύλινη* (αντίχρηση)

Μπλε αντιδραστήριο*

Μέσο τοποθέτησης*

Κάλυμμα

Μικροσκόπιο φωτός (μεγέθυνση 40-400X)

* Ιατρικά Προϊόντα Biocare: Ανατρέξτε στον ιστότοπο της Biocare Medical που βρίσκεται στη διεύθυνση <http://biocare.net> για πληροφορίες σχετικά με τους αριθμούς καταλόγου και τις παραγγελίες. Ορισμένα αντιδραστήρια που αναφέρονται παραπάνω βασίζονται σε συγκεκριμένη εφαρμογή και σύστημα ανίχνευσης που χρησιμοποιείται.

Αποθήκευση και σταθερότητα:

Φυλάσσεται στους 2°C έως 8°C. Το προϊόν είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του φιαλίδιου όταν φυλάσσεται υπό αυτές τις συνθήκες. Να μη χρησιμοποιείται μετά την ημερομηνία λήξης. Η αποθήκευση υπό οποιεσδήποτε συνθήκες εκτός από αυτές που καθορίζονται πρέπει να επαληθεύεται. Τα αντιδραστήρια του κιτ

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Greek

BIOCARE
MEDICAL

είναι έτοιμα προς χρήση και δεν πρέπει να αραιώνονται. Η σταθερότητα του αντιδραστηρίου αραιωμένου χρήστη δεν έχει τεκμηριωθεί από τη Biocare.

Οι θετικοί και οι αρνητικοί μάρτυρες θα πρέπει να εκτελούνται ταυτόχρονα με όλα τα δείγματα ασθενών. Εάν παρατηρθεί απροσδόκητη χρώση που δεν μπορεί να εξηγηθεί από διαφορές στις εργαστηριακές διαδικασίες και υπάρχει υποψία για πρόβλημα με το αντίστοιχο, επικοινωνήστε με την Τεχνική Υποστήριξη της Biocare στο 1-800-542-2002 ή μέσω των πληροφοριών τεχνικής υποστήριξης που παρέχονται στο biocare.net.

Προετοιμασία δείγματος:

Οι ιστοί στερεωμένοι σε φορμαλίνη είναι κατάλληλοι για χρήση πριν από την ενσωμάτωση παραφίνης. Οι οστικοί ιστοί θα πρέπει να απασθεστώνται πριν από την επεξεργασία του ιστού για να διευκολυνθεί η κοπή του ιστού και να αποφευχθεί η ζημιά στις λεπίδες του μικροτόμου.^{1,2}

Οι σωστά στερεωμένοι και ενσωματωμένοι ιστοί που εκφράζουν τον καθορισμένο στόχο αντιγόνου θα πρέπει να φυλάσσονται σε δροσερό μέρος. Ο νόμος για τη βελτίωση του κλινικού εργαστηρίου (CLIA) του 1988 απαιτεί στο 42 CFR§493.1259(β) ότι «Το εργαστήριο πρέπει να διατηρεί λεκιασμένες αντικειμενοφόρους πλάκες τουλάχιστον δέκα χρόνια από την ημερομηνία εξέτασης και διατήρηση των τμημάτων δειγμάτων τουλάχιστον δύο χρόνια από την ημερομηνία εξέτασης.»³

Θεραπεία ιστών πριν από τη χρώση:

Εκτελέστε Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) σύμφωνα με το προτεινόμενο πρωτόκολλο παρακάτω. Η τακτική χρήση του HIER πριν από την IHC έχει αποδειχθεί ότι ελαχιστοποιεί την ασυνέπεια και τυποποιεί τη χρώση.^{4,5}

Προειδοποίηση και προφυλάξεις:

1. Τα αντιδραστήρια του κιτ περιέχουν λιγότερο από <0,05% ProClin 300 και/ή λιγότερο από 1% 950® Φοράτε γάντια και προστατευτικό ρουχισμό και λαμβάνετε εύλογες προφυλάξεις κατά το χειρισμό καθώς το ProClin ταξινομείται ως ερεθιστικό και μπορεί να προκαλέσει ευαισθητοποίηση σε επαφή με το δέρμα. Αποφύγετε την επαφή με τα μάτια, το δέρμα και τους βλεννογόνους.
2. Χειριστείτε υλικά ανθρώπινης ή ζωικής προέλευσης ως δυνητικά βιολογικά επικίνδυνα και πετάξτε αυτά τα υλικά με τις κατάλληλες προφυλάξεις. Σε περίπτωση έκθεσης, ακολουθήστε τις υγειονομικές οδηγίες των αρμόδιων αρχών όπου χρησιμοποιείται.^{6,7}
3. Τα δείγματα, πριν και μετά τη στερέωση, και όλα τα υλικά που εκπίθενται σε αυτά θα πρέπει να αντιμετωπίζονται σαν να μπορούν να μεταδώσουν μόλυνση και να απορρίπτονται με τις κατάλληλες προφυλάξεις. Ποτέ μην μεταφέρετε τα αντιδραστήρια με πιπέτα από το στόμα και αποφύγετε την επαφή του δέρματος και των βλεννογόνων με αντιδραστήρια και δείγματα. Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έρθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφθονη ποσότητα νερού.⁸
4. Η μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της μη ειδικής χρώσης.
5. Χρόνοι επώσης ή θερμοκρασίες διαφορετικές από αυτές που καθορίζονται μπορεί να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Ο χρήστης πρέπει να επικυρώσει οποιαδήποτε τέτοια αλλαγή.
6. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο φιαλίδιο.
7. Τα αντιδραστήρια του κιτ ανίχνευσης μικρο-πολυμερούς είναι βελτιστοποιημένα και έτοιμα για χρήση με αντισώματα Biocare και βοηθητικά αντιδραστήρια. Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του πρωτογενούς αντισώματος και άλλων βοηθητικών αντιδραστηρίων για συνιστώμενα πρωτόκολλα και συνθήκες χρήσης.
8. Ακολουθήστε τις απαιτήσεις των τοπικών ή/και κρατικών αρχών για τη μέθοδο απόρριψης.
9. Το SDS είναι διαθέσιμο κατόπιν αιτήματος και βρίσκεται στο <http://biocare.net>.

10. Αναφέρετε τυχόν σοβαρά περιστατικά που σχετίζονται με αυτήν τη συσκευή επικοινωνώντας με τον τοπικό αντιπρόσωπο της Biocare και την ισχύουσα αρμόδια αρχή του κράτους μέλους ή της χώρας όπου βρίσκεται ο χρήστης.

Οδηγίες χρήσης:

Τα αντιδραστήρια του κιτ ανίχνευσης μικρο-πολυμερών είναι βελτιστοποιημένα και έτοιμα για χρήση με αντισώματα Biocare και βοηθητικά αντιδραστήρια. Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του πρωτογενούς αντισώματος και άλλων βοηθητικών αντιδραστηρίων για συνιστώμενα πρωτόκολλα και συνθήκες χρήσης. Οι χρόνοι επώσης μεταξύ των αντιδραστηρίων του κιτ ανίχνευσης μικρο-πολυμερούς και των αντισώματων της Biocare είναι διαφορετικοί.

Όταν χρησιμοποιείτε ένα αυτόματο όργανο χρώσης, συμβουλευτείτε το συγκεκριμένο εγχειρίδιο χειριστή του οργάνου και τις οδηγίες χρήσης για τις παραμέτρους λειτουργίας.

Γενικά διαδικαστικά βήματα για την εκτέλεση IHC:

1. Αποπαραφίνηση: Αποπαραφίνηση διαφανείων σε Slide Bright ή ξυλόιο. Η ενυδάτωση ολισθαίνει σε μια σειρά από διαβαθμισμένες αλκοόλες σε νερό.
2. Μπλοκ υπεροξειδίου: Μπλοκάρετε για 5 λεπτά με Peroxidized 1.
3. Διάλυμα/Πρωτόκολλο προεπεξεργασίας: Ανατρέξτε στο αντίστοιχο φύλλο δεδομένων πρωτογενών αντισώμάτων για το προτεινόμενο διάλυμα και πρωτόκολλο προεπεξεργασίας.
4. Αποκλεισμός Avidin: Επωάστε για 10-20 λεπτά σε RT με Avidin της Biocare.
5. Block Biotin: Επωάστε για 10-20 λεπτά σε RT με Biocare's Biotin.
6. Μπλοκ πρωτεΐνης (προαιρετικό): Επωάστε για 10-15 λεπτά σε Θερμοκρασία δωματίου (RT) με Background Sniper.
7. Πρωτεύον αντίστωμα: Ανατρέξτε στο αντίστοιχο φύλλο δεδομένων πρωτογενούς αντισώματος για το χρόνο επώσης.
8. Σύνδεσμος: Επωάστε για 10 λεπτά σε RT με 4 plus Biotinylated Link.
9. Επικέτα: Επωάστε για 10-20 λεπτά για σε RT με 4 plus Streptavidin HRP ή Streptavidin AP Label.
10. Χρωμογόνο: Επωάστε για 10-20 λεπτά σε RT με το DAB της Biocare ή επωάστε για 5-7 λεπτά σε RT με Warp Red.
11. Αντίχρηση: Αντίχρηση με αιματοξύληνη. Ξεπλύνετε με απονισμένο νερό. Εφαρμόστε Tacha's Bluing Solution για 1 λεπτό. Ξεπλύνετε με απονισμένο νερό.

Τεχνικές σημειώσεις:

1. Χρησιμοποιήστε TBS για τα βήματα πλυσίματος.

Ελεγχος ποιότητας:

Ανατρέξτε στα πρότυπα ποιότητας του CLSI για τον σχεδιασμό και την εφαρμογή αναλύσεων ανοσοϊστοχημείας. Εγκεκριμένη Οδηγία-Δεύτερη έκδοση (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA ΗΠΑ (www.clsi.org). 2011⁹.

Θετικός έλεγχος ιστού:

Τα υλικά εξωτερικού θετικού μάρτυρα θα πρέπει να είναι φρέσκα δείγματα που στερεώνονται, υποβάλλονται σε επεξεργασία και ενσωματώνονται το συντομότερο δυνατό με τον ίδιο τρόπο όπως το(α) δείγμα(α) ασθενούς. Οι θετικοί έλεγχοι ιστών είναι ενδεικτικοί των σωστά προετοιμασμένων ιστών και των κατάλληλων τεχνικών χρώσης. Ένας θετικός εξωτερικός μάρτυρας ιστού για κάθε σύνολο συνθηκών δοκιμής θα πρέπει να περιλαμβάνεται σε κάθε δοκιμή χρώσης.

Οι ιστοί που χρησιμοποιούνται για τα υλικά εξωτερικού θετικού ελέγχου θα πρέπει να επιλέγονται από δείγματα ασθενών με καλά χαρακτηρισμένα χαμηλά επίπεδα θετικής δραστηριότητας στόχου που δίνει ασθενή θετική χρώση. Το χαμηλό επίπεδο θετικότητας για εξωτερικούς θετικούς ελέγχους έχει σχεδιαστεί έτσι ώστε να διασφαλίζει την ανίχνευση ανεπαίσθητων

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Greek

αλλαγών στην ευαισθησία του πρωτογενούς αντισώματος από αστάθεια ή προβλήματα με τη μεθοδολογία IHC. Οι πλάκες ελέγχου ιστού που διατίθενται στο εμπόριο ή τα δείγματα που έχουν υποστεί διαφορετική επεξεργασία από τα δείγματα ασθενούς επικυρώνουν μόνο την απόδοση του αντιδραστηρίου και δεν επαληθεύουν την προετοιμασία ιστού.

Οι γνωστοί θετικοί μάρτυρες ιστών θα πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο για την παρακολούθηση της σωστής απόδοσης των επεξεργασμένων ιστών και των δοκιμαστικών αντιδραστηρίων, παρά ως βοήθημα στη διαμόρφωση μιας συγκεκριμένης διάγνωσης δειγμάτων ασθενών. Εάν οι θετικοί μάρτυρες ιστού δεν καταφέρουν να επιδείξουν θετική χρώση, τα αποτελέσματα με τα δείγματα δοκιμής θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

Αρνητικός έλεγχος ιστού:

Χρησιμοποιήστε ένα αρνητικό μάρτυρα ιστού, σταθεροποιημένο, επεξεργασμένο και ενσωματωμένο με τρόπο πανομοιότυπο με το(τα) δείγμα(α) ασθενούς με κάθε διαδικασία χρώσης για να επαληθεύσετε την ειδικότητα του πρωτογενούς αντισώματος IHC για επιδειξη του αντιγόνου στόχου και για παροχή ένδειξης ειδικής χρώσης υποβάθμου (ψευδώς θετική χρώση). Επίσης, η ποικιλία διαφορετικών τύπων κυττάρων που υπάρχουν στα περισσότερα τμήματα ιστού μπορεί να χρησιμοποιηθούν από τον εργαστήριο ως εσωτερικές θέσεις αρνητικού ελέγχου για την επαλήθευση της απόδοσης του IHC Προδιαγράφει. Οι τύποι και οι πηγές των δειγμάτων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για αρνητικό ιστό Τα στοιχεία ελέγχου παρατίθενται στην ενότητα Χαρακτηριστικά απόδοσης.

Εάν εμφανιστεί ειδική χρώση (ψευδώς θετική χρώση) στον αρνητικό μάρτυρα ιστού, τα αποτελέσματα με τα δείγματα ασθενών θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

Μη ειδικός αρνητικός έλεγχος αντιδραστηρίου:

Χρησιμοποιήστε έναν μη ειδικό μάρτυρα αρνητικού αντιδραστηρίου στη θέση του πρωτογενούς αντισώματος με μια τομή από κάθε δείγμα ασθενούς για να αξιολογήσετε τη μη ειδική χρώση και επιτρέπουν την καλύτερη ερμηνεία της ειδικής χρώσης στη θέση του αντιγόνου. Στην ίδιανή περίπτωση, ένας αρνητικός μάρτυρας αντιδραστηρίου περιέχει ένα αντίσωμα που παράγεται και παρασκευάζεται (δηλαδή αραιωμένο στην ίδια συγκέντρωση χρησιμοποιώντας το ίδιο αραιωτικό) για χρήση με τον ίδιο τρόπο όπως το πρωτεύον αντίσωμα, αλλά δεν παρουσιάζει ειδική αντιδραστικότητα με ανθρώπινους ιστούς στην ίδια μητρά/διάλυμα με το αντίσωμα Biocare. Το αραιωτικό μόνο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως λιγότερο επιθυμητή εναλλακτική λύση στη προηγουμένων περιγράφεντα αρνητικά αντιδραστήρια ελέγχου. Η περίοδος επώασης για τον αρνητικό μάρτυρα αντιδραστηρίου πρέπει να αντιστοιχεί σε αυτή του πρωτογενούς αντισώματος.

Όταν χρησιμοποιούνται πάνελ πολλών αντισωμάτων σε σειριακές τομές, οι αρνητικά χρωματισμένες περιοχές μιας αντικειμενοφόρου πλάκας μπορεί να χρησιμεύσουν ως έλεγχος υποβάθμου αρνητικής/μη ειδικής δέσμευσης για άλλα αντισώματα. Για να διαφοροποιηθεί η ενδογενής ενζύμικη δραστηριότητα ή η μη ειδική δέσμευση ενζύμων από την ειδική ανοσοαντιδραστικότητα, επιπλέον ιστοί ασθενών μπορούν να χρωματιστούν αποκλειστικά με σύμπλοκα υποστρώματος-χρωμογόνου ή ενζύμου (PAP, αβιδίνη-βιοτίνη, στρεπταβιδίνη) και υπόστρωμα-χρωμογόνο, αντίστοιχα.

Επαλήθευση δοκιμασίας:

Πριν από την αρχική χρήση ενός αντισώματος ή συστήματος χρώσης σε μια διαγνωστική διαδικασία, ο χρήστης θα πρέπει να επαληθεύσει την ειδικότητα του αντισώματος δοκιμάζοντας το σε μια σειρά εσωτερικών ιστών με γνωστά ανοσοϊστοχημικά χαρακτηριστικά απόδοσης που αντιπροσωπεύουν γνωστούς θετικούς και αρνητικούς ιστούς. Ανατρέξτε στις διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου που περιγράφηκαν προηγουμένως σε αυτήν την ενότητα του ένθετου προϊόντος και στις συστάσεις ποιοτικού ελέγχου του προγράμματος πιστοποίησης CAP¹⁰ για την ανοσοϊστοχημεία και/ή την κατεύθυντηρία

BIOCARE
MEDICAL

γραμμή NCCLS IHC¹¹. Αυτές οι διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου θα πρέπει να επαναλαμβάνονται για κάθε νέα παρτίδα αντισωμάτων ή όποτε υπάρχει αλλαγή στις παραμέτρους της ανάλυσης. Οι ιστοί που αναφέρονται στην ενότητα Χαρακτηριστικά απόδοσης είναι κατάλληλοι για επαλήθευση της ανάλυσης.

Αντιμετώπιση προβλημάτων:

Ακολουθήστε τις συστάσεις του ειδικού πρωτοκόλλου για τα αντισώματα σύμφωνα με το παρεχόμενο φύλλο δεδομένων. Εάν προκύψουν άτυπα αποτελέσματα, επικοινωνήστε με την Τεχνική Υποστήριξη της Biocare στο 1-800-542-2002.

Ερμηνεία της χρώσης:

Το 4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG παράγει μια χρωματική αντίδραση καφέ (HRP) ή κόκκινου (AP) στις θέσεις αντιγόνου που εντοπίζονται από το πρωτεύον αντίσωμα. Πριν από την ερμηνεία των αποτελεσμάτων των ασθενών, η χρώση των μάρτυρων πρέπει να αξιολογηθεί από εξειδικευμένο παθολόγο. Οι αρνητικοί μάρτυρες αξιολογούνται και συγκρίνονται με βαμμένες αντικειμενοφόρες πλάκες για να διασφαλιστεί ότι τυχόν χρώση που παρατηρείται δεν είναι αποτέλεσμα μη ειδικών αλληλεπιδράσεων.

Θετικός έλεγχος ιστού:

Ο θετικός μάρτυρας ιστού που έχει χρωματιστεί με ενδεικνυόμενο αντίσωμα θα πρέπει να εξεταστεί πρώτα για να δισποτωθεί ότι όλα τα αντιδραστήρια λειτουργούν σωστά. Η κατάλληλη χρώση των κυττάρων-στόχων (όπως υποδικνύεται παραπάνω) είναι ενδεικτική της θετικής αντιδραστικότητας. Εάν οι θετικοί μάρτυρες ιστού αποτύχουν να επιδείξουν θετική χρώση, τυχόν αποτελέσματα με τα δείγματα δοκιμής θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

Το χρώμα του προϊόντος αντιδρασης μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με τα χρωμογόνα του υποστρώματος που χρησιμοποιούνται. Ανατρέξτε στα ένθετα συσκευασίας του υποστρώματος για τις αναμενόμενες χρωματικές αντιδράσεις. Περαιτέρω, μεταχρωμασία μπορεί να παρατηρηθεί σε παραλλαγές της μεθόδου χρώσης.¹²

Όταν χρησιμοποιείται αντιχρώση, ανάλογα με το μήκος επώασης και την ισχύ της αντιχρώσης που χρησιμοποιείται, η αντιχρώση θα οδηγήσει σε χρωματισμό των κυτταρικών πυρήνων. Η υπερβολική ή ατελής αντιχρώση μπορεί να θέσει σε κίνδυνο τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Ανατρέξτε στο(a) πρωτόκολλο(a) για προτεινόμενη αντιχρώση.

Αρνητικός έλεγχος ιστού:

Ο αρνητικός μάρτυρας ιστού θα πρέπει να εξετάζεται μετά τον θετικό μάρτυρα ιστού για να επαληθευτεί η ειδικότητα της επιστήμανσης του αντιγόνου στόχου από το πρωτεύον αντίσωμα. Η απουσία ειδικής χρώσης στον αρνητικό έλεγχο ιστού επιβεβαιώνει την έλλειψη διασταυρούμενης αντιδραστικότητας αντισώματος σε κύτταρα/κυτταρικά συστατικά. Εάν εμφανιστεί ειδική χρώση (ψευδώς θετική χρώση) στον αρνητικό εξωτερικό μάρτυρα ιστού, τα αποτελέσματα με το δείγμα ασθενούς θα πρέπει να θεωρηθούν άκυρα.

Η μη ειδική χρώση, εάν υπάρχει, έχει συνήθως διάχυτη εμφάνιση. Σποραδική χρώση του συνδετικού ιστού μπορεί επίσης να παρατηρηθεί σε τομές από υπερβολικά στερεωμένους με φορμαλίνη ιστούς. Χρησιμοποιήστε άθικτα κύτταρα για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων χρώσης. Τα νεκρωτικά ή εκφυλισμένα κύτταρα συχνά χρωματίζονται μη ειδικά.

Ιστός ασθενούς:

Εξετάστε δείγματα ασθενών που έχουν χρωματιστεί με ενδεικνυόμενο αντίσωμα τελευταίο. Η θετική ένταση χρώσης θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο οποιασδήποτε μη ειδικής χρώσης υποβάθμου του αρνητικού αντιδραστηρίου ελέγχου. Όπως με κάθε ανοσοϊστοχημική δοκιμή, ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το αντιγόνο δεν ανιχνεύθηκε, όχι ότι το αντιγόνο απουσίαζε στα κύτταρα/ιστό που προσδιορίστηκαν. Εάν είναι



Biocare Medical

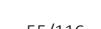
60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

TP v3 (12/15/2021)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080



EC REP EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Greek

απαραίτητο, χρησιμοποιήστε μια ομάδα αντισωμάτων για τον εντοπισμό ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων.

Ανατρέξτε στην Περίληψη και Επεξήγηση, στους Περιορισμούς και στα Χαρακτηριστικά Απόδοσης για συγκεκριμένες πληροφορίες σχετικά με την ενδεικνυόμενη ανοσοαντιδραστικότητα αντισωμάτων.

Περιορισμοί:

Γενικοί περιορισμοί:

1. Γιαίν *vitro* διαγνωστική (IVD) Χρήση
2. Αυτό το προϊόν προορίζεται μόνο για επαγγελματική χρήση: Η ανοσοϊστοχρεία είναι μια διαγνωστική διαδικασία πολλαπλών σταδίων που αποτελείται από εξειδικευμένη εκπαίδευση στην επιλογή των κατάλληλων αντιδραστηρίων, επιλογή, στρέώση και επεξεργασία ιστού, προετοιμασία της διαφάνειας IHC, και ερμηνεία των αποτελεσμάτων χρώστη.
3. Για χρήση μόνο με συνταγή γιατρού. (Μόνο Rx)
4. Η χρώση του ιστού εξαρτάται από τον χειρισμό και την επεξεργασία του ιστού πριν από τη χρώση. Η ακατάλληλη στρέώση, κατάψυξη, απόψυξη, πλύσιμο, στέγνωμα, θέρμανση, κοπή ή μόλυνση με άλλους ιστούς ή υγρά μπορεί να προκαλέσει τεχνουργήματα, παγίδευση αντισωμάτων ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Τα ασυνεπή αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται σε παραλλαγές στις μεθόδους στρέώσης και ενσωμάτωσης ή σε εγγενείς ανωμαλίες εντός του ιστού.¹³
5. Η υπερβολική ή αστέλγηση αντιχρώση μπορεί να θέσει σε κίνδυνο τη ασωτή ερμηνεία των αποτελεσμάτων.
6. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε θετικής ή αρνητικής χρώσης θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο της κλινικής εικόνας, της μορφολογίας και άλλων ιστοπαθολογικών κριτηρίων. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε θετικής ή αρνητικής χρώσης θα πρέπει να συμπληρώνεται από μορφολογικές μελέτες με χρήση κατάλληλων θετικών και αρνητικών εσωτερικών και εξωτερικών μαρτύρων καθώς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων. Η ερμηνεία όλων των βημάτων που χρησιμοποιούνται για την προετοιμασία και την ερμηνεία του τελικού παρασκευάσματος IHC είναι ευθύνη ενός ειδικευμένου παθολόγου που είναι εξοικειωμένος με τη σωστή χρήση των αντισωμάτων, των αντιδραστηρίων και των μεθόδων IHC.
7. Τα βέλτιστα πρωτόκολλα για μια συγκεκριμένη εφαρμογή μπορεί να διαφέρουν. Αυτά περιλαμβάνουν, ενδεικτικά τη σταθεροποίηση, τη μέθοδο ανάκτησης θερμότητας, τους χρόνους επώασης, την αραίωση αντισωμάτων, το πάχος του τρήματος ιστού και το κίτινο ανίχνευσης που χρησιμοποιείται. Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του πρωτογενούς αντισώματος και άλλων βοηθητικών αντιδραστηρίων για συνιστώμενα πρωτόκολλα και συνθήκες χρήσης. Οι συστάσεις και τα πρωτόκολλα του δελτίου δεδομένων βασίζονται στην αποκλειστική χρήση των προϊόντων Biocare. Τελικά, είναι ευθύνη του ερευνητή να καθορίσει τις βέλτιστες συνθήκες.
8. Αυτό το προϊόν δεν προορίζεται για χρήση στην κυτταρομετρία ροής. Τα χαρακτηριστικά απόδοσης δεν έχουν προσδιοριστεί για την κυτταρομετρία ροής.
9. Οι ιστοί από άτομα μολυσμένα με τον ίδια της ηπατίτιδας B και που περιέχουν επιφανειακό αντιγόνο ηπατίτιδας B (HBsAg) μπορεί να εμφανίσουν μη ειδική χρώση με υπεροξείδωση χρένου.¹⁴
10. Τα αντιδραστήρια μπορεί να παρουσιάσουν απροσδόκητες αντιδράσεις σε ιστούς που δεν είχαν δοκιμαστεί προηγουμένως. Η πιθανότητα απροσδόκητων αντιδράσεων ακόμη και σε δοκιμασμένες ομάδες ιστών δεν μπορεί να εξαλειφθεί πλήρως λόγω της βιολογικής μεταβλητότητας της έκφρασης αντιγόνου σε νεοπλάσματα ή άλλους παθολογικούς ιστούς.¹⁵ Επικοινωνήστε με την τεχνική υποστήριξη της Biocare στο 1-800-542-2002 ή μέσω των πληροφοριών τεχνικής υποστήριξης που παρέχονται στο biocare.net, με τεκμηριωμένες απροσδόκητες αντιδράσεις.
11. Φυσιολογικοί/μη-άνοσοι οροί από την ίδια ζωική πηγή με τους δευτερογενείς αντιορούς που χρησιμοποιούνται στα βήματα

BIOCARE
MEDICAL

αποκλεισμού μπορεί να προκαλέσουν ψευδώς αρνητικά ή ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω αυτοαντισωμάτων ή φυσικών αντισωμάτων.

12. Εσφαλμένα θετικά αποτελέσματα μπορεί να παρατηρηθούν λόγω μη ανοσολογικής δέσμευσης πρωτεΐνων ή προϊόντων αντιδρασης υποστρώματος. Μπορούν επίσης να προκληθούν από δραστηριότητα ψευδο-υπεροξειδάσης (ερυθροκύπταρα), ενδογενή δραστηριότητα υπεροξειδάσης (κυτόχρωμα C) ή ενδογενή βιοτίνη (π.χ. ήπαρ, μαστός, εγκέφαλος, νεφρός) ανάλογα με τον τύπο της ανοσοχρήσης που χρησιμοποιείται.¹³
13. Ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το αντιγόνο δεν ανιχνεύτηκε, όχι ότι το αντιγόνο απουσίαζε στα κύτταρα ή στον ιστό που εξετάστηκαν.

Ειδικοί περιορισμοί προϊόντος:

Δεν υπάρχουν πρόσθετοι περιορισμοί για το συγκεκριμένο προϊόν.

Χαρακτηριστικά απόδοσης:

Η χρώση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας πρωτόκολλα που παρέχονται στις ειδικές οδηγίες χρήσης αντισώματος ή όπως ορίζεται. Η ευαισθησία και η ειδικότητα της χρώσης αξιολογήθηκαν σε ένα εύρος τύπων φυσιολογικών και νεοπλασματικών ιστών που αξιολογήθηκαν κατά την ανάπτυξη πρωτογενών αντισωμάτων.

Αναπαραγωγιμότητα:

Η επαναληφιμότητα των συστημάτων ανιχνευσης και των αντιδραστηρίων συστήματος της Biocare επαληθεύεται μέσω μιας μέτρησης ενδιάμεσης ακρίβειας στην οποία δοκιμάστηκαν διάφορες παρτίδες αντιδραστηρίων για εκτεταμένη χρονική περίοδο χρησιμοποιώντας διάφορους χειριστές, αναλυτές, παρτίδες αντιδραστηρίων, δείγματα ιστών και εξοπλισμό. Η χρώση που λήφθηκε για κάθε αντιδραστήριο ανιχνεύσης που αξιολογήθηκε ήταν συνεπής και εκτελέστηκε όπως αναμενόταν.

Αντιμετώπιση προβλημάτων:

1. Δεν υπάρχει χρώση οποιωνδήποτε πλακών – Ελέγχτε για να προσδιορίσετε ότι έχουν χρησιμοποιηθεί κατάλληλος ιστός θετικό μάρτυρα, αντίσωμα και προϊόντα ανιχνευσης. Ελέγχτε για ελλιπή ή ακατάλληλη αφαίρεση ή προεπεξεργασία κεριού.
2. Αδύναμη χρώση όλων των πλακών – Ελέγχτε για να προσδιορίσετε ότι έχουν χρησιμοποιηθεί κατάλληλοι ιστοί θετικού ελέγχου, αντισώματα και προϊόντα ανιχνευσης.
3. Υπερβολικό υπόβαθρο όλων των διαφανειών – Μπορεί να υπάρχουν υψηλά επίπεδα ενδογενών βιοτίνης (εάν χρησιμοποιούνται προϊόντα ανιχνευσης με βάση τη βιοτίνη), ενδογενής δραστηριότητα HRP που μετατρέπει το χρωμογόνο σε έγχρωμο τελικό προϊόν (χρήση μπλοκ υπεροξειδάσης) ή υπερβολική αλληλεπίδραση μη ειδικής πρωτεΐνης (χρησιμοποιήστε πρωτεΐνη μπλοκ, όπως ανασταλτικό διάλυμα με βάση τον ορό ή την καζεΐνη).
4. Τα τρήματα ιστού ξεπλένουν τις αντικειμενοφόρες πλάκες κατά τη διάρκεια της επώασης – Ελέγχτε τις αντικειμενοφόρες πλάκες για να βεβαιωθείτε ότι είναι θετικά φορτισμένες.
5. Ειδική χρώση πολύ σκούρα – Ελέγχτε το πρωτόκολλο για να προσδιορίσετε εάν εφαρμόστηκε ο κατάλληλος τίτλος αντισωμάτων στην αντικειμενοφόρα πλάκα, καθώς και ο κατάλληλοι χρόνοι επώασης για όλα τα αντιδραστήρια. Επιπλέον, βεβαιωθείτε ότι το πρωτόκολλο έχει αρκετά βήματα πλύσης για την αφαίρεση της περίσσειας αντιδραστηρίων μετά την ολοκλήρωση των βημάτων επώασης.

Βιβλιογραφικές αναφορές:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

56/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Greek

BIOCARE
M E D I C A L

3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfent EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Hungarian

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Rendeltetésszerű használat:

Mert in vitro Diagnosztikai felhasználás

A 4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG manuális vagy automatizált immunhisztokémiai (IHC) festési protokollokban használható, tormaperoxidáz (HRP) vagy alkalikus foszfatáz (AP) sztreptavidin-konjugátum kétlépéses alkalmazási módszerrel. Ez a sztreptavidin-konjugátum kimanatás az IHC festési folyamat során a formalinhoz rögzített, paraffinba ágyazott (FFPE) szövetekben a céltantigéneket kötődő egér IgG primer antitestek kimanatására szolgál. Bárminely festődés vagy annak hiánya klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollakkal kell kiegészíteni, és a beteg klinikai anamnézisének és egyéb diagnosztikai vizsgálatainak összefüggésében kell értékelnie egy szakképzett patológusnak.

Összegzés és magyarázat:

A 4plus Biotinilált Kecske Anti-egér IgG kétlépéses módszert használnak egér primer antitestek kimanatására antitest-enzim komplex létrehozása céljából. Ezt a komplexet azután megfelelő szubsztrát/kromogén segítségével vizualizáljuk. A kétlépéses módszerben a másodlagos antitestet biotinilezzük, és egy további enzimmel jelölt sztreptavidint alkalmazunk egymás után. A kétlépcsős módszert arra tervezték, hogy az alacsony expressziójú antigének esetében felerősítse a kimanatást.

Ez a biotinilált antitest reagál az egér IgG nehéz és könnyű láncával. Ló, szarvasmarha és ember ellen adszorbeálódik. Reagál az egér IgG alosztályával és az egér IgM-mel. Affinitástsztítással tisztították, minimális keresztreakcióval az emberi, szarvasmarha- és lószérumfehérjékkel. Egy hosszú távtartó kart helyeztek el a biotin és a másodlagos antitest közé, hogy növeljék az érzékenységet, ha streptavidin konjugátumokkal kapcsolják össze. A 4plus Biotinylated goat Anti-Mouse IgG sztreptavidin tormaperoxidáz vagy sztreptavidin alkalikus foszfatáz detektáló rendszerekkel is használható.

Eljárás elve:

Ez a mikropolimer-detektáló készlet használható formalinnal rögzített, paraffinba ágyazott szövetmetszetek immunhisztokémiai vizsgálatára. Általában az immunhisztokémiai (IHC) A festési technikák lehetővé teszik az antigének láthatóvá tételeit az a specifikus antitest az antigén ellen (elsődleges antitest), egy másodlagos antitest az elsődleges antitest ellen (opcionális link antitest/próba), egy enzimkomplex és egy kromogén szubsztrát, közbeiktatott mosási lépésekkel. A kromogén enzimatikus aktiválása az antigén helyén látható reakcióterméket eredményez. A minta ezután ellenfesthető, és fedőlemezzel festhető. Az eredményeket fény segítségével értelmezők mikroszkóppal és segítséget nyújt a körlegettani folyamatok differenciáldiagnosztikájában, amely lehet, ill nem kapcsolódhat egy adott antigénhez.

Anyagok és metódusok:

Mellékelt reagensek:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Feloldás, keverés, hígítás, titrálás:

A sztreptavidin alapú detektáló készlet reagens(ek) optimalizáltak, és használatra készek a Biocare antitestekkel és kiegészítő reagensekkel. Nincs szükség feloldásra, keverésre, hígításra vagy titrálásra.

Ismert alkalmazások:

Immunhisztokémia (formalinnal rögzített paraffinba ágyazott szövetek)

A fajok reakciókészsége:

Egér IgG nehéz és könnyű láncok

Így szállítva:

Pufferolt sóoldal, pH 7,2-7,4, aprotein hordozót és kevesebb mint 0,01% ProClin 300-at és/vagy kevesebb, mint 0,5% ProClin 950-et tartósítószerként. További részletekért lásd a biztonsági adatlapot.

Szükséges de nem mellékelt anyagok és reagensek:

Mikroszkóp tárgylemezek, pozitív töltésű

Pozitív és negatív szövetkontrollok

Desert Chamber* vagy hasonló szárító sütő (opcionális)

Xilol vagy xiol helyettesítő

Etanol vagy reagens alkohol

Elzáró kamra* vagy hasonló gyorsfűző (opcionális)

Ionmentesített vagy desztillált víz

Mosó puffer*

Előkezelő reagensek* (opcionális)

Enzimes emésztés* (opcionális)

peroxidáz blokk*

Protein blokk* (opcionális)

Avidin-Biotin blokkoló készlet

Elsődleges antitest*

Streptavidin címke*

Negatív kontroll reagensek*

Kromogének*

Hematoxilin* (ellenfesték)

Kék reagens*

Szerelési közeg*

Fedőüveg

Fénymikroszkóp (40-400X nagyítás)

* Biocare Medical Products: A katalógusszámokkal és a rendeléssel kapcsolatos információkért tekintse meg a Biocare Medical webhelyet a <http://biocare.net> címen. A fent felsorolt egyes reagensek az alkalmazott speciális alkalmazáson és észlelési rendszeren alapulnak.

Tárolás és stabilitás:

2°C és 8°C között tárolandó. A termék az injekciós üveg címkéjén feltüntetett lejárat időig stabil, ha ilyen körülmények között tárolják. Ne használja a lejárat idő után. A meghatározottaktól eltérő körülmények között tárolást ellenőrizni kell. A kit reagens(ek) használatra készek, és nem szabad hígítani. A felhasználó által hígított reagens stabilitását a Biocare nem állapította meg.

A pozitív és negatív kontrollokat egyidejűleg kell lefuttatni az összes betegmintával. Ha váratlan festődést észlel, amely nem magyarázható a laboratóriumi eljárások eltéréseivel, és az antitesttel kapcsolatos probléma gyanúja merül fel, lépjön kapcsolatba a Biocare műszaki támogatásával az 1-800-542-2002 telefonszámon vagy a biocare.net oldalon található műszaki támogatási információkon keresztül.

Minta előkészítés:

A formalinban rögzített szövetek alkalmasak a paraffin beágyazódás előtti használatra. A csontszöveteket a szövetfeldolgozás előtt vízköteleníténi kell a szövetvágás megkönnyítése és a mikrotom pengéi károsodásának elkerülése érdekében.^{1,2}

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

58/116



TP v3 (12/15/2021)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Hungarian

BIOCARE
MEDICAL

A megfelelően rögzített és beágyazott, a meghatározott antigén célpontot expresszáló szöveteket hűvös helyen kell tárolni. Az 1988-as Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) 42 CFR-t ír el §493.1259(b) pont, amely szerint „A laboratóriumnak legalább tiz évig meg kell őriznie a megfestett tárgylemezeket megvizsgálja és megőrzi a mintatömbököt a vizsgálat időpontjától számított legalább két évig.”³

A szövetek kezelése festés előtt:

Hajts végre a hőinduktált epitóp-visszakeresést (HIER) az alábbi javasolt protokoll szerint. Kimitatták, hogy a HIER rutinszerű használata az IHC előtt minimálisra csökkenti az inkonziszenciát és szabványosítja a festődést.^{4,5}

Figyelmeztetés és óvintézkedések:

1. A kit reagensek kevesebb, mint 0,05% ProClin 300-at és/vagy kevesebb, mint 1% 950->-et tartalmaznak. Viseljen kesztyűt és védőruházatot, és tegye meg a megfelelő óvintézkedéseket a kezelés során, mivel a ProClin irritáló anyagként van besorolva, és bőrrel érintkezve túlerékenységet okozhat. Kerülje a szembe, bőrrel és nyálkahártyákkal való érintkezést.
2. Az emberi vagy állati eredetű anyagokat potenciálisan biológiaiag veszélyesént kezelje, és megfelelő óvintézkedésekkel ártalmatlanítása az ilyen anyagokat. Expozíció esetén kövesse az illetékes hatóságok egészségügyi irányelvét.^{6,7}
3. A mintákat a rögzítés előtt és után, valamint az ezeknek kitett anyagokat úgy kell kezelni, mintha képesek lennének fertőzést továbbítani, és megfelelő óvintézkedésekkel kell ártalmatlanítani. Soha ne pipettázzon reagenseket szájon át, és kerülje a bőrrel és a nyálkahártyákkal való érintkezést a reagensekkel és a mintákkal. Ha a reagensek vagy a minták érzékeny területekkel érintkeznek, mosza le bő vízzel.⁸
4. A reagensek mikrobiális szennyeződése a nem specifikus festődés növekedését eredményezheti.
5. A megadotttól eltérő inkubációs idők vagy hőméréséletek hibás eredményeket adhatnak. A felhasználónak minden ilyen változtatást érvényesítenie kell.
6. Ne használja fel a reagenst az injektív üvegre nyomtatott lejáratú idő után.
7. A mikropolimer-detektáló készlet reagense(i) optimalizáltak, és használatra készek a Biocare antitestekkel és kiegészítő reagensekkel. Tekintse meg az elsődleges antitest és más kiegészítő reagens használati útmutatóját az ajánlott protokollokhoz és használati feltételekhez.
8. Kövesse a helyi és/vagy állami hatóságok előírásait az ártalmatlanítás módjára vonatkozóan.
9. Az SDS kérésre elérhető, és a címen található <http://biocare.net>.
10. Jelentse az eszközzel kapcsolatos minden súlyos eseményt a Biocare helyi képviselőjével és a felhasználó tartózkodási helye szerinti tagállam vagy ország illetékes hatóságával.

Használati útmutató:

A mikropolimer-detektáló készlet reagense(i) optimalizáltak, és használatra készek a Biocare antitestekkel és kiegészítő reagensekkel. Tekintse meg az elsődleges antitest és más kiegészítő reagens használati útmutatóját az ajánlott protokollokhoz és használati feltételekhez. Az inkubációs idők és hőméréséletek a követett specifikus antitest protokoltól függően változnak.

Ha automata festőműszert használ, olvassa el az adott műszer kezelési útmutatóját és a használati paramétereit.

Az IHC elvégzésének általános eljárási lépései:

1. Paraffinmentesítés: Paraffinmentesítse a tárgylemezeket Slide Brite-ben vagy xilolban. A lemezeket osztályozott alkoholok sorozatában hidratálja vizré.
2. Peroxid blokk: Blokkolja 5 percig Peroxidáz 1-gyel.
3. Előkezelési oldat/protokoll: Kérjük, olvassa el a megfelelő elsődleges antitest adatlapját az ajánlott előkezelési oldathoz és protokollohoz.
5. Avidin blokk: Inkubálja 10-20 percig szabahőmérsékleten Biocare Avidinnel.

6. Biotin blokk: Inkubálja 10-20 percig szabahőmérsékleten Biocare Biotinnel.
7. Protein Block (opcionális): Inkubálja 10-15 percig szabahőmérsékleten (RT) a Background Snipperrel.

8. Primer antitest: Kérjük, olvassa el a megfelelő elsődleges antitest adatlapot az inkubációs idővel kapcsolatban.

9. Kapcsolat: Inkubálja 10 percig szabahőmérsékleten 4plus Biotinylated Link-el.

10. Címke: Inkubálja 10-20 percig szabahőmérsékleten 4plus Streptavidin HRP vagy Streptavidin AP Label segítségével.

11. Kromogén: Inkubálja 10-20 percig szabahőmérsékleten Biocare DAB-jával vagy 5-7 percig szabahőmérsékleten Warp Red-el.

12. Ellenfestés: Ellenfestés hematoxinell. Öblítse le ioncserélő vízzel. Alkalmazza a Tacha's Blueing Solution-t 1 percig. Öblítse le ioncserélő vízzel.

Műszaki megjegyzések:

1. Használjon TBS-t a mosási lépésekhez.

Minőség ellenőrzés:

Lásd: CLSI minőségi szabványok az immunhisztokémiai vizsgálatok tervezésére és végrehajtására vonatkozóan; Jóváhagyott útmutató – Második kiadás (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁹

Pozitív szövetkontroll:

A külső pozitív kontroll anyagoknak friss mintáknak kell lenniük, rögzítve, feldolgozva és a lehető leghamarabb beágyazva, ugyanúgy, mint a betegmintá(ka)t. A pozitív szövetkontroll a megfelelően előkészített szöveteket és a megfelelő festési technikákat jelzi. minden egyes vizsgálati körülmenyhez egy pozitív külső szövetkontrollt kell bevonni minden festési futtatásba.

A külső pozitív kontrollanyagokhoz használt szöveteket olyan betegmintákhoz kell kiválasztani, amelyekben a pozitív céaktivitás jól jellemzhető alacsony szintje, ami gyenge pozitív festést eredményez. A külső pozitív kontrollok alacsony pozitivitási szintjét úgy terveztek, hogy biztosítsa az elsődleges antitest-érzékenységen belül az instabilitásból vagy az IHC-módszerrel kapcsolatos problémákból eredő finom változásokat. A kereskedelemben kapható szövetkontroll tárgylemezek vagy a páciens mintáitól eltérően feldolgozott minták csak a reagens teljesítményét érvényesítik, és nem igazolják a szövet előkészítését.

Az ismert pozitív szövetkontrollokat csak a feldolgozott szövetek és tesztreagensek megfelelő teljesítményének ellenőrzésére szabad használni, nem pedig a betegminták specifikus diagnózisának felállításához. Ha a pozitív szövetkontroll nem mutat pozitív festődést, a vizsgálati minták eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

Negatív szövetek kontrollja:

Használjon negatív szöveti kontrollt fixált, feldolgozott és beágyazott módon, a beteg mintáival azonos módon minden festést futtatásnál, hogy ellenőrizze az IHC elsődleges antitest specifitását a céltantigon kimerítésre, valamint a specifikus háttérfestődés jelzése (téves pozitív festés). Ezenkívül a legtöbb szövetmetszetben jelenlévő különféle sejtípusok sokfélesége képes a laboratórium belső negatív kontrollhelyként használni az IHC teljesítményének ellenőrzésére specifikációk. A negatív szövetekhez használható minták típusai és forrásai A vezérlőelemek a Teljesítményjellemzők részben találhatók.

Ha specifikus festődés (álpozitív festődés) fordul elő a negatív szövetkontrollban, a betegminták eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

59/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Hungarian

BIOCARE
MEDICAL

Nem specifikus negatív reagens kontroll:

Használjon nem specifikus negatív reagens kontrollt az elsődleges antitest helyett minden egyes betegminta egy metszetével, hogy értékelje a nem specifikus festődést és lehetővé teszik a specifikus festődés jobb értelmezését az antigén helyén. Ideális esetben a negatív reagens kontroll egy olyan antitestet tartalmaz, amelyet előállítottak és előállítottak (azaz azonos koncentrációra hígítottak ugyanazzal a hígítószerrrel) felhasználásra, ugyanúgy, mint az elsődleges antitest, de nem mutat specifikus reaktivitást emberi szövetekkel ugyanabban a mátrixban/oldalban, mint a Biocare antitest. A korábban leírt negatív reagens kontrollok kevésbé kívánatos alternatíváként a hígító önmagában is használható. A negatív reagens kontroll inkubációs időszakának meg kell egyeznie az elsődleges antitest inkubációs időszakával.

Ha több antitestből álló paneleket használnak a sorozatmetszeteken, akkor az egyik tárgylemez negatív festő területei negatív/nem specifikus kötődési háttérkontrollként szolgálhatnak más antitestekhez. Az endogén enzimaktivitás vagy az enzimek nem specifikus kötődésének megkülönböztetésére a specifikus immunreaktivitástól további betegszövetek festhetők kizárolag szubsztrát-kromogén vagy enzimkomplexekkel (PAP, avidin-biotin, streptavidin), illetve szubsztrát-kromogénnel.

A vizsgálat ellenőrzése:

Az antitest vagy festőrendszer diagnosztikai eljárásban történő első használata előtt a felhasználónak ellenőriznie kell az antitest specifitását úgy, hogy egy sor házon belüli szöveten teszтели, amelyek ismert immunhisztokémiai teljesítményjellemzői ismertek, amelyek ismert pozitív és negatív szövegeteket képviselnek. Tekintse meg a termékismertető ezen részében korábban ismertetett minőség-ellenőrzési eljárásokat és a CAP tanúsítási program minőség-ellenőrzési ajánlásait.¹⁰ Az immunhisztokémiahoz és/vagy az NCCLS IHC-irányelvhez¹¹. Ezeket a minőség-ellenőrzési eljárásokat meg kell ismételni minden új antitest-tételelnél, vagy amikor a vizsgálati paraméterek megváltoznak. A Teljesítményjellemzők részben felsorolt szövegetek alkalmassak a teszt ellenőrzésére.

Hibaelhárítás:

Kövesse az antitest-specifikus protokoll ajánlásait a mellékelt adatlapnak megfelelően. Ha atípus eredményeket észlel, forduljon a Biocare műszaki támogatásához az 1-800-542-2002 telefonszámon.

A festés értelmezése:

A 4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG barna (HRP) vagy vörös (AP) színreakciót vált ki az elsődleges antitest által lokalizált antigén helyeken. A betegek eredményeinek értelmezése előtt a kontrollok festését szakképzett patológusnak kell értékelnie. A negatív kontollokat értékeljük és összehasonlítjuk a festett tárgylemezekkel, hogy megbizonyosodunk arról, hogy a megfigyelt festődés nem specifikus kölcsönhatás eredménye.

Pozitív szövetkontroll:

A jelzett antitesttel megfestett pozitív szöveti kontrollt először meg kell vizsgálni, hogy megbizonyosodunk arról, hogy minden reagens megfelelően működik. A célsíjak megfelelő festése (amint azt fentebb jelezük) pozitív reaktivitást jelez. Ha a pozitív szöveti kontollok nem mutatnak pozitív festést, a vizsgálati minták minden eredményét érvénytelennek kell tekinteni.

A reakciótermék színe az alkalmazott szubsztrát kromogénektől függően változhat. A váratlan színreakciókért lásd az aljazat csomagolását. Ezenkívül a festési módszer változataiban metakromázia figyelhető meg.¹²

Ha ellenfestést használunk, az alkalmazott ellenfestés inkubációs hosszától és hatásosságától függően az ellenfestés a sejtmagok elszíneződését eredményezi. A túlzott vagy hiányos ellenfestés veszélyeztetheti az eredmények megfelelő értelmezését. Az ajánlott ellenfestéshez lásd a protokoll(oka)t.

Negatív szövetkontroll:

A negatív szöveti kontrollt a pozitív szöveti kontroll után meg kell vizsgálni, hogy ellenőrizzük a céltanténél elsődleges antitest általi jelölésének specifitását. A specifikus festődés hiánya a negatív szöveti kontrollban megerősíti az antitest sejtekkel/sejtkomponensekkel szembeni keresztreaktivitásának hiányát. Ha specifikus festődés (álpozitív festődés) fordul elő a negatív külső szövetkontrollban, a betegminta eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

A nem specifikus festődés, ha van, általában diffúz megjelenésű. A túlzottan formalinban rögzített szövetekből származó metszeteken a kötőszövet szórányos festődése is megfigyelhető. Használjon ép sejteket a festés eredményének értelmezéséhez. A nekrotikus vagy degenerált sejtek gyakran nem specifikusan festődnek.

Betegszövet:

Vizsgálja meg a jelzett antitesttel megfestett betegmintákat utolsó. A pozitív festődés intenzitását a negatív reagens kontroll bármely nem specifikus háttérfestésével összefüggésben kell értékelni. Mint minden immunhisztokémiai tesztnél, a negatív eredmény azt jelenti, hogy az antigén nem volt kimutatható, nem pedig azt, hogy az antigén hiányzik a vizsgált sejtekben/szövetekben. Ha szükséges, használja az antitestek paneljét az álnegatív reakciókazonosításához.

Tekintse meg az Összefoglalás és magyarázat, a Korlátozások és a Teljesítmény jellemzői című részt a jelzett antitest immunreaktivitással kapcsolatos konkrét információkért.

Korlátozások:

Általános korlátozások:

1. Mertin vitro diagnosztikai (IVD) Használata
2. Ez a termék kizárolag professzionális használatra készült: Az immunhisztokémia egy többletpcsős diagnosztikai folyamat, amely a megfelelő reagensek kiválasztására vonatkozó speciális képzésből áll; szövetek kiválasztása, rögzítése és feldolgozása; az IHC tárgylemez elkészítése; és a festési eredmények értelmezése.
3. Csak orvos rendelvényre használható. (Csak Rx)
4. A szövetfestés a szövet festés előtti kezelésétől és feldolgozásától függ. A nem megfelelő rögzítés, fagyasztás, felolvastás, mosás, száritás, melegítés, metszés vagy más szövetekkel vagy folyadékokkal való szennyeződés műtermékeket, antitest-befogást vagy hamis negatív eredményeket eredményezhet. Az ellentmondásos eredmények oka lehet a rögzítési és beágyazási módszerek eltérése, vagy a szöveten belüli inherens szabálytalanságok.¹³
5. A túlzott vagy hiányos ellenfestés veszélyeztetheti az eredmények megfelelő értelmezését.
6. Bármi pozitív vagy negatív festődés klinikai értelmezését a klinikai megjelenés, a morfológia és egyéb kórszövettani kritériumok összefüggésében kell értékelni. A pozitív vagy negatív festődés klinikai értelmezését megfelelő pozitív és negatív belső és külső kontrollokat, valamint egyéb diagnosztikai teszteket alkalmazó morfológiai vizsgálatokkal kell kiegészíteni. Az IHC antitestek, reagensek és módszerek megfelelő használatát ismerő, szakképzett patológus feladata, hogy értelmezze a végső IHC-készítmény elkészítéséhez és értelmezéséhez használt összes lépést.
7. Egy adott alkalmazáshoz az optimális protokollok változhatnak. Ezek közé tartozik többek között a rögzítés, a hővisszanyerési módszer, az inkubációs idők, az antitesthigítás, a szövetmetszet vastagsága és a használt kimutatási készlet. Tekintse meg az elsődleges antitest és más kiegészítő reagens használati útmutatóját az ajánlott protokollokhöz használati feltételekhez. Az adatlap ajánlásai és protokolljai a Biocare termékek kizárolagos felhasználásán alapulnak. Végső soron a vizsgáló feladata az optimális feltételek meghatározása.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

60/116

TP v3 (12/15/2021)

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Hungarian

BIOCARE
MEDICAL

8. Ezt a terméket nem áramlási citometriában való használatra tervezték. Az áramlási citometria teljesítményjellemzőit nem határozták meg.
9. A hepatitis B vírussal fertőzött és hepatitis B felületi antigént (HBsAg) tartalmazó személyek szövetei torma-peroxidázzal nem specifikus festódést mutathatnak.¹⁴
10. A reagensek váratlans reakciókat mutathatnak korábban nem tesztelt szövetekben. A nem várt reakciók lehetősége még a vizsgált szövetscortokban sem zárható ki teljesen az antigénesszesszí biológiai variabilitása miatt daganatokban vagy más patológiai szövetekben.¹⁵ Forduljon a Biocare műszaki támogatásához az 1-800-542-2002 telefonszámon vagy a biocare.net oldalon található műszaki támogatási információkon keresztül dokumentált váratlans reakciókkal.
11. A blokkoló lépésekben használt másodlagos antiszérumokkal azonos általi forrásból származó normál/nem immunszérum álnegatív vagy álpozitív eredményeket okozhat az autoantitestek vagy természetes antitestek miatt.
12. A fehérjék vagy szubsztrát reakciótermékek nem immunológiai kötődése miatt álpozitív eredményeket lehet látni. A pszeudo-peroxidáz aktivitás (eritrociták), az endogén peroxidáz aktivitás (citokrom C) vagy az endogén biotin (például máj, emlő, agy, vese) is okozhatja a használt immunfestés típusától függően.¹³
13. A negatív eredmény azt jelenti, hogy az antigén nem volt kimutatható, nem pedig azt, hogy az antigén hiányzott a vizsgált sejtekben vagy szövetekben.

Termékspecifikus korlátozások:

Nincsenek további termékspecifikus korlátozások.

Teljesítmény jellemzők:

A festést az antitest-specifikus használati utasításban megadott protokollok szerint vagy a megadottak szerint végeztük. A festődés érzékenységét és specificitását számos normál és daganatos szövettípuson értékelték, amelyeket az elsődleges antitestek kialakulása során értékeltek.

Reprodukálhatóság:

A Biocare érzékelőrendszereinek és rendszerreagenseinek reprodukálhatóságát közepes pontosságú méréssel igazolják, amelynek során különböző reagenstételeket teszteltek hosszabb időn keresztül különöző kezelők, elemzők, reagenstételek, szövetminták és berendezések segítségével. Az egyes kiértékelte kimutatási reagenseknél kapott festődés konzisztens volt, és a várt módon történt.

Hibaelhárítás:

1. A tárgylemezek nem festődnak – Ellenőrizze, hogy megfelelő pozitív kontrollsöveget, antitestet és kimutatási termékeket használt-e. Ellenőrizze a hiányos vagy nem megfelelő viaszeltávoltást vagy előkezelést.
2. Az összes tárgylemez gyengén festődött – Ellenőrizze, hogy megfelelő pozitív kontrollsöveget, antitestet és kimutatási termékeket használt-e.
3. Az összes tárgylemez túlzott háttere – Magas szintű endogén biotin (biotin alapú kimutatási termékek használata esetén), endogén HRP aktivitás, amely a kromogént színes végtermékké alakítja (használjon peroxidáz blokkot), vagy túl sok nem specifikus fehérje kölcsönhatás (fehérje használata) blokkoló, például szérum- vagy kazein alapú blokkoló oldat.
4. A szövetmetszetek lemosák a tárgylemezeket az inkubáció során – Ellenőrizze a lemezeket, hogy megbizonyosodjon arról, hogy pozitív töltésűek.
5. A specifikus festés túl sötét – Ellenőrizze a protokollt, hogy megállapítsa, megfelelő antitesttitert alkalmaztak-e a tárgylemezen, valamint az összes reagens megfelelő inkubációs idejét. Ezenkívül győződjön meg

arról, hogy a protokoll elegendő mosási lépést tartalmaz a felesleges reagensek eltávolításához az inkubációs lépések befejezése után.

Referenciák:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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 Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

61/116



TP v3 (12/15/2021) | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Italian

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Destinazione d'uso:

Per *in vitro* Uso diagnostico

4plus Biotinilato Goat Anti-Mouse IgG è destinato all'uso nei protocolli di colorazione immunoistochimica (IHC) manuali o automatizzati utilizzando un metodo di applicazione in due fasi del coniugato streptavidina con perossidasi di rafano (HRP) o fosfatasi alcalina (AP). Questo rilevamento del coniugato streptavidina è progettato per il rilevamento degli anticorpi primari IgG di topo legati agli antigeni bersaglio nei tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE) durante il processo di colorazione IHC. L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione o della sua assenza deve essere integrata da studi morfologici e controlli adeguati e deve essere valutata nel contesto dell'anamnesi clinica del paziente e di altri test diagnostici da un patologo qualificato.

Riepilogo e spiegazione:

IL4plus IgG anti-topo di capra biotinilato è progettato utilizzando un metodo in due fasi per rilevare gli anticorpi primari del topo per formare un complesso anticorpo-enzima. Questo complesso viene quindi visualizzato utilizzando un substrato/cromogeno appropriato. Nel metodo in due fasi l'anticorpo secondario viene biotinilato e viene applicata in sequenza un'ulteriore streptavidina marcata con un enzima. Il metodo in due fasi è progettato per amplificare la rilevazione nei casi di antigeni a bassa espressione. Questo anticorpo biotinilato reagisce con le catene pesanti e leggere delle IgG di topo. Viene adsorbito contro cavalli, bovini e umani. Reagisce con tutte le sottoclassi di IgG di topo e con le IgM di topo. È stato purificato per affinità con una reazione crociata minima con le proteine del siero umano, bovino e equino. Un lungo braccio distanziatore è stato posizionato tra la biotina e l'anticorpo secondario, per aumentare la sensibilità quando accoppiato con coniugati di streptavidina. 4plus Anti-Mouse IgG di capra biotinilato può essere utilizzato con i sistemi di rilevamento della streptavidina perossidasi di rafano o della streptavidina fosfatasi alcalina.

Principio della procedura:

Questo kit di rilevamento di micropolimeri può essere utilizzato nei test immunoistochimici di sezioni di tessuto fissate in formalina e incluse in paraffina. In generale, immunoistochimica (IHC) le tecniche di colorazione consentono la visualizzazione degli antigeni tramite l'applicazione sequenziale di un anticorpo specifico verso l'antigene (anticorpo primario), un anticorpo secondario verso l'anticorpo primario (collegamento opzionale anticorpo/sonda), un complesso enzimatico ed un substrato cromogenico con interposte fasi di lavaggio. L'attivazione enzimatica del cromogeno determina un prodotto di reazione visibile nel sito dell'antigene. Il campione può quindi essere sottoposto a controcolorazione e coperto con vetrino coprigetto. I risultati vengono interpretati utilizzando una luce microscopio e aiuto nella diagnosi differenziale dei processi patofisiologici, che possono o potrebbe non essere associato a un particolare antigene.

Materiali e metodi:

Reagenti forniti:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Ricostituzione, miscelazione, diluizione, titolazione:

I reagenti del kit di rilevamento a base di streptavidina sono ottimizzati e pronti per l'uso con anticorpi Biocare e reagenti ausiliari. Non è richiesta alcuna ricostituzione, miscelazione, diluizione o titolazione.

Applicazioni conosciute:

Immunoistochimica (tessuti inclusi in paraffina fissati in formalina)

Reattività della specie:

Catene pesanti e leggere di IgG murine

Fornito come:

Soluzione salina tamponata, pH 7,2-7,4, contenente un trasportatore proteico e meno dello 0,01% di ProClin 300 e/o meno dello 0,5% di ProClin 950 come conservante. Consultare la scheda di sicurezza per ulteriori dettagli.

Materiali e reagenti necessari ma non forniti:

Vetrini per microscopio, caricati positivamente

Controlli tissutali positivi e negativi

Desert Chamber* o simile Forno di essiccazione (opzionale)

Xilene o sostituto dello xilene

Etanolo o alcool reagente

Camera di disoccupamento* o pentola a pressione simile (opzionale)

Acqua deionizzata o distillata

Tampone di lavaggio*

Reagenti di pretrattamento* (opzionale)

Digestione enzimatica* (opzionale)

Blocco della perossidasi*

Blocco proteico* (opzionale)

Kit per il blocco dell'avidina-biotina

Anticorpo primario*

Etichetta della streptavidina*

Reagenti di controllo negativo*

Cromogeni*

Ematossilina* (colorazione di contrasto)

Reagente azzurrante*

Mezzo di montaggio*

Vetro di copertura

Microscopio ottico (ingrandimento 40-400X)

* Prodotti medici Biocare: fare riferimento al sito Web Biocare Medical all'indirizzo <http://biocare.net> per informazioni relative ai numeri di catalogo e agli ordini. Alcuni reagenti sopra elencati si basano sull'applicazione specifica e sul sistema di rilevamento utilizzato.

Conservazione e stabilità:

Conservare a una temperatura compresa tra 2°C e 8°C. Il prodotto è stabile fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del flacone se conservato in queste condizioni. Non utilizzare dopo la data di scadenza. È necessario verificare la conservazione in condizioni diverse da quelle specificate. I reagenti del kit sono pronti per l'uso e non devono essere diluiti. La stabilità del reagente diluito dall'utente non è stata stabilita da Biocare.

I controlli positivi e negativi devono essere analizzati contemporaneamente con tutti i campioni dei pazienti. Se si osserva una colorazione inaspettata che non può essere spiegata da variazioni nelle procedure di laboratorio e si sospetta un problema con l'anticorpo, contattare il supporto tecnico di Biocare al numero 1-800-542-2002 o tramite le informazioni del supporto tecnico fornite su biocare.net.

Preparazione del campione:

I tessuti fissati in formalina sono adatti per l'uso prima dell'inclusione in paraffina. I tessuti ossei devono essere decalcificati prima della lavorazione

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

62/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Italian

BIOCARE
MEDICAL

dei tessuti per facilitare il taglio dei tessuti e prevenire danni alle lame del microtomo.^{1,2}

I tessuti adeguatamente fissati e incorporati che esprimono il target antigenico specificato devono essere conservati in un luogo fresco. Il Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) del 1988 richiede in 42 CFR§493.1259(b) che "Il laboratorio deve conservare i vetrini colorati per almeno dieci anni dalla data di esame e conservare i blocchi campione per almeno due anni dalla data dell'esame."³

Trattamento dei tessuti prima della colorazione:

Eseguire il recupero degli epitopi indotti dal calore (HIER) secondo il protocollo consigliato di seguito. È stato dimostrato che l'uso di routine di HIER prima dell'IHC riduce al minimo l'incoerenza e standardizza la colorazione.^{4,5}

Avvertenze e precauzioni:

1. I reagenti del kit contengono meno di <0,05% di ProClin 300 e/o meno di 1% di 950> Indossare guanti e indumenti protettivi e adottare precauzioni ragionevoli durante la manipolazione poiché ProClin è classificato come irritante e può causare sensibilizzazione da contatto con la pelle. Evitare il contatto con occhi, pelle e mucose.
2. Maneggiare i materiali di origine umana o animale come potenzialmente a rischio biologico e smaltrirli con le dovute precauzioni. In caso di esposizione seguire le direttive sanitarie delle autorità competenti ove utilizzato.^{6,7}
3. I campioni, prima e dopo la fissazione, e tutti i materiali ad essi esposti devono essere maneggiati come se fossero in grado di trasmettere infezioni e smaltiti con le dovute precauzioni. Non pipettare mai i reagenti con la bocca ed evitare il contatto con la pelle e le mucose con reagenti e campioni. Se i reagenti o i campioni entrano in contatto con aree sensibili, lavare con abbondante acqua.⁸
4. La contaminazione microbica dei reagenti può provocare un aumento della colorazione aspecifica.
5. Tempi o temperature di incubazione diversi da quelli specificati potrebbero dare risultati errati. L'utente deve convalidare qualsiasi modifica di questo tipo.
6. Non utilizzare il reagente dopo la data di scadenza stampata sulla fiala.
7. I reagenti del kit di rilevamento dei micropolimeri sono ottimizzati e pronti per l'uso con anticorpi Biocare e reagenti ausiliari. Fare riferimento alle istruzioni per l'uso dell'anticorpo primario e degli altri reagenti ausiliari per i protocolli e le condizioni d'uso consigliati.
8. Seguire i requisiti delle autorità locali e/o statali per il metodo di smaltimento.
9. La SDS è disponibile su richiesta e si trova all'indirizzo <http://biocare.net>.
10. Segnalare eventuali incidenti gravi relativi a questo dispositivo contattando il rappresentante Biocare locale e l'autorità competente dello Stato membro o del paese in cui si trova l'utente.

Istruzioni per l'uso:

I reagenti del kit di rilevamento dei micropolimeri sono ottimizzati e pronti per l'uso con anticorpi Biocare e reagenti ausiliari. Fare riferimento alle istruzioni per l'uso dell'anticorpo primario e degli altri reagenti ausiliari per i protocolli e le condizioni d'uso consigliati. I tempi e le temperature di incubazione varieranno a seconda dello specifico protocollo anticorpale seguito.

Quando si utilizza uno strumento di colorazione automatizzato, consultare il manuale dell'operatore dello strumento specifico e le istruzioni per l'uso per i parametri operativi.

Passaggi procedurali generali per l'esecuzione dell'IHC:

1. Deparaffinazione: deparaffinare i vetrini in Slide Brite o xilene. Idratate i vetrini in una serie di alcoli graduati in acqua.
2. Blocco del perossido: bloccare per 5 minuti con Peroxidized 1.
3. Soluzione/protocollo di pretrattamento: fare riferimento alla rispettiva scheda tecnica dell'anticorpo primario per la soluzione di pretrattamento e il protocollo consigliati.
4. Blocco Avidin: incubare per 10-20 minuti a temperatura ambiente con Avidin di Biocare.
5. Blocco di biotina: incubare per 10-20 minuti a temperatura ambiente con biotina di Biocare.
6. Blocco proteico (opzionale): incubare per 10-15 minuti a temperatura ambiente (RT) con Background Sniper.
7. Anticorpo primario: fare riferimento alla scheda tecnica del rispettivo anticorpo primario per il tempo di incubazione.
8. Collegamento: incubare per 10 minuti a temperatura ambiente con 4plus Biotinilato Link.
9. Etichetta: incubare per 10-20 minuti a temperatura ambiente con 4plus Streptavidin HRP o Streptavidin AP Label.
10. Cromogeno: incubare per 10-20 minuti a temperatura ambiente con DAB di Biocare o incubare per 5-7 minuti a temperatura ambiente con Warp Red.
11. Controcolorazione: controcolorazione con ematossilina. Sciacquare con acqua deionizzata. Applicare la soluzione azzurrante di Tacha per 1 minuto. Sciacquare con acqua deionizzata.

Note Tecniche:

1. Utilizzare TBS per le fasi di lavaggio.

Controllo di qualità:

Fare riferimento agli standard di qualità CLSI per la progettazione e l'implementazione dei test immunoistochimici; Linea guida approvata - Seconda edizione (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁹

Controllo positivo del tessuto:

I materiali di controllo positivo esterno devono essere campioni freschi fissati, processati e incorporati il prima possibile allo stesso modo dei campioni dei pazienti. I controlli positivi dei tessuti sono indicativi di tessuti preparati correttamente e di tecniche di colorazione adeguate. In ogni ciclo di colorazione deve essere incluso un controllo positivo del tessuto esterno per ciascuna serie di condizioni di test.

I tessuti utilizzati per i materiali di controllo positivo esterno devono essere selezionati da campioni di pazienti con bassi livelli ben caratterizzati dell'attività target positiva che dà una colorazione positiva debole. Il basso livello di positività per i controlli positivi esterni è progettato in modo da garantire il rilevamento di sottili cambiamenti nella sensibilità dell'anticorpo primario dovuti a instabilità o problemi con la metodologia IHC. I vetrini di controllo dei tessuti disponibili in commercio o i campioni trattati in modo diverso dai campioni dei pazienti convalidano solo le prestazioni del reagente e non verificano la preparazione dei tessuti.

I controlli tissutali positivi noti devono essere utilizzati solo per monitorare la corretta prestazione dei tessuti trattati e dei reagenti del test, piuttosto che come ausilio nella formulazione di una diagnosi specifica dei campioni dei pazienti. Se i controlli positivi del tessuto non mostrano una colorazione positiva, i risultati con i campioni di test devono essere considerati non validi.

Controllo tissutale negativo:

Utilizzare un controllo tissutale negativo fissato, processato e incorporato in modo identico ai campioni del paziente con ogni ciclo di colorazione per verificare la specificità dell'anticorpo primario IHC per dimostrazione dell'antigene bersaglio e fornire un'indicazione della specifica colorazione di fondo (colorazione falsa positiva). Inoltre, la varietà di diversi tipi di cellule presenti nella maggior parte delle sezioni di tessuto può farlo essere utilizzati

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Italian

BIOCARE
MEDICAL

dal laboratorista come siti di controllo negativo interno per verificare le prestazioni dell'IHC specifiche. I tipi e le fonti dei campioni che possono essere utilizzati per il tessuto negativo i controlli sono elencati nella sezione Caratteristiche prestazionali.

Se si verifica una colorazione specifica (colorazione falsa positiva) nel controllo negativo del tessuto, i risultati con i campioni dei pazienti devono essere considerati non validi.

Controllo del reagente negativo non specifico:

Utilizzare un controllo reagente negativo non specifico al posto dell'anticorpo primario con una sezione di ciascun campione del paziente per valutare la colorazione non specifica e consentire una migliore interpretazione della colorazione specifica nel sito dell'antigene. Idealemente, un controllo reagente negativo contiene un anticorpo prodotto e preparato (ovvero diluito alla stessa concentrazione utilizzando lo stesso diluente) per l'uso nello stesso modo dell'anticorpo primario ma non mostra alcuna reattività specifica con i tessuti umani nella stessa matrice/soluzione dell'anticorpo Biocare . Il diluente da solo può essere utilizzato come alternativa meno desiderabile ai controlli dei reagenti negativi precedentemente descritti. Il periodo di incubazione del controllo del reagente negativo deve corrispondere a quello dell'anticorpo primario.

Quando si utilizzano pannelli di diversi anticorpi su sezioni seriali, le aree a colorazione negativa di un vetrino possono fungere da controllo di fondo di legame negativo/non specifico per altri anticorpi. Per differenziare l'attività enzimatica endogena o il legame non specifico degli enzimi dall'immunoreattività specifica, ulteriori tessuti dei pazienti possono essere colorati esclusivamente rispettivamente con substrato-cromogeno o complessi enzimatici (PAP, avidina-biotina, streptavidina) e substrato-cromogeno.

Verifica del test:

Prima dell'uso iniziale di un anticorpo o di un sistema di colorazione in una procedura diagnostica, l'utente deve verificare la specificità dell'anticorpo testandolo su una serie di tessuti interni con caratteristiche di prestazione immunoistochimica note che rappresentano tessuti positivi e negativi noti. Fare riferimento alle procedure di controllo qualità precedentemente delineate in questa sezione del foglietto illustrativo e alle raccomandazioni sul controllo qualità del Programma di Certificazione CAP¹⁰ per immunoistochimica e/o la linea guida NCCLS IHC¹¹. Queste procedure di controllo qualità devono essere ripetute per ogni nuovo lotto di anticorpi o ogni volta che si verifica una modifica nei parametri del test. I tessuti elencati nella sezione Caratteristiche prestazionali sono idonei per la verifica del test.

Risoluzione dei problemi:

Seguire le raccomandazioni del protocollo specifico per l'anticorpo secondo la scheda tecnica fornita. Se si verificano risultati atipici, contattare il supporto tecnico di Biocare al numero 1-800-542-2002.

Interpretazione della colorazione:

L'IgG anti-topo di capra biotinilato 4plus produce una reazione di colore marrone (HRP) o rosso (AP) nei siti antigenici localizzati dall'anticorpo primario. Prima dell'interpretazione dei risultati dei pazienti, la colorazione dei controlli deve essere valutata da un patologo qualificato. I controlli negativi vengono valutati e confrontati con i vetrini colorati per garantire che qualsiasi colorazione osservata non sia il risultato di interazioni non specifiche.

Controllo positivo del tessuto:

Il controllo positivo del tessuto colorato con l'anticorpo indicato deve essere esaminato innanzitutto per accertarsi che tutti i reagenti funzionino correttamente. La colorazione appropriata delle cellule bersaglio (come indicato sopra) è indicativa di reattività positiva. Se i controlli positivi del

tessuto non mostrano una colorazione positiva, qualsiasi risultato con i campioni di test deve essere considerato non valido.

Il colore del prodotto di reazione può variare a seconda dei cromogeni del substrato utilizzati. Fare riferimento ai foglietti illustrativi del substrato per le reazioni cromatiche previste. Inoltre, la metacromasia può essere osservata in variazioni del metodo di colorazione.¹²

Quando si utilizza una colorazione di contrasto, a seconda della durata di incubazione e della potenza della colorazione di contrasto utilizzata, la colorazione di contrasto risulterà in una colorazione dei nuclei cellulari. Una controcolorazione eccessiva o incompleta può compromettere la corretta interpretazione dei risultati. Fare riferimento ai protocolli per la colorazione di contrasto consigliata.

Controllo tissutale negativo:

Il controllo tissutale negativo deve essere esaminato dopo il controllo tissutale positivo per verificare la specificità della marcatura dell'antigene bersaglio da parte dell'anticorpo primario. L'assenza di colorazione specifica nel controllo negativo del tessuto conferma l'assenza di reattività crociata dell'anticorpo verso cellule/componenti cellulari. Se si verifica una colorazione specifica (colorazione falsa positiva) nel controllo negativo del tessuto esterno, i risultati con il campione del paziente devono essere considerati non validi.

La colorazione aspecifica, se presente, ha solitamente un aspetto diffuso. Colorazioni sporadiche del tessuto connettivo possono essere osservate anche in sezioni di tessuti fissati eccessivamente in formalina. Utilizzare cellule intatte per l'interpretazione dei risultati della colorazione. Le cellule necrotiche o degenerate spesso si colorano in modo aspecifico.

Tessuto del paziente:

Esaminare i campioni dei pazienti colorati con l'anticorpo indicato scorso. L'intensità della colorazione positiva deve essere valutata nel contesto di qualsiasi colorazione di fondo non specifica del controllo del reagente negativo. Come con qualsiasi test immunoistochimico, un risultato negativo significa che l'antigene non è stato rilevato e non che l'antigene era assente nelle cellule/tessuti analizzati. Se necessario, utilizzare un pannello di anticorpi per identificare le reazioni false negative.

Fare riferimento a Riepilogo e spiegazione, limitazioni e caratteristiche prestazionali per informazioni specifiche sull'immunoreattività dell'anticorpo indicata.

Limitazioni:

Limitazioni generali:

1. Per *in vitro* uso diagnostico (IVD).
2. Questo prodotto è solo per uso professionale: l'immunoistochimica è un processo diagnostico in più fasi che consiste in una formazione specializzata nella selezione dei reagenti appropriati; selezione, fissazione ed elaborazione dei tessuti; preparazione del vetrino IHC; e interpretazione dei risultati della colorazione.
3. Da utilizzare solo su prescrizione medica. (Solo Rx)
4. La colorazione dei tessuti dipende dalla manipolazione e dalla lavorazione del tessuto prima della colorazione. Fissazione, congelamento, scongelamento, lavaggio, asciugatura, riscaldamento, sezionamento o contaminazione impropri con altri tessuti o fluidi possono produrre artefatti, intrappolamento di anticorpi o risultati falsi negativi. Risultati incoerenti possono essere dovuti a variazioni nei metodi di fissazione e inclusione o a irregolarità intrinseche all'interno del tessuto.¹³
5. Una controcolorazione eccessiva o incompleta può compromettere la corretta interpretazione dei risultati.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Italian

BIOCARE
MEDICAL

6. L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione positiva o negativa deve essere valutata nel contesto della presentazione clinica, della morfologia e di altri criteri istopatologici. L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione positiva o negativa deve essere integrata da studi morfologici utilizzando adeguati controlli interni ed esterni positivi e negativi, nonché altri test diagnostici. È responsabilità di un patologo qualificato che abbia familiarità con l'uso corretto degli anticorpi, dei reagenti e dei metodi IHC interpretare tutti i passaggi utilizzati per preparare e interpretare la preparazione IHC finale.
7. I protocolli ottimali per un'applicazione specifica possono variare. Questi includono, ma non sono limitati a, fissazione, metodo di recupero del calore, tempi di incubazione, diluizione degli anticorpi, spessore della sezione di tessuto e kit di rilevamento utilizzato. Fare riferimento alle istruzioni per l'uso dell'anticorpo primario e degli altri reagenti ausiliari per i protocolli e le condizioni d'uso consigliati. Le raccomandazioni e i protocolli della scheda tecnica si basano sull'uso esclusivo di prodotti Biocare. In definitiva, è responsabilità del ricercatore determinare le condizioni ottimali.
8. Questo prodotto non è destinato all'uso nella citometria a flusso. Le caratteristiche prestazionali non sono state determinate per la citometria a flusso.
9. I tessuti di persone infette dal virus dell'epatite B e contenenti l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) possono presentare una colorazione aspecifica con la perossidasi di rafano.¹⁴
10. I reagenti possono manifestare reazioni inaspettate in tessuti precedentemente non testati. La possibilità di reazioni inaspettate anche nei gruppi di tessuti testati non può essere completamente eliminata a causa della variabilità biologica dell'espressione dell'antigene nelle neoplasie o in altri tessuti patologici.¹⁵ Contattare il supporto tecnico di Biocare al numero 1-800-542-2002 o tramite le informazioni di supporto tecnico fornite su biocare.net, con reazioni impreviste documentate.
11. I sieri normali/non immuni provenienti dalla stessa fonte animale degli antisieri secondari utilizzati nelle fasi di blocco possono causare risultati falsi negativi o falsi positivi a causa di autoanticorpi o anticorpi naturali.
12. Si possono osservare risultati falsi positivi a causa del legame non immunologico delle proteine o dei prodotti della reazione del substrato. Possono anche essere causati dall'attività della pseudo perossidasi (eritrociti), dall'attività della perossidasi endogena (citocromo C) o dalla biotina endogena (ad esempio fegato, mammella, cervello, rene) a seconda del tipo di immunocolorazione utilizzata.¹³
13. Un risultato negativo significa che l'antigene non è stato rilevato, non che l'antigene era assente nelle cellule o nei tessuti esaminati.

Limitazioni specifiche del prodotto:

Nessuna limitazione aggiuntiva specifica del prodotto.

Caratteristiche di performance:

La colorazione è stata eseguita utilizzando i protocolli forniti nelle istruzioni per l'uso specifiche dell'anticorpo o come specificato. La sensibilità e la specificità della colorazione sono state valutate su una gamma di tipi di tessuto normale e neoplastico valutati durante lo sviluppo di anticorpi primari.

Riproducibilità:

La riproducibilità dei sistemi di rilevamento e dei reagenti del sistema Biocare viene verificata attraverso una misurazione di precisione intermedia in cui vari lotti di reagenti sono stati testati per un lungo periodo di tempo utilizzando vari operatori, analisti, lotti di reagenti, campioni di tessuto e apparecchiature. La colorazione ottenuta per ciascun reagente di rilevamento valutato era coerente ed eseguita come previsto.

Risoluzione dei problemi:

1. Nessuna colorazione dei vetrini – Verificare che siano stati utilizzati tessuto di controllo positivo, anticorpi e prodotti di rilevamento adeguati. Verificare la rimozione o il pretrattamento della cera incompleto o improprio.
2. Colorazione debole di tutti i vetrini – Controllare per determinare se sono stati utilizzati tessuti di controllo positivo, anticorpi e prodotti di rilevamento adeguati.
3. Sfondo eccessivo di tutti i vetrini – Potrebbero essere presenti livelli elevati di biotina endogena (se si utilizzano prodotti di rilevamento a base di biotina), attività endogena dell'HRP che converte il cromogeno nel prodotto finale colorato (utilizzare il blocco della perossidasi) o un eccesso di interazione proteica non specifica (utilizzare una proteina blocco, come una soluzione bloccante a base di siero o caseina).
4. Le sezioni di tessuto vengono rimosse dai vetrini durante l'incubazione – Controllare i vetrini per assicurarsi che siano caricati positivamente.
5. Colorazione specifica troppo scura – Controllare il protocollo per determinare se al vetrino è stato applicato il titolo anticorpale corretto, nonché i tempi di incubazione corretti per tutti i reagenti. Inoltre, assicurarsi che il protocollo contenga fasi di lavaggio sufficienti per rimuovere i reagenti in eccesso una volta completate le fasi di incubazione.

Riferimenti:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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 Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfant EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Korean

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

사용 목적:

을 위한 시험관 내에서 진단용

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG 는 양고추냉이 과산화효소(HRP) 또는 알칼리성 인산분해효소(AP) 스트렙타비딘-결합 2 단계 적용 방법을 사용하는 수동 또는 자동 면역조직화학(IHC) 염색 프로토콜에 사용하도록 고안되었습니다. 이 스트렙타비딘-접합체 검출은 IHC 염색 과정 동안 포르말린 고정 파라핀 포매(FFPE) 조직에서 표적 항원에 결합된 마우스 IgG 1 차 항체를 검출하기 위해 설계되었습니다. 염색 또는 염색 부재에 대한 임상적 해석은 형태학적 연구와 적절한 대조를 통해 보완되어야 하며 자격을 갖춘 병리학자가 환자의 임상 병력 및 기타 진단 테스트의 맥락에서 평가해야 합니다.

요약 및 설명:

그만큼 4plus 비오티닐화 염소 항-마우스 IgG 항체-효소 복합체를 형성하기 위해 마우스 1 차 항체를 검출하는 2 단계 방법을 사용하여 설계되었습니다. 그런 다음 이 복합체는 적절한 기질/발색체를 사용하여 시각화됩니다. 2 단계 방법에서는 2 차 항체가 비오티닐화되고, 추가적인 효소 표지된 스트렙타비딘이 순차적으로 적용됩니다. 2 단계 방법은 낮은 발현 항원의 경우 검출을 증폭하도록 설계되었습니다.
이 비오틴화된 항체는 마우스 IgG 의 중쇄 및 경쇄와 반응합니다. 말, 소, 사람에 흡착됩니다. 이는 모든 마우스 IgG 하위 클래스 및 마우스 IgM 과 반응합니다. 인간, 소, 말 혈청 단백질에 대한 교차 반응을 최소화하면서 친화성 정제되었습니다. 긴 스페이서 암(spacer arm)이 비오틴과 2 차 항체 사이에 위치하여 스트렙타비딘 접합체와 결합할 때 감도를 높입니다. 4plus 비오티닐화 염소 항-마우스 IgG 는 스트렙타비딘 양 고추냉이 퍼옥시다제 또는 스트렙타비딘 알칼리성 포스파타제 검출 시스템과 함께 사용할 수 있습니다.

절차 원칙:

이 마이크로폴리머 검출 키트는 포르말린 고정, 파라핀 포매 조직 절편의 면역조직화학 검사에 사용될 수 있습니다. 일반적으로 면역조직화학(IHC) 염색 기술을 사용하면 순차적인 적용을 통해 항원을 시각화할 수 있습니다. 항원에 대한 특정 항체(1 차 항체), 1 차 항체에 대한 2 차 항체(선택적 링크 항체/프로브), 효소 복합체 및 중간 세척 단계가 있는 발색 기질. 발색체의 효소적 활성화로 인해 항원 부위에서 눈에 보이는 반응 생성물이 생성됩니다. 그런 다음 표본을 대비염색하고 커버슬립할 수 있습니다. 결과는 빛을 사용하여 해석됩니다. 현미경을 사용하여 병리생리학적 과정을 감별 진단하는 데 도움을 줄 수 있습니다. 특정 항원과 연관되지 않을 수도 있습니다.

재료 및 방법:

제공되는 시약:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

재구성, 혼합, 희석, 적정:

스트렙타비딘 기반 검출 키트 시약은 최적화되었으며 Biocare 항체 및 보조 시약과 함께 사용할 수 있습니다. 재구성, 혼합, 희석 또는 적정이 필요하지 않습니다.

알려진 응용 프로그램:

면역조직화학(포르말린 고정 파라핀 포매 조직)

종 반응성:

마우스 IgG 중쇄 및 경쇄

다음과 같이 제공됩니다:

완충 식염수 용액(pH 7.2-7.4), 단백질 운반체를 함유하고 방부제로서 0.01% 미만의 ProClin 300 및/또는 0.5% 미만의 ProClin 950. 자세한 내용은 안전 보건 자료를 참조하십시오.

필요하지만 제공되지 않는 재료 및 시약:

현미경 슬라이드, 양전하

양성 및 음성 조직 대조군

Desert Chamber* 또는 이와 유사한 건조 오븐(옵션)

자일렌 또는 자일렌 대체물

에탄올 또는 시약 알코올

디클로킹 챔버* 또는 이와 유사한 압력솥(선택 사항)

탈이온수 또는 증류수

세척 버퍼*

전처리 시약*(선택 사항)

효소 소화*(선택 사항)

퍼옥시다제 블록*

단백질 블록*(선택 사항)

아비딘-비오틴 차단 키트

1 차 항체*

스트렙타비딘 라벨*

음성 대조 시약*

발색체*

헤마톡실린*(대조염색)

블루잉 시약*

장착 매체*

커버글래스

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Korean

BIOCARE
MEDICAL

광학현미경(40-400X 배율)

* Biocare Medical 제품: 카탈로그 번호 및 주문에 관한 정보는 <http://biocare.net>에 있는 Biocare Medical 웹사이트를 참조하십시오. 위에 나열된 특정 시약은 사용되는 특정 응용 프로그램 및 감지 시스템을 기반으로 합니다.

보관 및 안정성:

2°C~8°C에서 보관하세요. 제품은 이러한 조건에서 보관할 때 바이알 라벨에 인쇄된 유효 기간까지 안정적입니다. 유효기간 이후에는 사용하지 마세요. 지정된 조건 이외의 조건에서의 보관을 확인해야 합니다. 키트 시약은 바로 사용할 수 있으며 희석해서는 안 됩니다. 사용자 희석 시약의 안정성은 Biocare에 의해 확립되지 않았습니다.

모든 환자 검체에 대해 양성 및 음성 대조를 동시에 실행해야 합니다. 실험실 절차의 변화로 설명할 수 없는 예상치 못한 염색이 관찰되고 항체 문제가 의심되는 경우 1-800-542-2002로 전화하거나 biocare.net에서 제공하는 기술 지원 정보를 통해 Biocare 기술 지원에 문의하십시오.

표본 준비:

포르말린으로 고정된 조직은 파라핀 포매 전에 사용하기에 적합합니다. 골조직은 조직 절단을 용이하게 하고 마이크로톱 블레이드의 손상을 방지하기 위해 조직 처리 전에 석회질을 제거해야 합니다.^{1,2}

특정 항원 표적을 발현하는 적절하게 고정되고 매립된 조직은 서늘한 곳에 보관해야 합니다. 1988년 임상검사실 개선법(CLIA)에서는 42 CFR을 요구합니다. §493.1259(b) "실험실은 염색된 슬라이드를 날짜로부터 최소 10년 동안 보관해야 합니다. 검사를 실시하고 검사일로부터 최소 2년 동안 표본 블록을 보관해야 합니다."³

염색 전 조직 처리:

아래 권장 프로토콜에 따라 열 유도 항원결정부 검색(HIER)을 수행하십시오. IHC 이전에 HIER을 일상적으로 사용하면 불일치를 최소화하고 염색을 표준화하는 것으로 나타났습니다.^{4,5}

경고 및 주의사항:

1. 키트 시약에는 <0.05% 미만의 ProClin 300 및/또는 1% 950 미만>이 포함되어 있습니다. ProClin은 자극제로 분류되어 피부 접촉 감작을 일으킬 수 있으므로 장갑과 보호복을 착용하고 취급 시 합리적인 예방 조치를 취하십시오. 눈, 피부, 점막과의 접촉을 피하십시오.^{6,7}
2. 잠재적으로 생물학적 위험이 있는 인간 또는 동물 유래 물질을 취급하고 적절한 예방조치를 통해 이러한 물질을 폐기하십시오. 노출된 경우 해당 기관의 보건 지침을 따르십시오.^{6,7}
3. 고정 전후의 검체와 이에 노출된 모든 물질은 감염을 전파할 수 있는 것처럼 취급하고 적절한 예방 조치에 따라 폐기해야 합니다. 시약을 입으로

피펫팅하지 말고 시약 및 검체가 피부와 점막에 닿지 않도록 하십시오. 시약이나 검체가 민감한 부위에 닿은 경우 다량의 물로 씻어내십시오.⁸

4. 시약의 미생물 오염으로 인해 비특이적 염색이 증가할 수 있습니다.
5. 지정된 것 이외의 배양 시간이나 온도는 잘못된 결과를 초래할 수 있습니다. 사용자는 그러한 변경 사항을 확인해야 합니다.
6. 바이알에 표기된 사용기한이 지난 시약은 사용하지 마십시오.
7. 마이크로폴리머 검출 키트 시약은 최적화되었으며 Biocare 항체 및 보조 시약과 함께 사용할 수 있습니다. 권장 프로토콜 및 사용 조건은 1차 항체 및 기타 보조 시약 사용 지침을 참조하세요.
8. 폐기 방법은 지역 및/또는 주 당국의 요구 사항을 따르십시오.
9. SDS는 요청 시 제공되며 위치는 다음과 같습니다. <http://biocare.net>.
10. 현지 Biocare 담당자 및 사용자가 위치한 회원국 또는 국가의 해당 관할 당국에 연락하여 이 장치와 관련된 심각한 사고를 보고하십시오.

사용 지침:

마이크로폴리머 검출 키트 시약은 최적화되었으며 Biocare 항체 및 보조 시약과 함께 사용할 수 있습니다. 권장 프로토콜 및 사용 조건은 1차 항체 및 기타 보조 시약 사용 지침을 참조하세요. 배양 시간과 온도는 따르는 특정 항체 프로토콜에 따라 달라집니다.

자동 염색 기기를 사용하는 경우 특정 기기 사용자 매뉴얼과 작동 매개변수 사용 지침을 참조하세요.

IHC 수행을 위한 일반적인 절차 단계:

1. 탈파라핀화: Slide Brite 또는 자일렌에서 슬라이드를 탈파라핀화합니다. 일련의 등급 알코올에서 수화물이 물로 미끄러집니다.
2. 과산화물 블록: Peroxidized 1로 5분간 블록합니다.
3. 전처리 용액/프로토콜: 권장되는 전처리 용액 및 프로토콜은 해당 1차 항체 데이터 시트를 참조하십시오.
4. Avidin 블록: Biocare의 Avidin과 함께 실온에서 10-20분 동안 배양합니다.
5. 비오틴 블록: Biocare의 비오틴과 함께 RT에서 10-20분 동안 배양합니다.
7. 단백질 차단(선택 사항): Background Sniper를 사용하여 실온(RT)에서 10~15분 동안 배양합니다.
8. 1차 항체: 배양 시간은 해당 1차 항체 데이터 시트를 참조하십시오.
9. 링크: 4plus Biotinylated Link를 사용하여 실온에서 10분 동안 배양합니다.
10. 라벨: 4plus Streptavidin HRP 또는 Streptavidin AP 라벨을 사용하여 실온에서 10-20분 동안 배양합니다.
11. 발색체: Biocare의 DAB를 사용하여 실온에서 10-20분 동안 배양하거나 Warp Red를 사용하여 실온에서 5-7분 동안 배양합니다.
12. 대조 염색: 헤마톡실린을 이용한 대조 염색. 탈이온수로 헹굽니다. 타차 블루링 솔루션을 1분간 도포합니다. 탈이온수로 헹굽니다.

기술 노트:

1. 세척 단계에는 TBS를 사용합니다.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Korean

BIOCARE
MEDICAL

품질 관리:

면역조직화학 분석의 설계 및 구현에 대한 CLSI 품질 표준을 참조하십시오.
승인된 지침-제 2판(I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA(www.clsi.org), 2011년.

양성 조직 대조:

외부 양성 대조 물질은 환자 검체와 동일한 방식으로 가능한 한 빨리 고정, 처리 및 삽입된 새로운 검체여야 합니다. 양성 조직 대조군은 올바르게 준비된 조직과 적절한 염색 기술을 나타냅니다. 각 염색 실행에는 각 테스트 조건 세트에 대한 하나의 양성 외부 조직 대조가 포함되어야 합니다.

외부 양성 대조 물질로 사용되는 조직은 약한 양성 염색을 제공하는 낮은 수준의 양성 표적 활성이 잘 특성화되어 있는 환자 검체에서 선택해야 합니다. 외부 양성 대조군에 대한 낮은 양성 수준은 IHC 방법론의 불안정성 또는 문제로 인한 1 차 항체 민감도의 미묘한 변화를 감지할 수 있도록 설계되었습니다. 시중에서 판매되는 조직 대조 슬라이드 또는 환자 샘플과 다르게 처리된 표본은 시약 성능만 검증하고 조직 준비는 검증하지 않습니다.

알려진 양성 조직 대조군은 환자 샘플의 특정 진단을 공식화하는 데 도움이 되기보다는 처리된 조직 및 테스트 시약의 올바른 성능을 모니터링하는데에만 활용되어야 합니다. 양성 조직 대조군이 양성 염색을 나타내지 못하는 경우, 테스트 검체의 결과는 유효하지 않은 것으로 간주되어야 합니다.

음성 조직 제어:

각 염색 실행 시 환자 샘플과 동일한 방식으로 고정, 처리 및 내장된 음성 조직 대조를 사용하여 IHC 1 차 항체의 특이성을 확인합니다. 표적 항원을 입증하고 특정 배경 염색의 지표를 제공합니다. (거짓 양성 염색). 또한 대부분의 조직 절편에 존재하는 다양한 세포 유형이 IHC의 성능을 확인하기 위해 실험실 직원이 내부 음성 대조 사이트로 사용할 수 있습니다. 명세서. 음성조직에 사용될 수 있는 검체의 종류와 출처 컨트롤은 성능 특성 섹션에 나열되어 있습니다.

음성 조직 대조에서 특정 염색(위양성 염색)이 발생하는 경우, 환자 검체의 결과는 유효하지 않은 것으로 간주되어야 합니다.

비특이적 음성 시약 대조:

비특이적 염색 및

항원 부위의 특정 염색을 더 잘 해석할 수 있습니다. 이상적으로 음성 시약 대조군에는 1 차 항체와 동일한 방식으로 사용하기 위해 생산 및 제조된 항체(즉, 동일한 희석제를 사용하여 동일한 농도로 희석)가 포함되어 있지만 Biocare 항체와 동일한 매트릭스/용액에서 인간 조직과 특이적인 반응성을 나타내지 않습니다. . 희석제 단독은 이전에 설명한 음성 시약 대조에 대한 멀 바람직한 대안으로 사용될 수 있습니다. 음성 시약 대조군의 배양 기간은 1 차 항체의 배양 기간과 일치해야 합니다.

여러 항체 패널이 연속 섹션에 사용되는 경우 한 슬라이드의 음성 염색 영역은 다른 항체에 대한 음성/비특이적 결합 배경 제어 역할을 할 수 있습니다.

내인성 효소 활성 또는 효소의 비특이적 결합을 특정 면역반응성과 구별하기 위해 추가 환자 조직을 기질-발색체 또는 효소 복합체(PAP, 아비딘-비오틴, 스트렙타비딘) 및 기질-발색체로만 염색할 수 있습니다.

분석 검증:

진단 절차에서 항체 또는 염색 시스템을 처음 사용하기 전에 사용자는 알려진 양성 및 음성 조직을 대표하는 면역조직화학적 성능 특성이 알려진 일련의 내부 조직에서 항체를 테스트하여 항체의 특이성을 확인해야 합니다. 제품 삽입물의 이 섹션에 이전에 설명된 품질 관리 절차와 CAP 인증 프로그램의 품질 관리 권장 사항을 참조하십시오.¹⁰ 면역조직화학 및/또는 NCCLS IHC 지침¹¹. 이러한 품질 관리 절차는 새로운 항체 로트마다 또는 분석 매개변수에 변경이 있을 때마다 반복되어야 합니다. 성능 특성 섹션에 나열된 조직은 분석 검증에 적합합니다.

문제 해결:

제공된 데이터 시트에 따라 항체 특정 프로토콜 권장 사항을 따르십시오. 비정형 결과가 발생하면 1-800-542-2002 번으로 Biocare 기술 지원부에 문의하십시오.

염색의 해석:

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG 는 1 차 항체에 의해 국한된 항원 부위에서 갈색(HRP) 또는 빨간색(AP) 색상 반응을 생성합니다. 환자 결과를 해석하기 전에 자격을 갖춘 병리학자가 대조군 염색을 평가해야 합니다. 음성 대조군을 평가하고 염색된 슬라이드와 비교하여 관찰된 염색이 비특이적 상호작용의 결과가 아닌지 확인합니다.

양성 조직 대조:

표시된 항체로 염색된 양성 조직 대조군을 먼저 검사하여 모든 시약이 제대로 기능하는지 확인해야 합니다. (위에 표시된 대로) 표적 세포의 적절한 염색은 양성 반응성을 나타냅니다. 양성 조직 대조군이 양성 염색을 나타내지 못하는 경우, 테스트 검체의 모든 결과는 유효하지 않은 것으로 간주되어야 합니다.

반응 생성물의 색상은 사용된 기질 발색체에 따라 달라질 수 있습니다. 예상되는 색상 반응은 인쇄물 패키지 삽입물을 참조하십시오. 또한, 염색 방법에 따라 변색증이 관찰될 수도 있습니다.¹²

대조염색을 사용하는 경우, 배양 기간과 사용된 대조염색의 효능에 따라 대조염색으로 인해 세포핵이 착색됩니다. 과도하거나 불완전한 대조염색은 결과의 올바른 해석을 손상시킬 수 있습니다. 권장되는 대조염색에 대해서는 프로토콜을 참조하십시오.

음성 조직 제어:

양성 조직 대조 후에는 음성 조직 대조를 검사하여 1 차 항체에 의한 표적 항원 표지의 특이성을 확인해야 합니다. 음성 조직 대조군에서 특정 염색이 없다는 것은 세포/세포 구성요소에 대한 항체 교차 반응성이 없음을 확인합니다. 음성 외부 조직 대조에서 특정 염색(위양성 염색)이 발생하는 경우, 환자 검체의 결과는 유효하지 않은 것으로 간주되어야 합니다.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

68/116

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Korean

BIOCARE
M E D I C A L

비특이적 염색이 있는 경우 일반적으로 확산된 모습을 보입니다. 포르말린이 과도하게 고정된 조직의 절편에서도 결합 조직의 산발적인 염색이 관찰될 수도 있습니다. 염색 결과를 해석하려면 손상되지 않은 세포를 사용하십시오. 고사성 또는 퇴행성 세포는 종종 비특이적으로 염색됩니다.

환자 조직:

표시된 형체로 염색된 환자 검체를 검사합니다. 마지막. 양성 염색 강도는 음성 시약 대조의 비특이적 배경 염색 맥락 내에서 평가되어야 합니다. 모든 면역조직화학적 검사와 마찬가지로, 음성 결과는 항원이 검출되지 않았음을 의미하며 분석된 세포/조직에 항원이 없다는 것을 의미하지는 않습니다. 필요한 경우 형체 패널을 사용하여 위음성 반응을 식별합니다.

표시된 형체 면역반응성에 관한 특정 정보는 요약 및 설명, 제한사항 및 성능 특성을 참조하십시오.

제한사항:

일반 제한사항:

- 을 위한 시험관 내에서 진단(IVD) 용도
- 이 제품은 전문가용입니다. 면역조직화학은 적절한 시약 선택에 대한 전문 교육으로 구성된 다단계 진단 과정입니다. 조직 선택, 고정 및 처리; IHC 슬라이드 준비; 염색 결과의 해석.
- 의사의 처방에 의해서만 사용하십시오. (수신 전용)
- 조직 염색은 염색 전 조직의 취급 및 처리에 따라 달라집니다. 부적절한 고정, 냉동, 해동, 세척, 건조, 가열, 절개 또는 다른 조직이나 체액으로의 오염으로 인해 인공물, 형체 트래핑 또는 위음성 결과가 발생할 수 있습니다. 일관되지 않은 결과는 고정 및 삽입 방법의 차이 또는 조직 내의 고유한 불규칙성으로 인해 발생할 수 있습니다.¹³
- 과도하거나 불완전한 대조염색은 결과의 올바른 해석을 손상시킬 수 있습니다.
- 양성 또는 음성 염색에 대한 임상적 해석은 임상적 표현, 형태, 기타 조직병리학적 기준을 고려하여 평가해야 합니다. 양성 또는 음성 염색에 대한 임상적 해석은 적절한 양성 및 음성 내부 및 외부 대조와 기타 진단 테스트를 사용한 형태학적 연구를 통해 보완되어야 합니다. 최종 IHC 준비를 준비하고 해석하는 데 사용되는 모든 단계를 해석하는 것은 IHC 형체, 시약 및 방법의 적절한 사용에 익숙한 자격을 갖춘 병리학자의 책임입니다.
- 특정 애플리케이션에 대한 최적의 프로토콜은 다양할 수 있습니다. 여기에는 고정, 열 회수 방법, 배양 시간, 형체 회석, 조직 단면 두께 및 사용된 검출 키트가 포함되지만 이에 국한되지는 않습니다. 권장 프로토콜 및 사용 조건은 1 차 형체 및 기타 보조 시약 사용 지침을 참조하세요. 데이터 시트 권장 사항 및 프로토콜은 Biocare 제품의 독점적인 사용을 기반으로 합니다. 궁극적으로 최적의 조건을 결정하는 것은 조사자의 책임입니다.
- 이 제품은 유세포 분석에 사용하기 위한 것이 아닙니다. 유세포분석에 대한 성능 특성은 결정되지 않았습니다.

- B형 간염 바이러스에 감염되고 B형 간염 표면 항원(HBsAg)을 함유한 사람의 조직은 양 고추 냉이 퍼옥시다제에 의한 비특이적 염색을 나타낼 수 있습니다.¹⁴
- 시약은 이전에 테스트되지 않은 조직에서 예상치 못한 반응을 나타낼 수 있습니다. 신생물이나 기타 병리학적 조직에서 항원 발현의 생물학적 다양성으로 인해 테스트된 조직 그룹에서도 예상치 못한 반응이 발생할 가능성을 완전히 제거할 수는 없습니다.¹⁵ 예상치 못한 반응이 기록되어 있으면 1-800-542-2002 번으로 전화하거나 biocare.net에서 제공하는 기술 지원 정보를 통해 Biocare 기술 지원부에 문의하십시오.
- 차단 단계에 사용되는 2차 항혈청과 동일한 동물 유래의 정상/비면역 혈청은 자가항체나 천연항체로 인해 위음성 또는 위양성 결과를 초래할 수 있습니다.
- 단백질이나 기질 반응 생성물의 비면역학적 결합으로 인해 위양성 결과가 나타날 수 있습니다. 또한 사용된 면역염색제의 유형에 따라 가성 과산화효소 활성(적혈구), 내인성 과산화효소 활성(시토크롬 C) 또는 내인성 비오틴(예: 간, 유방, 뇌, 신장)으로 인해 발생할 수도 있습니다.¹⁶
- 음성 결과는 항원이 검출되지 않았음을 의미하며, 검사된 세포나 조직에 항원이 없다는 의미는 아닙니다.

제품별 제한 사항:

추가적인 제품별 제한은 없습니다.

성능 특성:

염색은 형체 특이적 사용 지침에 제공된 프로토콜을 사용하거나 지정된 대로 수행되었습니다. 염색의 민감도와 특이성은 1 차 형체 개발 중에 평가된 다양한 정상 및 신생물 조직 유형에 걸쳐 평가되었습니다.

재현성:

바이오케어의 검출 시스템과 시스템 시약의 재현성은 다양한 작업자, 분석기, 시약 로트, 조직 샘플 및 장비를 사용하여 다양한 시약 로트를 장기간에 걸쳐 테스트하는 중간 정밀도 측정을 통해 검증됩니다. 평가된 각 검출 시약에 대해 얻은 염색은 일관되었으며 예상대로 수행되었습니다.

문제 해결:

- 슬라이드에 염색이 되지 않음 - 적절한 양성 대조 조직, 형체 및 검출 제품이 사용되었는지 확인하십시오. 불완전하거나 부적절한 액스 제거 또는 전처리를 확인하십시오.
- 모든 슬라이드의 약한 염색 - 적절한 양성 대조 조직, 형체 및 검출 제품이 사용되었는지 확인하십시오.
- 모든 슬라이드의 과도한 배경 - 높은 수준의 내인성 비오틴(비오틴 기반 검출 제품을 사용하는 경우), 발색체를 유색 최종 생성물로 전환하는 내인성 HRP 활성(과산화효소 블록 사용) 또는 과도한 비특이적 단백질

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Korean

BIOCARE
MEDICAL

상호작용(단백질 사용)이 있을 수 있습니다. 혈청 또는 카제인 기반 차단 용액과 같은 차단).

4. 배양 중에 조직 섹션이 슬라이드를 씻어냅니다. 슬라이드가 양전하를 띠고 있는지 확인하십시오.
5. 특정 염색이 너무 어두움 – 프로토콜을 확인하여 적절한 황체 역가가 슬라이드에 적용되었는지 확인하고 모든 시약에 대한 적절한 배양 시간을 확인하십시오. 또한 프로토콜에 인큐베이션 단계가 완료된 후 과잉 시약을 제거하기에 충분한 세척 단계가 있는지 확인하십시오.

참고자료:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Rrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfent EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Latvian

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Paredzētais lietojums:

Priekš/*in vitro* Diagnostikas lietošana

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG ir paredzēts lietošanai manuālās vai automātizētās imūnhistokīmiskās (IHC) krāsošanas protokolos, izmantojot mārrutku peroksidāzes (HRP) vai sārmainās fosfatāzes (AP) streptavidīna konjugātā divpakāpju uzklāšanas metodi. Šī streptavidīna konjugāta noteikšana ir paredzēta peles IgG primāro antivielu noteikšanai, kas saistītas ar mērķa antigēniem formalīnā fiksētos, parafīnā iestrādātos (FFPE) audos IHC krāsošanas procesa laikā. Jebkuras iekrāsošanās vai tās neesamības kliniskā interpretācija ir jāpapildina ar morfoloģiskiem pētījumiem un atbilstošām kontrolēm, un tā jānovērtē pacienta kliniskās vēstures un citu diagnostisko testu kontekstā, ko veic kvalificēts patologs.

Kopsavilkums un skaidrojums:

The 4plus biotinilēts kazas anti-peles IgG ir izstrādāts, izmantojot divpakāpju metodi peles primāro antivielu noteikšanai, lai izveidotu antivielu-enzīmu kompleksu. Pēc tam šo kompleksu vizualizē, izmantojot atbilstošu substrātu/hromogēnu. Divpakāpju metodē sekundārā antivieļa tiek biotinilēta, un seciņi tiek uzklāti papildu ar enzīmu iezīmēts streptavidīns. Divpakāpju metode ir paredzēta, lai pastiprinātu noteikšanu zemas ekspresijas antigēnu gadījumos.

Šī biotinilētā antivieļa reaģē ar smagajām un vieglajām kēdēm uz peles IgG. Tas ir adsorbēts pret zīrgiem, liellopiem un cilvēkiem. Tas reaģē ar visām peles IgG apakšklasēm un peles IgM. Tas ir afinitātēs attīriņs ar minimālu krustenisku reakciju pret cilvēka, liellopu un zirga serumu proteīniem. Starp biotīnu un sekundārā antivielu ir novietota gara starplikās svira, lai palielinātu jutību savienojumā ar streptavidīna konjugātiem. 4plus Biotinilētu kazu Anti-Mouse IgG var izmantot ar streptavidīna mārrutku peroksidāzes vai streptavidīna sārmainās fosfatāzes noteikšanas sistēmām.

Procedūras princips:

Šo mikropolimēru noteikšanas komplektu var izmantot formalīnā fiksētu, parafīnā iestrādātu audu sekciju imūnhistokīmijas testēšanai. Kopumā imūnhistokīmiskā (IHC) krāsošanas metodes lauj vizualizēt antigenus, seciņi pielietojot a specifiskā antivielu pret antigenu (primārā antivielu), sekundārā antivielu pret primāro antivielu (neobligāta saite antivielu/zonde), enzīmu kompleksu un hromogēnu substrātu starplikām mazgāšanas soļiem. Hrogēna fermentatīvā aktivizēšana rada redzamu reakcijas produktu antigena vietā. Pēc tam paraugu var iekrāsot un pārkālāt ar vāku. Rezultāti tiek interpretēti, izmantojot gaismu mikroskopu un paliglīdzekli patofizioloģisko procesu diferenciāldiagnozē, kas var vai var nebūt saistīts ar noteiktu antigenu.

Materiāli un metodes:

Piedāvātie reaģenti:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Atšķaidīšana, sajaukšana, atšķaidīšana, titrēšana:

Uz streptavidīnu balstītais noteikšanas komplekta reaģents(-i) ir optimizēti un gatavi lietošanai kopā ar Biocare antivielām un paligreāgentiem. Nav nepieciešama šķidināšana, sajaukšana, atšķaidīšana vai titrēšana.

Zināmās lietojumprogrammas:

Imūnhistokīmija (formalīnā fiksēti parafīnā iestrādāti audi)

Sugas reaģētspēja:

Peles IgG smagās un vieglās kēdes

Piegādāts kā:

Buferēts sāls šķidums, pH 7,2–7,4, kas satur aprotēīna nesēju un mazāk nekā 0,01% ProClin 300 un/vai mazāk nekā 0,5% ProClin 950 kā konservantu. Papildinformāciju skatiet drošības datu lapā.

Nepieciešamie materiāli un reaģenti, kas nav nodrošināti:

Mikroskopa priekšmetstiklini, pozitīvi uzlādēti

Pozitīvās un negatīvās audu kontroles

Desert Chamber* vai līdzīga žāvēšanas krāsns (pēc izvēles)

Ksilols vai ksilola aizstājējs

Etanols vai reaģēta spirts

Atslānošanās kamera* vai līdzīga spiediena katls (pēc izvēles)

Dejonizēts vai destilēts ūdens

Mazgāšanas buferis*

Priekšāpstrādes reaģenti* (pēc izvēles)

Fermentu gremošana* (pēc izvēles)

peroksidāzes blokāde*

Olbaltumvielu bloks* (pēc izvēles)

Avidīna-biotīna blokēšanas komplekts

Primārā antivieļa*

Streptavidīna etikete*

Negatīvie kontroles reaģenti*

Hrogēni*

Hematoksilīns* (pretkrāsa)

Bluing reaģēnts*

Montāžas līdzeklis*

Vāka stikls

Gaismas mikroskops (40-400X palielinājums)

* Biocare Medical Products: informāciju par kataloga numuriem un pasūtīšanu skatiet Biocare Medical tīmekļa vietnē <http://biocare.net>. Daži iepriekš uzskaitītie reaģenti ir balstīti uz īpašu pielietojumu un izmantoto noteikšanas sistēmu.

Uzglabāšana un stabilitāte:

Uzglabāt temperatūrā no 2°C līdz 8°C. Uzglabājot šādos apstākļos, produkts ir stabils līdz derīguma termiņam, kas uzdrukāts uz flakona etiķetes. Nelietot pēc derīguma termiņa beigām. Uzglabāšana citos apstākļos, izņemot norādītos, ir jāpārbauda. Komplekta reaģents(-i) ir gatavs(-i) lietošanai, un tos nedrīkst atšķaidīt. Biocare nav noteikusi lietotāja atšķaidītā reaģenta stabilitāti.

Positīvās un negatīvās kontroles jāveic vienlaikus ar visiem pacienta paraugiem. Ja tiek novērota neparedzēta iekrāsošanās, ko never izskaidrot ar atšķirībām laboratorijas procedūrās, un ir aizdomas par problēmu ar antivieļu, sazinieties ar Biocare tehnisko atbalstu pa tālruni 1-800-542-2002 vai izmantojot tehniskā atbalsta informāciju, kas sniegt vietnē biocare.net.

Parauga sagatavošana:

Formalīnā fiksēti audi ir piemēroti lietošanai pirms parafīna iestrādāšanas. Kaulu audi pirms audu apstrādes ir jāatkalpo, lai atvieglotu audu griešanu un novērstu mikrotomu asmeņu bojājumus.^{1,2}

Pareizi fiksēti un iestrādāti audi, kas eksprese norādīto antigena mērķi, jāuzglabā vēsā vietā. 1988. gada Kliniskās laboratorijas uzlabošanas likums (CLIA) pieprasīja 42 CFR. §493.1259(b), ka "Laboratorijai ir jāsaglabā

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

71/116



TP v3 (12/15/2021) | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Latvian

BIOCARE
MEDICAL

iekrāsotie priekšmetstikliņi vismaz desmit gadus no datuma, kad pārbaudi un saglabā paraugu blokus vismaz divus gadus no pārbaudes datuma.³

Audu apstrāde pirms krāsošanas:

Veiciet siltuma izraisītu epitopu izgūšanu (HIER) saskaņā ar tālāk ieteikto protokolu. Ir pierādīts, ka regulāra HIER lietošana pirms IHC samazina nekonsekvenči un standartizē krāsošanu.^{4,5}

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi:

- Komplekta reāģenti satur mazāk par <0,05% ProClin 300 un/vai mazāk par 1% 950> Valkājet cīmdu un aizsargtēru un ievērojiet saprātīgus piesardzības pasākumus, rīkojoties, jo ProClin ir klasificēts kā kairinošs un var izraisīt ādas kontakta sensibilizāciju. Izvairieties no saskares ar acīm, ādu un glotādām.
- Rikojieties ar cilvēku vai dzīvnieku izcelmes materiāliem kā potenciāli bioloģiski bīstamiem un atbrīvojietes no šādiem materiāliem, ievērojot atbilstošus piesardzības pasākumus. Iedarbības gadījumā ievērojiet atbildīgo iestāžu norādījumus par veselību, ja tas tiek lietots.^{6,7}
- Paraugi pirms un pēc fiksācijas, kā arī visi tiem pakļautie materiāli ir jārikojas tā, it kā tie varētu pārnēsāt infekciju, un tie jāiznīcina, ievērojot atbilstošus piesardzības pasākumus. Nekad nepieejiet reāgentus iekšķīgi un izvairieties no saskares ar ādu un glotādām ar reāgentiem un paraugiem. Ja reāģenti vai paraugi nonāk saskarē ar jutīgām zonām, nomazgājiet ar lielu ūdens daudzumu.⁸
- Reāģentu piesārņojums ar mikrobiem var izraisīt nespecifiskas iekrāsošanās palielināšanos.
- Inkubācijas laiki vai temperatūra, kas nav norādīta, var sniegt kļūdainus rezultātus. Lietotājam ir jāapstiprina visas šādas izmaiņas.
- Nelietot reāģētu pēc deriguma termiņa beigām, kas norādīts uz flakona.
- Mikropolimēra noteikšanas komplekta reāgents(-i) ir optimizēti un gatavi lietošanai ar Biocare antivielām un paligreāgentiem. Ieteiktos lietošanas protokolus un nosacījumus skatiet primāro antivielu un citu paligreāgentu lietošanas instrukcijās.
- Ievērojiet vietējo un/vai valsts iestāžu prasības par iznīcināšanas metodi.
- SDS ir pieejams pēc pieprasījuma un atrodas plkst <http://biocare.net>.
- Zinojiet par visiem nopietniem ar šo ierīci saistītiem incidentiem, sazinieties ar vietējo Biocare pārstāvi un attiecīgās daļībalstis vai valsts, kurā atrodas lietotājs, kompetento iestādi.

Lietošanas instrukcija:

Mikropolimēra noteikšanas komplekta reāgents(-i) ir optimizēti un gatavi lietošanai kopā ar Biocare antivielām un paligreāgentiem. Ieteiktos lietošanas protokolus un nosacījumus skatiet primāro antivielu un citu paligreāgentu lietošanas instrukcijās. Inkubācijas laiki un temperatūras mainīšies atkarībā no konkrētā antivielu protokola.

Izmantojot automatizētu krāsošanas instrumentu, skatiet konkrētā instrumenta lietotāja rokasgrāmatu un lietošanas instrukcijas darbības parametriem.

Vispārējās procedūras darbības IHC veikšanai:

- Deparafinācija: deparafinējet priekšmetstikliņus Slide Brite vai ksilolā. Hidrējet priekšmetstikliņus vairākos šķirotos spirtos līdz ūdenim.
- Peroksīda bloks: 5 minūtes bloķējet ar peroksīdu 1.
- Piekšapstrādes šķidums/protokols: lūdzu, skatiet attiecīgo primāro antivielu datu lapu, lai uzzinātu ieteicamo pirmapstrādes šķidumu un protokolu.
- Avidīna bloks: inkubēt 10-20 minūtes RT ar Biocare's Avidin.
- Biotīna bloks: inkubējet 10-20 minūtes RT ar Biocare's Biotin.
- Proteīna bloks (pēc izvēles): inkubējet 10-15 minūtes istabas temperatūrā (RT) ar Background Sniper.
- Primārā antivieļa: lūdzu, skatiet attiecīgo primāro antivielu datu lapu, lai uzzinātu inkubācijas laiku.

9. Saikne: inkubēt 10 minūtes RT ar 4plus biotinilētu saiti.

10. Etiķete: inkubējet 10-20 minūtes RT temperatūrā ar 4plus Streptavidin HRP vai Streptavidin AP Label.

11. Hromogēns: inkubējet 10-20 minūtes RT ar Biocare DAB vai inkubējet 5-7 minūtes RT ar Warp Red.

12. Pretkrāsojums: pretkrāsojums ar hematoksiļu. Noskalo ar dejonizētu ūdeni. Uzklājiet Tacha's Bluing Solution 1 minūti. Noskalo ar dejonizētu ūdeni.

Tehniskas piezīmes:

- Magzāšanas soliņem izmantojet TBS.

Kvalitātes kontrole:

Skatiet CLSI kvalitātes standartus imūnhistokīmijas testu izstrādei un ieviešanai; Apstiprināts vadlīniju otrs izdevums (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011. gads.

Pozitīvā audu kontrole:

Ārējiem pozitīvās kontroles materiāliem jābūt svaigiem paraugiem, kas fiksēti, apstrādāti un pēc iespējas ātrāk jāievieto tādā pašā veidā kā pacienta paraugs(-i). Pozitīva audu kontrole liecina par pareizi sagatavotiem audiem un pareizām krāsošanas metodēm. Katrā krāsošanas ciklā jāiekļauj viena pozitīva ārējā audu kontrole katrai testa apstākļu kopai.

Ārējiem pozitīvās kontroles materiāliem izmantotie audi jāizvēlas no pacientu paraugiem ar labi raksturotu zemu pozitīvās mērķa aktivitātes līmeni, kas rada vāju pozitīvu krāsojumu. Zemais pozitīvāties līmenis ārējām pozitīvajām kontrolēm ir izstrādāts tā, lai nodrošinātu smalku primāro antivielu jutības izmaiņu noteikšanu no nestabilitātes vai problēmām ar IHC metodoloģiju. Tirdzniecībā pieejamie audu kontroles priekšmetstikli vai paraugi, kas apstrādāti atšķirīgi no pacienta parauga(-iem), apstiprina tikai reāgenta darbību un nepārbauda audu sagatavošanu.

Zināmas pozitīvās audu kontroles ir jāizmanto tikai apstrādāto audu un testa reāģentu pareizas darbības uzraudzībai, nevis kā palīglikidzēkļi konkrētas pacienta paraugu diagnozes formulēšanā. Ja pozitīvās audu kontroles neizdodas uzrādīt pozitīvu iekrāsošanos, testa paraugu rezultāti jāuzskata par nederīgiem.

Negatīvo audu kontrole:

Katrā krāsošanas ciklā izmantojet negatīvu audu kontroli, kas fiksēta, apstrādāta un iegulta identiski pacienta paraugam(-iem), lai pārbaudītu IHC primārās antivielas specifismu. mērķa antigenā demonstrēšana un sniegt norādi par specifisku fona krāsojumu (viltus pozitīva krāsošana). Arī dažādu ūnu tipu dažādību, kas atrodas lielākajā daļā audu sekciju, var Laboratorija izmantot kā iekšējās negatīvās kontroles vietas, lai pārbaudītu IHC darbību specifikācijas. Paraugu veidi un avoti, ko var izmantot negatīviem audiem vadīkļas ir uzskaņītas sadalījās Veikspējas raksturlieliumi.

Ja negatīvajā audu kontrolē notiek specifiska iekrāsošanās (viltus pozitīva iekrāsošanās), pacienta paraugu rezultāti jāuzskata par nederīgiem.

Nespecifiskā negatīvā reāgenta kontrole:

Primārās antivielas vietā izmantojet nespecifisku negatīvu reāgenta kontroli ar katra pacienta parauga daļu, lai novērtētu nespecifisko krāsošanos un lauj labāk interpretēt specifisko krāsojumu antigenā vietā. Ideālā gadījumā negatīvā reāgenta kontrole satur antivielu, kas rāzota un sagatavota (t.i., atšķaidīta līdz tādai pašai koncentrācijai, izmantojot to pašu šķidinātāju) lietošanai tādā pašā veidā kā primārā antivieļa, bet tai nav specifiskas reaktivitātes ar cilvēka audiem tajā pašā matricā/šķidumā kā Biocare antivieļa. Atšķaidītā vienu pašu var izmantot kā mazāk vēlamo alternatīvu iepriekš aprakstītajām negatīvajām reāgēntu kontrolēm. Negatīvā reāgenta kontroles inkubācijas periodam jāatbilst primārās antivielas inkubācijas periodam.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

72/116



TP v3 (12/15/2021) | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Latvian

BIOCARE
MEDICAL

Ja sērijevida sekcijās tiek izmantoti vairāku antivielu paneli, viena priekšmetstiklina negatīvi iekrāsotie apgabali var kalpot kā negatīva/nеспецифика саистīšanās fona kontrole citām antivielām. Lai atšķirtu endogēno enzīmu aktivitāti vai nespesifikus enzīmu saistīšanos no specifiskās imūnreaktivitātes, papildu pacienta audus var iekrāsot tikai ar substrāta-hromogēna vai enzīmu kompleksiem (PAP, avidīns-biotīns, streptavidīns) un substrāta-hromogēnu, attiecīgi.

Testa pārbaude:

Pirms antivielas vai krāsošanas sistēmas sākotnējās izmantošanas diagnostikas procedūrā, lietotājam jāpārbauda antivielas specifika, pārbaudot uz vairākiem iekšējiem audiem ar zināmiem imūnhistokīmiskās veikspējas raksturlielumiem, kas atspoguļo zināmus pozitīvus un negatīvus audus. Skatiet kvalitātes kontroles procedūras, kas iepriekš aprakstītas šajā produkta ievietojuma sadalā, un KLP sertifikācijas programmas kvalitātes kontroles ieteikumus.¹⁰ imūnhistokīmijai un/vai NCCLS IHC vadlīnijām¹¹. Šīs kvalitātes kontroles procedūras jāatkarto katrai jaunai antivielu partijai vai ikreiz, kad noteik izmaiņas testa parametros. Testa pārbaudei ir piemēroti audi, kas norādīti sadaļā Veikspējas raksturojums.

Problēmu novēršana:

Ievērojiet antivielu specifiskā protokola ieteikumus saskaņā ar sniegtu datu lapu. Ja rodas netipiski rezultāti, sazinieties ar Biocare tehnisko atbalstu pa tālruni 1-800-542-2002.

Krāsošanas interpretācija:

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG rada brūnas (HRP) vai sarkanas (AP) krāsas reakciju antigēna vietās, kuras lokalizē primārā antivielā. Pirms pacienta rezultātu interpretācijas kvalificētam patologam ir jānovērtē kontroles iekrāsošanās. Negatīvās kontroles tiek novērtētas un salīdzinātas ar iekrāsotajiem priekšmetstiklijiem, lai nodrošinātu, ka novērotā iekrāsošanās nav nespesifikas mijiedarbības rezultāts.

Pozitīvā audu kontrole:

Visspīrs ir jāpārbauda pozitīvā audu kontrole, kas iekrāsota ar norādīto antivielu, lai pārliecinātos, ka visi reaģenti darbojas pareizi. Atbilstoša mērķa šīnu krāsošana (kā norādīts iepriekš) liecina par pozitīvu reaktivitāti. Ja pozitīvā audu kontroles neizdodas uzrādīt pozitīvu iekrāsošanos, visi testa paraugu rezultāti jāuzskata par nederīgiem.

Reakcijas produkta krāsa var atšķirties atkarībā no izmantotajiem substrāta hromogēniem. Paredzamās krāsu reakcijas skatiet substrāta iepakojuma lappusēs. Turklat metahromāziju var novērot krāsošanas metodes variācijās.¹²

Ja tiek izmantots pretkrāsojums, atkarībā no inkubācijas ilguma un izmantotā pretkrāsojuma stipruma, pretkrāsošana izraisīs šīnu kodolu krāsojumu. Pārmērīga vai nepilnīga pretkrāsošana var apdraudēt pareizu rezultātu interpretāciju. Skatiet protokolu(-s), lai uzzinātu par ieteicamo pretkrāsošanu.

Negatīvo audu kontrole:

Negatīvā audu kontrole jāpārbauda pēc pozitīvās audu kontroles, lai pārbaudītu primārās antivielas mērķa antigēna markēšanas specifiku. Specifiskas iekrāsošanās trūkums negatīvajā audu kontrolē apstiprina antivielu krusteniskās reaktivitātes trūkumu pret šūnām/šūnu komponentiem. Ja negatīvā ārējā audu kontrolē notiek specifiska iekrāsošanās (viltus pozitīva iekrāsošanās), pacienta parauga rezultāti jāuzskata par nederīgiem.

Nespesifikā krāsošana, ja tāda ir, parasti ir izkliedēta. Sporadisku saistaudu iekrāsošanos var novērot arī sekcijās no pārmērīgi formalīna fiksētiem audiem. Krāsošanas rezultātu interpretācijai izmantojiet neskartas šūnas. Nekrotiskas vai deģenerētās šūnas bieži krāsojas nespesifikiski.

Pacienta audi:

Pārbaudiet pacientu paraugus, kas iekrāsoti ar norādītajām antivielām Pēdējais. Pozitīvā krāsošanas intensitāte jānovērtē saistībā ar jebkuru nespesifiku negatīvu reaģenta kontroles fona krāsojumu. Tāpat kā ar jebkuru imūnhistokīmisko testu, negatīvs rezultāts nozīmē, ka antigeni nav konstatēti, nevis antigena nebija pārbaudītajās šūnās/audiem. Ja nepieciešams, izmantojiet antivielu paneli, lai identificētu viltus negatīvas reakcijas.

Lai iegūtu specifisku informāciju par norādīto antivielu imūnreaktivitāti, skatiet kopsavilkumu un skaidrojumu, ierobežojumus un veikspējas raksturlielumus.

Ierobežojumi:

Vispārigi ierobežojumi:

1. Priekš/*in vitro* diagnostikas (IVD) lietošana
2. Šīs produkts ir paredzēts tikai profesionālai lietošanai: Imūnhistokīmija ir daudzpakāpu diagnostikas process, kas sastāv no specializētās apmācības atbilstošu reaģētu izvēlē; audu atlase, fiksācija un apstrāde; IHC priekšmetstikliņa sagatavošana; un krāsošanas rezultātu interpretācija.
3. Lietošanai tikai pēc ārsta receptes. (tikai Rx)
4. Audu krāsošana ir atkarīga no audu apstrādes un apstrādes pirms krāsošanas. Nepareiza fiksācija, sasaldēšana, atkausēšana, mazgāšana, žāvēšana, karsēšana, sadalīšana vai piesārnošana ar citiem audiem vai šķidrumiem var radīt artefaktus, antivielu slazdošanu vai viltus negatīvus rezultātus. Nekonsekventi rezultāti var būt fiksācijas un iegulšanas metožu atšķirību dēļ vai audos raksturīgu nelīdzenumu dēļ.¹³
5. Pārmērīga vai nepilnīga pretkrāsošana var apdraudēt pareizu rezultātu interpretāciju.
6. Jebkuras pozitīvas vai negatīvas iekrāsošanās kliniskā interpretācija jānovērtē kliniskā attēla, morfoloģijas un *in situ* histopatoloģisku kritēriju kontekstā. Jebkuras pozitīvas vai negatīvas iekrāsošanās kliniskā interpretācija jāpapildina ar morfoloģiskiem pētījumiem, izmantojot atbilstošus pozitīvos un negatīvos iekrāsos un ārējos kontroles testus, kā arī citus diagnostikas testus. Kvalificēts patologs, kurš ir iepazinies ar pareizu IHC antivielu, reaģētu un metožu lietošanu, ir atbildīgs, lai interpretētu visas darbības, kas izmantotas, lai sagatavotu un interpretētu galīgo IHC preparātu.
7. Optimālie protokoli konkrētai lietojumprogrammai var atšķirties. Tie ietver (bet ne tikai) fiksāciju, siltuma iegūšanas metodi, inkubācijas laikus, antivielu atšķaidīšanu, audu sekcijas biezumu un izmantoto noteikšanas komplektu. Ieteiktos lietošanas protokolus un nosacījumus skatiet primāro antivielu un *in situ* paligreāgentu lietošanas instrukcijas. Datu lapas ieteikumi un protokoli ir balstīti uz ekskluzīvu Biocare produktu izmantošanu. Galu galā pētnieka pienākums ir noteikt optimālos apstākļus.
8. Šīs produkts nav paredzēts izmantošanai plūsmas citometrijā. Plūsmas citometrijas veikspējas raksturlielumi nav noteikti.
9. Audos no personām, kas inficētas ar B hepatīta vīrusu un satur B hepatīta virsmas antigenu (HBsAg), var būt nespesifikā iekrāsošanās ar mārrutku peroksīdiem.¹⁴
10. Reaģenti var parādīt negaidītās reakcijas iepriekš nepārbaudītos audos. Negaidītu reakciju iespējamību pat pārbaudītajās audu grupās nevar pilnībā novērst antigenū ekspresijas bioloģiskās variabilitātes dēļ jaunveidojumus vai citos patoloģiskos audos.¹⁵ Sazinieties ar Biocare tehnisko atbalstu pa tālruni 1-800-542-2002 vai izmantojot tehniskā atbalsta informāciju, kas sniega vietnē biocare.net, norādot dokumentētu neparedzētu reakciju.
11. Normāli/neimūnie serumi no tā paša dzīvnieku izcelsmes avota kā sekundārie antiserumi, ko izmanto bloķēšanas posmos, var izraisīt kļūdaini negatīvus vai kļūdaini pozitīvus rezultātus autoantivielu vai dabisko antivielu dēļ.
12. Kļūdaini pozitīvus rezultātus var redzēt proteīnu vai substrāta reakcijas produktu neimunoģiskas saistīšanās dēļ. Tos var izraisīt arī



60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

73/116



TP v3 (12/15/2021) | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

EC REP EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Latvian

BIOCARE
MEDICAL

- pseidoperoksidāzes aktivitāte (eritrocīti), endogēna peroksidāzes aktivitāte (citochroms C) vai endogēns biotīns (piemēram, aknas, krūts, smadzenes, nieres) atkarībā no izmantotā imūnkrāsojuma veida.¹³
13. Negatīvs rezultāts nozīmē, ka antigēns netika atklāts, nevis to, ka pārbaudītajās šūnās vai audos antigēna nebija.

Produkta specifiskie ierobežojumi:

Nav papildu produktu specifisku ierobežojumu.

Veikspējas raksturojums:

Krāsošana tika veikta, izmantojot protokolus, kas sniegti antivielu specifiskajās lietošanas instrukcijās vai kā norādīts. Krāšanas jutīgums un specifiskums tika novērtēts dažādos normālos un neoplastiskos audu veidos, kas tika novērtēti primāro antivielu veidošanās laikā.

Reproducējamība:

Biocare noteikšanas sistēmu un sistēmu reāgentu reproducējamība tiek pārbaudīta, veicot vidējas precizitātes mēriju, kurā dažādas reāgentu partijas tika pārbaudītas ilgākā laika periodā, izmantojot dažādus operatorus, analītikus, reāgentu partijas, audu paraugus un aprīkojumu. Katram novērtētajam noteikšanas reāgentam iegūtā krāšana bija konsekventa un tika veikta, kā paredzēts.

8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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 Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histoch 1991; 66:194.

Problēmu novēršana:

1. Priekšmetstikliņi nav iekrāsoti – pārbaudiet, lai noteiktu, vai ir izmantoti atbilstoši pozitīvās kontroles audi, antivielas un noteikšanas produkti. Pārbaudiet, vai vaska nojēšana vai pirmapstrāde nav veikta pilnībā vai nepareizi.
2. Vāja visu priekšmetstikliņu krāšana – pārbaudiet, lai noteiktu, vai ir izmantoti atbilstoši pozitīvās kontroles audi, antivielas un noteikšanas produkti.
3. Pārmērīgs visu priekšmetstikliņu fons — var būt augsts endogēnā biotīna līmenis (ja izmanto noteikšanas produktus uz biotīna bāzes), endogēna HRP aktivitāte, kas pārvērš hromogēnu krāsainā galaproductā (izmantojiet peroksidāzes bloku) vai pārmērīga nespecifiskā proteīna mijiedarbība (izmantojiet proteīnu). blokādi, piemēram, bloķējošs šķidums uz seruva vai kazeina bāzes).
4. Audu sekcijas nomazgā priekšmetstikliņus inkubācijas laikā – pārbaudiet priekšmetstikliņus, lai pārliecinātos, ka tie ir pozitīvi uzlādēti.
5. Īpaša krāsošanās ir pārāk tumša – pārbaudiet protokolu, lai noteiktu, vai priekšmetstikliņiem ir piemērots pareizs antivielu titrs, kā arī pareizu visu reāgentu inkubācijas laiku. Turklat pārliecinieties, ka protokolā ir pietiekami daudz mazgāšanas soļu, lai pēc inkubācijas darbību pabeigšanas noņemtu liekos reāgentus.

Atsauces:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Lithuanian

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Paskirtis:

Dėl *in vitro* Diagnostinis naudojimas

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG yra skirtas naudoti rankinio arba automatinio imunohistocheminio (IHC) dažymo protokoluose, naudojant krienu peroksidazės (HRP) arba šarminės fosfatazės (AP) streptavidino konjugato dviejų pakopų taikymo metodą. Šis streptavidino konjugato aptikimis skirtas pelių IgG pirminiams antikūnams, susietiems su tiksliniais antigenais formalinu fiksuootos, į parafiną įterptuose (FFPE) audiniuose IHC dažymo proceso metu, aptikti. Klinikinį bet kokio dažymo ar jo nebuvo aiškinimą turėtų papildyti morfologiniai tyrimai ir tinkama kontrolė, o kvalifikuotas patologas turi įvertinti paciento klinikinę istoriją ir kitus diagnostinius tyrimus.

Santrauka ir paaiškinimas:

The 4plus biotinilintas ožkų anti-pelės IgGsukurtas naudojant dviejų pakopų metodą, skirtą pelės pirminiams antikūnams aptikti, kad susidarytų antikūno ir fermento kompleksas. Tada šis kompleksas vizualizuojamas naudojant atitinkamą substratą / chromogeną. Taikant dviejų etapų metodą, antrinis antikūnas yra biotinilinamas ir paeiliui uždedamas papildomas fermentu pažymėtas streptavidinas. Dviejų pakopų metodas yra skirtas sustiprinti aptikimą mažai ekspresuojančių antigenų atvejais. Šis biotinilintas antikūnas reaguoja su sunkiosiomis ir lengvosiomis pelės IgG grandiniemis. Jis adsorbuojamas prieš arklius, galvijus ir žmones. Jis reaguoja su visais pelių IgG poklasiais ir pelių IgM. Jis buvo išgryniotas afinitetu, su minimalia kryžminė reakcija į žmogaus, galvijų ir arklių serumo balytumus. Tarp biotino ir antrinio antikūno buvo pastatyta ilga tarpinė, kad padidėtų jautrumas, kai jis sujungtas su streptavidino konjugatais. 4plus Biotinylated goat Anti-Mouse IgG gali būti naudojamas su streptavidino krienu peroksidazės arba streptavidino šarminės fosfatazės aptikimo sistemomis.

Procedūros principas:

Šis mikropolimero aptikimo rinkinys gali būti naudojamas formalinu fiksuootų, parafinu įterptu audinių pjūvių imunohistocheminiams tyrimams. Apskritai imunohistocheminis (IHC) dažymo metodai leidžia vizualizuoti antigenus nuosekliai taikant ir specifinius antikūnas prieš antigeną (pirminis antikūnas), antrinus antikūnas prieš pirminį antikūną (neprivalomas antikūnas/zondas), fermentų kompleksas ir chromogeninis substratas su tarpinėmis plovimo etapais. Dėl fermentinio chromogeno aktyvavimo antigeno vietoje susidaro matomas reakcijos produktas. Tada mėginys gali būti nudažytas ir padengtas dangteliu. Rezultatai interpretuojami naudojant lemputę mikroskopu ir pagalba diferencinei patofiziologinių procesų diagnostikai, kurie gali arba gali būti nesusiję su konkretių antigenų.

Medžiagos ir metodai:

Pateikiame reagentai:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Atskiedimas, maišymas, skiedimas, titravimas:

Streptavidino aptikimo rinkinio reagentas (-ai) yra optimizuotas (-i) ir paruoštas naudoti su Biocare antikūnais ir pagalbiniais reagentais. Atskiesti, maišyti, skiesti ar titruoti nereikia.

 Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

Žinomas programas:

Imunohistochemija (formalinu fiksuooti audiniai, įterpti į parafiną)

Rūšių reaktyvumas:

Pelės IgG sunkiosios ir lengvosios grandinės

Tiekama kaip:

Buferinis druskos tirpalas, pH 7,2–7,4, kuriame yra aproteinio nešiklio ir mažiau nei 0,01% ProClin 300 ir (arba) mažiau nei 0,5% ProClin 950 kaip konservantas. Daugiau informacijos rasite saugos duomenų lape.

Reikalingos, bet nepateiktos medžiagos ir reagentai:

Mikroskopo stikliai, teigiamai įkrauti

Teigiamo ir neigiamo audinių kontrolė

Desert Chamber* arba panaši džiovinimo krosnelė (neprivaloma)

Ksilena arba ksileno pakaitalas

Etanolis arba alkoholio reagentas

Užsikimšimo kamera* arba panašus greitpuodis (pasirinktinai)

Dejonizuotas arba distiliuotas vanduo

plovimo buferis*

Pirmilio apdorojimo reagentai* (neprivaloma)

Virškinimas fermentais* (neprivaloma)

peroksidazės blokada*

Baltymuo blokas* (neprivaloma)

Avidino ir biotino blokavimo rinkinys

Pirminis antikūnas*

Streptavidino etiketė*

Neigiami kontroliniai reagentai*

Chromogenai*

Hematoksilinas* (priežastis)

mėlynumo reagentas*

Montavimo terpė*

Dengiamasis stiklas

Šviesos mikroskopas (40-400X padidinimas)

* Biocare medicinos produktai: informacijos apie katalogų numerius ir užsakymus rasite Biocare Medical svetainėje <http://biocare.net>. Tam tikri aukščiau išvardyti reagentai yra pagrįsti specifine panaudojimo ir aptikimo sistema.

Sandėliavimas ir stabilumas:

Laikyti 2°C – 8°C temperatūroje. Laikant tokiomis sąlygomis, produktas yra stabilus iki galiojimo datos, nurodytos ant buteliuko etiketės. Nenaudoti pasibaigus tinkamumo laikui. Turi būti patirkintas saugojimas bet kokiomis kitokiomis sąlygomis nei nurodytos. Rinkinio reagentas (-ai) yra paruoštas (-i) naudoti ir neturėtų būti skiedžiamas. Biocare nenustatė vartotojo praskiesto reagento stabilumo.

Teigiamas ir neigiamas kontrolė turi būti atliekama vienu metu su visas paciento mėginiu. Jei pastebimas netiketas dažymas, kurio negalima paaškinti laboratorinių procedūrų skirtumais, ir įtariate antikūnų problema, susisiekite su Biocare techninės pagalbos tarnyba telefonu 1-800-542-2002 arba per techninės pagalbos informaciją, pateiktą biocare.net.

Mėginio paruošimas:

Formalinu fiksuooti audiniai tinkami naudoti prieš įterpiant į parafiną. Kauliniai audiniai turi būti nukalkinti prieš audinių apdorojimą, kad būtų lengviau nupjauti audinį ir nepažeisti mikrotomo ašmenų.^{1,2}

Tinkamai fiksuooti ir įterpti audiniai, išreiškiantys nurodytą antigeno taikinį, turi būti laikomi vėsioje vietoje. 1988 m. Klinikinių laboratorių tobulinimo įstatymas (CLIA) reikalauja 42 CFR§493.1259(b), kad „Laboratorijs turi

75/116



TP v3 (12/15/2021)

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Lithuanian

BIOCARE
MEDICAL

saugoti beicuotus stiklelius mažiausiai dešimt metų nuo ištirti ir saugoti mėginių blokus mažiausiai dvejus metus nuo tyrimo datos.³

Audinių gydymas prieš dažymą:

Atilkite šilumos sukeltą epitopų paiešką (HIER) pagal toliau pateiktą rekomenduojamą protokolą. Irodyta, kad įprastas HIER naudojimas prieš IHC sumažina nenuoseklumą ir standartizuja dažymą.^{4,5}

Ispėjimas ir atsargumo priemonės:

1. Rinkinio reagentų sudėtyje yra mažiau nei <0,05 % ProClin 300 ir (arba) mažiau nei 1 % 950>. Mūvėkite pirstines ir apsauginius drabužius bei imkitės pagrįstą atsargumo priemonių, kai dirbate su ProClin, nes yra klasifikuojamas kaip dirginantis ir gali sukelti odos kontaktą. Vengti patekimo į akis, odą ir gleivines.
2. Žmonių arba gyvūninių kilmės medžiagas tvarkykite kaip potencialiai biologiskai pavojingas ir šalinkite tokias medžiagas laikydamiesi tinkamų atsargumo priemonių. Poveikio atveju laikykėsatsakingų institucijų, kuriose naudojamas, sveikatos nurodymų.^{6,7}
3. Mėginių prieš ir po fiksavimo bei visos su jais paveiktos medžiagos turi būti tvarkomos taip, lyg galėtų perduoti infekciją, ir sunaikintos laikantis tinkamų atsargumo priemonių. Niekada nepilkite reagentų pipete per burną ir venkite reagentų bei mėginių sąlyčio su oda ir gleivinėmis. Jei reagentai ar mėginių pateko į jautrius vietas, nuplaukite dideliu kiekiu vandens.⁸
4. Mikrobinius reagentų užterštumas gali padidinti nespecifinį dažymą.
5. Kitos nei nurodytos inkubacijos trukmės arba temperatūros rezultatai gali duoti klaidingus rezultatus. Vartotojas turi patvirtinti visus tokius pakeitimų.
6. Nenaudokite reagento pasibaigus tinkamumo laikui, nurodytam ant buteliuko.
7. Mikropolimero aptikimo rinkinio reagentas (-ai) yra optimizuotas (-i) ir paruoštas naudoti su Biocare antikūnais ir pagalbiniais reagentais. Rekomenduojamus protokolus ir naudojimo sąlygas žr. pirminio antikūno ir kitų pagalbinų reagentų naudojimo instrukcijose. Inkubavimo laikas ir temperatūra skirsis priklausomai nuo konkretaus antikūnų protokolo, kurio laikomasi.
8. Laikykites vietinių (arba) valstybinių institucijų reikalavimų dėl šalinimo būdų.
9. SDS galima gauti paprašius ir jis yra adresu <http://biocare.net>.
10. Praneškite apie visus rūmtus incidentus, susijusius su šiuo prietaisu, susisiekę su vietiniu Biocare atstovu ir atitinkama valstybės narės arba šalies, kuriuoje yra naudotojas, kompetentinga institucija.

Naudojimo instrukcijos:

Mikropolimero aptikimo rinkinio reagentas (-ai) yra optimizuotas (-i) ir paruoštas naudoti su Biocare antikūnais ir pagalbiniais reagentais. Rekomenduojamus protokolus ir naudojimo sąlygas žr. pirminio antikūno ir kitų pagalbinų reagentų naudojimo instrukcijose. Inkubavimo laikas ir temperatūra skirsis priklausomai nuo konkretaus antikūnų protokolo, kurio laikomasi.

Naudodami automatizuotą dažymo instrumentą, skaitykite konkretaus prietaiso naudotojo vadovą ir naudojimo parametrus.

Bendrieji IHC atlikimo procedūriniai veiksmai:

1. Deparafinizavimas: deparafinuokite stiklelius „Slide Brite“ arba ksilenu. Hidratuokite stiklelius rūšiuotų alkoholių serijoje iki vandens.
2. Peroksido blokas: blokuokite 5 minutes peroksidiuotu 1.
3. Pirminio apdrojimo tirpalas/protokolas: rekomenduojama pirminio apdrojimo tirpalą ir protokolą rasite atitinkamame pirminio antikūno duomenų lape.
4. Avidino blokas: inkubuokite 10-20 minučių kambario temperatūroje su Biocare's Avidin.
5. Biotino blokas: inkubuokite 10-20 minučių kambario temperatūroje su Biocare's Biotinu.
6. Baltymu blokas (nebūtina): inkubuokite 10–15 minučių kambario temperatūroje (RT) su Background Sniper.

8. Pirminis antikūnas: Inkubacijos laiką žr. atitinkamo pirminio antikūno duomenų lape.

9. Ryšys: inkubuokite 10 minučių kambario temperatūroje su 4plus Biotinylated Link.

10. Etiketė: inkubuokite 10-20 minučių kambario temperatūroje su 4plus Streptavidin HRP arba Streptavidin AP Label.

11. Chromogenas: inkubuokite 10-20 minučių kambario temperatūroje su Biocare DAB arba inkubuokite 5-7 minutes kambario temperatūroje su Warp Red.

12. Priešdažas: priešdažis su hematoksilinu. Nuplaukite dejonizuotu vandeniu. 1 minutę užtepkite Tacha's Bluing tirpalu. Nuplaukite dejonizuotu vandeniu.

Techninės pastabos:

1. Skalbimo etapams naudokite TBS.

Kokybės kontrolė:

Žr. CLSI Imunohistocheminių tyrimų projektavimo ir įgyvendinimo kokybės standartus; Patvirtintas gairių antrasis leidimas (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA JAV (www.clsi.org). 2011 m⁹

Teigiamą audinių kontrolė:

Išorinės teigiamos kontrolės medžiagos turi būti kuo greičiau užfiksuoti, apdoroti ir įterpti švieži mėginių tokiu pat būdu kaip ir paciento mėginius (-iai). Teigiamas audinių kontrolė rodo tinkamai paruoštus audinius ir tinkamus dažymo būdus. I kiekvieną dažymo eiga turėtu būti įtraukta viena teigiamą išorinio audinio kontrolė kiekvienam tyrimo sąlygų rinkiniui.

Audiniai, naudojami išorinėms teigiamoms kontrolinėms medžiagoms, turėtų būti parenkami iš pacientų mėginių, kurių teigiamas tikslinis aktyvumas yra žemas, o tai suteikia silpną teigiamą dažymą. Žemas teigiamumo lygis išorinėms teigiamoms kontrolėms yra sukurtas taip, kad būtų galima aptiki subtilius pirminio antikūno jautrumo pokyčius dėl nestabilumo ar problemų, susijusių su IHC metodika. Parduodamos audinių kontrolinės skaidrės arba mėginių, apdoroti kitaip nei paciento mėginius (-iai), patvirtina tik reagento veikimą ir netikrina audinių paruošimo.

Žinomas teigiamos audinių kontrolės priemonės turėtų būti naudojamos tik norint stebėti tinkamą apdorotą audinį ir tiriamujų reagentų veikimą, o ne kaip pagalbinė priemonė nustatant konkretą paciento mėginių diagnozę. Jei teigiami audinių kontroliniai mėginių neparodo teigiamo dažymosi, bandinių rezultatai turėtų būti laikomi negaliojančiais.

Neigiamų audinių kontrolė:

Kiekvieną dažymo ciklą naudokite neigiamą audinių kontrolę, fiksuoata, apdorotą ir įterptą identiškai paciento mėginiui (-iams), kad patikrintumėte IHC pirminio antikūno specifiškumą. tikslinio antigeno demonstravimas ir specifinio fono dažymo požymis (klaidingai teigiamas dažymas). Be to, daugumoje audinių sekcijų gali būti įvairių tipų ląstelių Laboratorijos gali naudoti kaip vidines neigiamos kontrolės vietas, kad patikrintų IHC veikimą specifikacijas. Mėginių, kurie gali būti naudojami neigiamieji audiniams, tipai ir šaltiniai valdikliai išvardytu skyriuje Veikimo charakteristikos.

Jei neigiamų audinių kontrolėje atsiranda specifinis dažymas (klaudingai teigiamas dažymas), paciento mėginių rezultatai turėtų būti laikomi negaliojančiais.

Nespecifinė neigiamo reagento kontrolė:

Vietoj pirminio antikūno naudokite nespecifinio neigiamo reagento kontrolę su kiekvieno paciento mėginiu dalimi, kad įvertintumėte nespecifinį dažymą ir leidžia geriau interpretuoti specifinį dažymą antigeno vietoje. Idealiu atveju neigiamą reagento kontrolę sudaro antikūnas, pagamintas ir paruoštas (t. y. atskiestas iki tos pačios koncentracijos naudojant tą patį skiedlikį), kad būtų

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

76/116

TP v3 (12/15/2021)

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Lithuanian

BIOCARE
MEDICAL

galima naudoti taip pat, kaip ir pirminis antikūnas, bet neturi specifinio reaktyvumo su žmogaus audiniais toje pačioje matricoje / tirpale kaip ir Biocare antikūnas. Vien tik skiediklis gali būti naudojamas kaip mažiau pageidautina ankščiau aprašytu neigiamu reagentu kontrolės alternatyva. Neigiamo reagento kontrolės inkubacinis laikotarpis turi atitinkti pirminio antikūno inkubacinį laikotarpi.

Kai serijiniuose pjūviuose naudojamos kelių antikūnų plokštės, vieno stiklelio neigiamai nusidažiusios sritys gali būti neigiamos / nespecifinės kitų antikūnų surišimo fono kontrolė. Norint atskirti endogeninį fermentų aktyvumą arba nespecifinį fermentų prisijungimą nuo specifinio imunoreaktyvumo, papildomi paciento audiniai gali būti nudažyti tik atitinkamai substrato-chromogeno arba fermentų kompleksais (PAP, avidino-biotino, streptavidino) ir substrato-chromogenu.

Tyrimo patvirtinimas:

Prieš pradėdamas naudoti antikūnų arba dažymo sistemą diagnostikos procedūroje, vartotojas turėtų patikrinti antikūno specifiškumą, išbandydamas jį su keletu vidinių audinių su žinomomis imunohistocheminėmis charakteristikomis, atitinkančiomis žinomus teigiamus ir neigiamus audinius. Žr. kokybės kontrolės procedūras, anksčiau aprašytas šiame gaminio informaciniu lapelio skyriuje, ir BZŪP sertifikavimo programos kokybės kontrolės rekomendacijas.¹⁰ imunohistochemijai ir (arba) NCCLS IHC gairėms¹¹. Šios kokybės kontrolės procedūros turi būti kartojuamos kiekvienai naujai antikūnų partijai arba kiekvieną kartą, kai pasikeičia tyrimo parametrai. Audiniai, išvardyti skyriuje Veikimo charakteristikos, yra tinkami tyrimo patikrinimui.

Problemu sprendimas:

Laikykite specifinių antikūnų protokolo rekomendacijų pagal pateiktą duomenų lapa. Jei atsiranda netipiniai rezultatai, susisiekiite su Biocare technine pagalba telefonu 1-800-542-2002.

Dažymo aiškinimas:

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG sukelia rudos (HRP) arba raudonos (AP) spalvos reakciją antigeno vietose, kurias lokalizuojama pirminis antikūnas. Prieš interpretuodamas paciento rezultatus, kontrolinių mėginių dažymą turi įvertinti kvalifikuotas patologas. Neigiamos kontrolinės medžiagos įvertinamos ir palyginamos su nudažytomis stiklėlėmis, siekiant užtikrinti, kad pastebėtas dažymas nėra nespecifinės sąveikos rezultatas.

Teigiamą audinių kontrolę:

Pirmiausia reikia ištirti teigiamą audinių kontrolę, nudažytą nurodytu antikūnu, siekiant išiti kintinti, kad visi reagentai veikia tinkamai. Tinkamas tikslinių lastelių dažymas (kaip nurodyta ankščiau) rodo teigiamą reaktyvumą. Jei teigiami audinių kontroliniai mėginių neparodo teigiamo dažymosi, visi bandinių rezultatai turėtų būti laikomi negaliojančiais.

Reakcijos produkto spalva gali skirtis priklausomai nuo naudojamų substrato chromogenų. Numatytas spalvų reakcijas žr. pagrindo pakuočių lapeliuose. Be to, metachromazija gali būti stebima dažymo metodo variantuose.¹² Kai naudojamas kontrastinis dažymas, priklausomai nuo inkubacijos trukmės ir naudojamo priešinio dažymo stiprumo, priešdažymas sukels lastelių branduolių spalvą. Pernelyg didelis arba neišsamus dažymas gali pakenkti tinkamam rezultatų interpretavimui. Žr. protokolą (-us) dėl rekomenduojamo priešdažo.

Neigiamų audinių kontrolę:

Neigiamą audinių kontrolę turėtų būti ištirta po teigiamos audinių kontrolės, siekiant patikrinti tikslinio antigeno žymėjimo pirminiu antikūnu specifiškumą. Specifinio dažymo nebuvinės neigiamos audinių kontrolėje patvirtina antikūnų kryžminio reaktyvumo su lastelių komponentais nebuvinė. Jei neigiamo išorinio audinio kontrolėje atsiranda specifinis

dažymas (klaudingai teigiamas dažymas), paciento mėginių rezultatai turėtų būti laikomi negaliojančiais.

Nespecifinis dažymas, jei yra, paprastai turi difuzinį vaizdą. Sporadinis jungiamojo audinio dažymas taip pat gali būti stebimas pjūviuose iš pernelyg formalino fiksuočių audinių. Dažymo rezultatams interpretuoti naudokite nepažeistas lasteles. Nekrotinės arba išsigimusios lastelės dažnai nusidažo nespecifiskai.

Paciento audiniai:

Ištirkite paciento mėginius, nudažytus nurodytais antikūnais paskutinis. Teigiamas dažymo intensyvumas turėtų būti vertinamas atsižvelgiant į bet kokį nespecifinį neigiamą reagento kontrolės foninį dažymą. Kaip ir bet kurio imunohistocheminio tyrimo atveju, neigiamas rezultatas reiškia, kad antigenas nebuvo aptiktas, o ne tai, kad antigeno nebuvo tiriamose lastelėse / audiniuose. Jei reikia, naudokite antikūnų grupę, kad nustatybtumėte klaudingai neigiamas reakcijas.

Konkrečios informacijos apie nurodytą antikūnų imunoreaktyvumą žr. Santrauka ir paaškinimas, Apribojimai ir Veikimo charakteristikos.

Apribojimai:

Bendrieji apribojimai:

1. Dėl *in vitro* diagnostikos (IVD) naudojimas
2. Šis gaminis skirtas tik profesionaliam naudojimui: Imunohistochemija yra daugiai apkopinis diagnostikos procesas, kurį sudaro specializuoti mokymai parinkti tinkamus reagentus; audinių parinkimas, fiksavimas ir apdorojimas; IHC stiklelio paruošimas; ir dažymo rezultatų interpretavimas.
3. Vartoti tik pagal gydytojo receptą. (tik Rx)
4. Audinių dažymas priklauso nuo audinio tvarkymo ir apdorojimo prieš dažymą. Netinkamas fiksavimas, užšaldymas, atšaldymas, plovimas, džiovinimas, kaitinimas, pjauystymas arba užteršimas kitais audiniais ar skyčiais gali sukelti artefaktus, antikūnų ištrigimą arba klaudingai neigiamus rezultatus. Nenuoseklūs rezultatai gali atsirasti dėl fiksavimo ir įterpimo metodų skirtumų arba dėl išgimtų audinių nelygumų.¹³
5. Pernelyg didelis arba neišsamus dažymas gali pakenkti tinkamam rezultatų interpretavimui.
6. Klinikinis bet kokio teigiamo ar neigiamo dažymo aiškinimas turi būti įvertintas atsižvelgiant į klinikinį vaizdą, morfologiją ir kitus histopatologinius kriterijus. Klinikinis bet kokio teigiamo ar neigiamo dažymo aiškinimas turėtų būti papildytas morfologiniais tyrimais, naudojant tinkamą teigiamą ir neigiamą vidinę ir išorinę kontrolę, taip pat kitus diagnostinius tyrimus. Kvalifikuotas patologas, susipažinęs su tinkamu IHC antikūnų, reagentų ir metodų naudojimu, yra atsakingas už visus veiksmus, naudojamus ruošiant ir interpretuojant galutinį IHC preparatą.
7. Optimalūs konkretios programos protokolai gali skirtis. Tai apima, bet tuo neapsiribojant, fiksavimą, šilumos atgavimo metodą, inkubacijos laiką, antikūnų skiedimą, audinio pjūvio storį ir naudojamą aptikimo rinkinį. Rekomenduojamus protokolus ir naudojimo sąlygas žr. pirminio antikūno ir kitų pagalbininių reagentų naudojimo instrukcijose. Duomenų lapo rekomendacijos ir protokolai yra pagrįsti išskirtiniu Biocare produktų naudojimu. Galiausiai tyréjas turi nustatyti optimalias sąlygas.
8. Šis produktas nėra skirtas naudoti srauto citometrijoje. Srauto citometrijos veikimo charakteristikos nenustatytos.
9. Asmenų, užsikrētusių hepatito B virusu ir turinčių hepatito B paviršiaus antigeno (HBsAg), audiniai gali būti nespecifiniai krienų peroksidaize.¹⁴
10. Reagentai gali parodyti netiketas reakcijas ankščiau nepatikrintuose audiniuose. Netiketų reakcijų galimybės net tirtose audinių grupėse negali būti visiškai pašalintos dėl biologinio antigeno ekspresijos neoplazmą ar kitų patologinių audinių kintamumo.¹⁵ Susisiekiite su Biocare technine pagalba telefonu 1-800-542-2002 arba per techninės

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

77/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Lithuanian

BIOCARE
MEDICAL

- pagalbos informaciją, pateiktą biocare.net, ir pateikite dokumentuotą (-as) netiketą (-as) reakciją (-as).
11. Normalūs/neimuniniai serumai iš to paties gyvūninio šaltinio kaip ir antriniai antiserumai, naudojami blokavimo etapuose, dėl autoantikūnų arba natūralių antikūnų gali sukelti klaidingai neigiamus arba klaidingai teigiamus rezultatus.
 12. Klaidingai teigiami rezultatai gali būti matomi dėl neimunologinio balytymo ar substrato reakcijos produkto prisijungimo. Juos taip pat gali sukelti pseudoperoksidazės aktyvumas (eritrocital), endogeninis peroksidazės aktyvumas (citochromas C) arba endogeninis biotinas (pvz., kepenys, krūtys, smegenys, inkstai), priklausomai nuo naudojamos imuninės dažų rūšies.¹³
 13. Neigiamas rezultatas reiškia, kad antigenas nebuvu aptiktas, o ne tai, kad antigeno nebuvu tiriamose ląstelėse ar audiniuose.

Specifiniai qaminio apribojimai:

Jokių papildomų specifinių qaminio apribojimų.

Veikimo charakteristikos:

Dažymas buvo atliktas naudojant protokolus, pateiktus specifinėse antikūnų naudojimo instrukcijoje arba kaip nurodyta. Dažymo jautrumas ir specifiškumas buvo įvertintas įvairiuose normaliu ir neoplastinių audinių tipuose, įvertintuose pirminių antikūnų susidarymo metu.

Atkuriamausas:

Biocare aptikimo sistemų ir sistemos reagentų atkuriamausas patikrinamas išmatuojant vidutinį tikslumą, kai įvairios reagentų partijos buvo tiriamos ilgą laiką, naudojant įvairius operatorius, analitikus, reagentų partijas, audinių mėginius ir įrangą. Kiekvieno įvertinto aptikimo reagento dažymas buvo nuoseklus ir atliktas taip, kaip tikėtasi.

Problemu sprendimas:

1. Jokių stikelių nesidažyta – Patirkinkite, ar buvo naudojami tinkami teigiami kontroliniai audiniai, antikūnai ir aptikimo produktai. Patirkinkite, ar vaškas pašalintas arba apdorotas neviškai arba netinkamai.
2. Silpnas visų stikelių dažymas – Patirkinkite, ar buvo naudojami tinkami teigiami kontroliniai audiniai, antikūnai ir aptikimo produktai.
3. Per didelis visų skaidrių fonas – gali būti didelis endogeninio biotino kiekis (jei naudojami biotino pagrindu pagaminti aptikimo produktai), endogeninis HRP aktyvumas, paverčiantis chromogeną spalvotu galutiniu produktu (naudokite peroksidazės bloką) arba perteklinė nespecifinė balytymų sąveika (naudokite balytymą). blokuoti, pvz., serumo arba kazeino pagrindu pagamintą blokuojantį tirpalą).
4. Inkubacijos metu audinių sekcijos nuplaunamos nuo stikelių – Patirkinkite stikelius, kad įsitikintumėte, jog jie yra teigiamai įkrauti.
5. Specifinis dažymas per tamsus – Patirkinkite protokolą, kad nustatytaumėte, ar ant stiklelio buvo pritaikytas tinkamas antikūnų titras, taip pat tinkamas visų reagentų inkubacijos laikas. Be to, įsitikinkite, kad protokole yra pakankamai plovimo etapų, kad pašalintumėte reagentų perteklių po inkubacijos etapų.

Nuorodos:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.

6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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 Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Norwegian

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Tiltenkt bruk:

Til *in vitro* Diagnostisk bruk

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG er beregnet for bruk i enten manuell eller automatisert immunhistokjemi (IHC) fargingsprotokoller ved bruk av en pepperrotperoksidase (HRP) eller alkalisk fosfatase (AP) streptavidin-konjugat to-trinns påføringsmetode. Denne streptavidin-konjugatdeteksjonen er designet for påvisning av primære muse-IgG-antistoffer bundet til målantigen i det formalinfikerte, parafininnstøpte (FFPE) vevet under IHC-fargeprosessen. Den kliniske tolkningen av enhver farging eller dens fravær bør kompletteres med morfologiske studier og riktige kontroller og bør evalueres i sammenheng med pasientens kliniske historie og andre diagnostiske tester av en kvalifisert patolog.

Sammendrag og forklaring:

De4 pluss biotinylert geit anti-mus IgG er designet ved å bruke en totrinnsmetode for å påvise primære museantistoffer for å danne et antistoff-enzymkompleks. Dette komplekset blir deretter visualisert ved å bruke et passende substrat/kromogen. I totrinnsmetoden biotinlyres det sekundære antistoffet, og et ekstra enzymmerket streptavidin påføres sekvensielt. To-trinnsmetoden er designet for å forsterke deteksjonen i tilfeller med lavt uttrykkende antigel.

Dette biotinylerte antistoffet reagerer med tunge og lette kjeder på muse-IgG. Det er adsorbert mot hest, storfe og mennesker. Den reagerer med alle muse-IgG-underklasser og muse-IgM. Det har blitt affinitetsrenset med minimal kryssreaksjon på serumproteiner fra mennesker, storfe og hest. En lang avstandsmarm har blitt plassert mellom biotinet og det sekundære antistoffet, for å øke følsomheten når den er koblet med streptavidinkonjugater. 4plus biotinylert geit Anti-Mouse IgG kan brukes med enten streptavidin pepperrotperoksidase eller streptavidin alkalisk fosfatase deteksjonssystemer.

Prosedyreprinsipp:

Dette mikropolymerdeteksjonssettet kan brukes i immunhistokjemitestning av formalinfikserte, parafininnstøpte vevssekksjoner. Generelt immunhistokjemisk (IHC) fargeteknikker tillater visualisering av antigener via sekvensiell påføring av en spesifikt antistoff mot antigenet (primært antistoff), et sekundært antistoff mot det primære antistoffet (valgfritt koblingsantistoff/probe), et enzymkompleks og et kromogent substrat med mellomliggende vasketrinn. Den enzymatiske aktivering av kromogenet resulterer i et synlig reaksjonsprodukt på antigenestedet. Prøven kan deretter motfarges, og dekkglass. Resultatene tolkes ved hjelp av et lys mikroskop og hjelpe i differensialdiagnose av patofisiologiske prosesser, som kan eller kan ikke være assosiert med et bestemt antigen.

Materialer og metoder:

Reagenser som følger med:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Rekonstituering, blanding, fortyning, titrering:

Streptavidin-baserte deteksjonssett-reagenser er optimalisert og klare til bruk med Biocare-antistoffer og hjelpe reagenser. Ingen rekonstituering, blanding, fortyning eller titrering er nødvendig.

Kjente applikasjoner:

Immunhistokjemi (formalinfiksert parafininnstøpt vev)

Artsreakтивitet:

Mus IgG tunge og lette kjeder

Leveres som:

Burfret saltlösning, pH 7,2-7,4, som inneholder en proteinbærer, og mindre enn 0,01 % ProClin 300 og/eller mindre enn 0,5 % ProClin 950 som konserveringsmiddel. Se sikkerhetsdatabladet for ytterligere detaljer.

Materialer og reagenser som trengs, men følger ikke med:

Mikroskopobjektglas, positivt ladet

Positive og negative vevskontroller

Desert Chamber* eller lignende Tørkeovn (valgfritt)

Xylen eller xylenesterstatning

Etanol eller reagens alkohol

Decloaking Chamber* eller lignende trykkoker (valgfritt)

Avionisert eller destillert vann

Vaskebuffer*

Forbehandlingsreagenser* (valgfritt)

Enzymfordøyelse* (valgfritt)

Peroksidaseblokk*

Proteinblokk* (valgfritt)

Avidin-Biotin Blocking Kit

Primært antistoff*

Streptavidin-etikett*

Negative kontrollreagenser*

Kromogener*

Hematoxylin* (motfarging)

Blånende reagens*

Monteringsmedium*

Dekkglass

Lysmikroskop (40-400X forstørrelse)

* Biocare Medical Products: Se Biocare Medical-nettstedet på <http://biocare.net> for informasjon om katalognummer og bestilling. Enkelte reagenser oppført ovenfor er basert på spesifikk bruk og deteksjonssystem som brukes.

Lagring og stabilitet:

Oppbevares ved 2°C til 8°C. Produktet er stabilt til utløpsdatoen som er trykt på hetteglasetiketten når det oppbevares under disse forholdene. Må ikke brukes etter utløpsdato. Oppbevaring under andre forhold enn de som er spesifisert, må verifiseres. Reagenssett(e) er klare til bruk og skal ikke fortynes. Stabiliteten til brukerfortynnet reagens er ikke fastslått av Biocare.

Positive og negative kontroller bør kjøres samtidig med alle pasientprøver. Hvis det observeres uventet farging som ikke kan forklares av variasjoner i laboratorieprosedyrer og det er mistanke om et problem med antistoffet, kontakt Biocares tekniske støtte på 1-800-542-2002 eller via den tekniske støtteinformasjonen på biocare.net.

Prøveforberedelse:

Vev fikset i formalin er egnet for bruk før parafininnstøping. Ossøst vev bør avkalkes før vevbehandling for å lette skjæring av vev og forhindre skade på mikrotombladene.^{1,2}

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

79/116



TP v3 (12/15/2021)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Norwegian

BIOCARE
MEDICAL

Riktig fiksert og innebygd vev som uttrykker det spesifiserte antigenmålet, bør oppbevares på et kjølig sted. The Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) av 1988 krever i 42 CFR§493.1259(b) at "Laboratoriet må beholde fargeobjektglass i minst ti år fra datoene for undersøkelse og oppbevar prøveblokker i minst to år fra eksamsdatoen."³

Behandling av vev før farging:

Utfør Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) i henhold til anbefalt protokoll nedenfor. Rutinemessig bruk av HIER før IHC har vist seg å minimere inkonsekvens og standardisere farging.^{4,5}

Advarsel og forholdsregler:

- Settreagenser inneholder mindre enn <0,05 % ProClin 300 og/eller mindre enn 1 % 950% Bruk hansker og vernekjær og ta rimelige forholdsregler ved håndtering, da ProClin er klassifisert som irriterende og kan forårsake hudkontaktsensibilisering. Unngå kontakt med øyne, hud og slimhinner.
- Håndter materialer av menneskelig eller animalsk opprinnelse som potensielt biologisk farlig og kast slike materialer med riktige forholdsregler. I tilfelle eksponering, følg helsedirektivene til de ansvarlige myndighetene der det brukes.^{6,7}
- Prøver, før og etter fiksering, og alt materiale som eksponeres for dem, skal håndteres som om de er i stand til å overføre infeksjon og avhendes med riktige forholdsregler. Pipetter aldri reagenser gjennom munnen og unngå kontakt med hud og slimhinner med reagenser og prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med sensitive områder, vask med rikelige mengder vann.⁸
- Mikrobiell kontaminering av reagenser kan føre til en økning i uspesifik farging.
- Andre inkubasjonstider eller temperaturer enn de spesifiserte kan gi feilaktige resultater. Brukeren må validere enhver slik endring.
- Ikke bruk reagens etter utløpsdatoen som er trykt på hetteglasset.
- Mikropolymerdeteksjonssettets reagens(er) er optimalisert og klar til bruk med Biocare-antistoffer og hjelpeagenser. Se bruksanvisningen for det primære antistoffet og andre hjelpeagenser for anbefalte protokoller og bruksbetingelser.
- Følg lokale og/eller statlige myndigheters krav for avhendingsmetode.
- SDS er tilgjengelig på forespørsel og er plassert på <http://biocare.net>.
- Rapporter alle alvorlige hendelser knyttet til denne enheten ved å kontakte den lokale Biocare-representanten og gjeldende kompetente myndighet i medlemsstaten eller landet der brukeren befinner seg.

Instruksjoner for bruk:

Mikropolymerdeteksjonsreagensen(e) er optimalisert og klar til bruk med Biocare-antistoffer og hjelpeagenser. Se bruksanvisningen for det primære antistoffet og andre hjelpeagenser for anbefalte protokoller og bruksbetingelser. Inkubasjonstider og temperaturer vil variere avhengig av den spesifikke antistoffprotokollen som følges.

Når du bruker et automatisert fargeinstrument, se den spesifikke instrumentets brukerhåndbok og bruksanvisning for driftsparametere.

Generelle prosedyretrekk for å utføre IHC:

- Avparafinisering: Avparafiniser objektglassene i Slide Brite eller xylen. Hydrat objektglass i en serie graderte alkoholer til vann.
- Peroxide Block: Blokker i 5 minutter med Peroxidized 1.
- Forbehandlingsløsning/-protokoll: Se det respektive databladet for primær antistoff for anbefalt forbehandlingsløsning og protokoll.
- Avidinblokk: Inkuber i 10-20 minutter ved RT med Biocares Avidin.
- Biotinblokk: Inkuber i 10-20 minutter ved RT med Biocares Biotin.
- Proteinblokk (valgfritt): Inkuber i 10-15 minutter ved romtemperatur (RT) med Background Sniper.
- Primært antistoff: Se det respektive databladet for primær antistoff for inkubasjonstid.

9. Link: Inkuber i 10 minutter ved romtemperatur med 4pluss Biotinylated Link.

10. Etikett: Inkuber i 10-20 minutter ved romtemperatur med 4pluss Streptavidin HRP eller Streptavidin AP Label.

11. Kromogen: Inkuber i 10-20 minutter ved RT med Biocares DAB eller inkuber i 5-7 minutter ved RT med Warp Red.

12. Motfarging: Motfarging med hematoksylin. Skyll med avionisert vann. Påfør Tacha's Blueing Solution i 1 minutt. Skyll med avionisert vann.

Tekniske merknader:

- Bruk TBS til vasketrinn.

Kvalitetskontroll:

Se CLSI kvalitetsstandarder for design og implementering av immunhistokjemianalyser; Godkjent guideline-andre utgave (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁹

Positiv vevskontroll:

Eksternt positivt kontrollmateriale bør være ferske prøver fiksert, behandlet og innebygd så snart som mulig på samme måte som pasientprøven(e). Positive vevskontroller er en indikasjon på korrekt forberedt vev og riktige farge teknikker. Én positiv ekstern vevskontroll for hvert sett med testbetingelser bør inkluderes i hver farging.

Vene som brukes til de eksterne positive kontrollmaterialene bør velges fra pasientprøver med godt karakteriserte lave nivåer av den positive målaktiviteten som gir svak positiv farging. Det lave nivået av positivitet for eksterne positive kontroller er designet for å sikre påvisning av subtile endringer i det primære antistoffsensitiviteten fra ustabilitet eller problemer med IHC-metodikken. Kommersielt tilgjengelige vevskontrollobjektglass eller prøver behandlet annerledes enn pasientprøven(e) validerer bare reagensytelsen og verifiserer ikke vefsforberedelse.

Kjente positive vevskontroller bør kun brukes for å overvåke korrekt ytelse av behandlet vev og testreagenser, i stedet for som en hjelp til å formulere en spesifik diagnose av pasientprøver. Hvis de positive vevskontrollene ikke viser positiv farging, bør resultatene med testprøvene anses som ugyldige.

Negativ vevskontroll:

Bruk en negativ vevskontroll fiksert, behandlet og innebygd på en måte som er identisk med pasientprøven(e) med hver fargekjøring for å verifisere spesifisiteten til det primære IHC-antistoffet for demonstrasjon av målantigenet, og for å gi en indikasjon på spesifik bakgrunnsfarging (falsk positiv farging). Også mangfoldet av forskjellige celletyper som finnes i de fleste vevsnitt kan brukes av laboratoriet som interne negative kontrollsteder for å verifisere IHCs ytelse spesifikasjoner. Typer og kilder til prøver som kan brukes for negativt vev kontrollene er oppført i delen Ytelseskarakteristikk.

Hvis spesifik farging (falsk positiv farging) oppstår i den negative vevskontrollen, bør resultatene med pasientprøvene anses som ugyldige.

Uspesifik negativ reagenskontroll:

Bruk en uspesifik negativ reagenskontroll i stedet for det primære antistoffet med en del av hver pasientprøve for å evaluere uspesifik farging og tillate bedre tolkning av spesifik farging på antigenstedet. Ideelt sett inneholder en negativ reagenskontroll et antistoff produsert og forberedt (dvs. fortynet til samme koncentrasjon ved bruk av samme fortynningsmiddel) for bruk på samme måte som det primære antistoffet, men viser ingen spesifik reaktivitet med humant vev i samme matrise/løsning som Biocare-antistoffet. Fortynningsmiddel alene kan brukes som et mindre ønskelig alternativ til de tidligere beskrevne negative reagenskontrollene.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Norwegian

BIOCARE
MEDICAL

Inkubasjonsperioden for den negative reagenskontrollen skal tilsvare inkubasjonsperioden for det primære antistoffet.

Når paneler med flere antistoffer brukes på seriesnitt, kan de negativ fargede områdene på ett objektglass tjene som en negativ/uspesifikk bindingsbakgrunnskontroll for andre antistoffer. For å skille endogen enzymaktivitet eller uspesifikk binding av enzymer fra spesifikk immunreaktivitet, kan ytterligere pasientvev farges utelukkende med henholdsvis substrat-kromogen eller enzymkompleks (PAP, avidin-biotin, streptavidin) og substrat-kromogen.

Assaybekrefteelse:

Før den første bruken av et antistoff eller fagesystem i en diagnostisk prosedyre, bør brukeren verifisere antistoffets spesifisitet ved å teste det på en serie internt vev med kjente immunhistokjemiske ytelsesegenskaper som representerer kjente positive og negative vev. Se kvalitetskontrollprosedyrene som er skissert tidligere i denne delen av produktvedlegget og til kvalitetskontrollanbefalingene til CAP-sertifiseringsprogrammet¹⁰ for immunhistokjemi og/eller NCCLS IHC-retningslinjen¹¹. Disse kvalitetskontrollprosedyrene bør gjentas for hvert nytt antistofflot, eller når det er en endring i analyseparametere. Vev som er oppført i delen Ytelseskarakteristikk er egnet for analyseverifikasiing.

Feilsøking:

Følg de antistoffspesifikke protokollanbefalingene i henhold til databladet som følger med. Hvis det oppstår atypiske resultater, kontakt Biocares tekniske støtte på 1-800-542-2002.

Tolkning av farging:

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG produserer en brun (HRP) eller rød (AP) fargereaksjon på antigenstede lokalisert av det primære antistoffet. Før tolkning av pasientresultater, må farging av kontroller evalueres av en kvalifisert patolog. Negative kontroller blir evaluert og sammenlignet med fargede objektglass for å sikre at eventuell observert farging ikke er et resultat av uspesifikke interaksjoner.

Positiv vevskontroll:

Den positive vevskontrollen farget med indikert antistoff bør undersøkes først for å sikre at alle reagenser fungerer som de skal. Den passende fargingen av målceller (som angitt ovenfor) indikerer positiv reaktivitet. Hvis de positive vevskontrollene ikke viser positiv farging, bør alle resultater med testprøvene anses som ugyldige.

Fargen på reaksjonsproduktet kan variere avhengig av substratkromogener som brukes. Se pakningsvedlegget til substratet for forventede fargereaksjoner. Videre kan metakromasi observeres i variasjoner av metoden for farging.¹²

Når en motfarging brukes, avhengig av inkubasjonslengden og styrken til motfargen som brukes, vil motfarging resultere i en farging av cellekjernene. Overdreven eller ufullstendig motfarging kan kompromittere riktig tolkning av resultatene. Se protokoll(er) for anbefalt motveis.

Negativ vevskontroll:

Den negative vevskontrollen bør undersøkes etter den positive vevskontrollen for å verifikasi spesifisiteten til merkingen av målantigenet med det primære antistoffet. Fraværet av spesifikk farging i den negative vevskontrollen bekrefter mangelen på antistoffkryssreaktivitet til celler/cellekomponenter. Hvis spesifikk farging (falsk positiv farging) oppstår i den negative eksterne vevskontrollen, bør resultatene med pasientprøvene anses som ugyldige.

Uspesifikk farging, hvis tilstede, har vanligvis et diffust utseende. Sporadisk farging av bindevev kan også observeres i snitt fra formalinfiksert vev. Bruk

intakte celler for tolkning av fargeresultater. Nekrotiske eller degenererte celler farger ofte uspesifikt.

Pasientvev:

Undersök pasientprøver farget med indikert antistoff siste. Positiv fargingsintensitet bør vurderes i sammenheng med enhver uspesifikk bakgrunnsfarging av den negative reagenskontrollen. Som med enhver immunhistokjemisk test betyr et negativt resultat at antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet var fraværende i cellene/vevet som ble analysert. Om nødvendig, bruk et panel med antistoffer for å identifisere falske negative reaksjoner.

Se sammendrag og forklaring, begrensninger og ytelsesegenskaper for spesifikk informasjon om indikert antistoffimmunreaktivitet.

Begrensninger:

Generelle begrensninger:

1. Til *in vitro* diagnostisk (IVD) bruk
2. Dette produktet er kun for profesjonell bruk: Immunhistokjemi er en flertrinns diagnostisk prosess som består av spesialisert opplæring i valg av passende reagenser; vevseleksjon, fiksering og prosessering; klargjøring av IHC-glasset; og tolkning av fargeresultatene.
3. Kun til bruk etter resept fra lege. (Kun Rx)
4. Vevsfarging er avhengig av håndtering og bearbeiding av vevet før farging. Feil fiksering, frysing, tining, vasking, tørking, oppvarming, seksjonering eller kontaminering med andre vev eller væsker kan produsere artefakter, antistofffanger eller falske negative resultater. Inkonsekvente resultater kan skyldes variasjoner i fikserings- og innstøppingsmetoder, eller iboende uregelmessigheter i vevet.¹³
5. Overdreven eller ufullstendig motfarging kan kompromittere riktig tolkning av resultatene.
6. Den kliniske tolkningen av enhver positiv eller negativ farging bør evalueres i sammenheng med klinisk presentasjon, morfologi og andre histopatologiske kriterier. Den kliniske tolkningen av enhver positiv eller negativ farging bør kompletteres med morfologiske studier som bruker riktige positive og negative interne og eksterne kontroller samt andre diagnostiske tester. Det er ansvaret til en kvalifisert patolog som er kjent med riktig bruk av IHC-antistoffer, reagenser og metoder for å tolke alle trinnene som brukes til å forberede og tolke det endelige IHC-preparatet.
7. De optimale protokollene for en spesifikk applikasjon kan variere. Disse inkluderer, men er ikke begrenset til, fiksering, varmehentingsmetode, inkubasjonstider, antistofffortynning, vevsnitttykkelse og deteksjonssett som brukes. Se bruksanvisningen for det primære antistoffet og andre hjelpe reagenser for anbefalte protokoller og bruksbetingelser. Databladanbefalingene og protokollene er basert på eksklusiv bruk av Biocare-produkter. Til syvende og sist er det etterforskerens ansvar å bestemme optimale forhold.
8. Dette produktet er ikke beregnet for bruk i flowcytometri. Ytelseskarakteristikker er ikke bestemt for flowcytometri.
9. Vev fra personer infisert med hepatitt B-virus og som inneholder hepatitt B-overflateantigen (HBsAg) kan vise uspesifikk farging med pepperrotperoksidase.¹⁴
10. Reagenser kan vise uventede reaksjoner i tidligere ikke-testet vev. Muligheten for uventede reaksjoner selv i testede vevsgrupper kan ikke elimineres fullstendig på grunn av biologisk variasjon av antigenekspresjon i neoplasmer eller annet patologisk vev.¹⁵ Kontakt Biocares tekniske støtte på 1-800-542-2002, eller via den tekniske støtteinformasjonen gitt på biocare.net, med dokumenterte uventede reaksjoner.
11. Normal/ikke-immune sera fra samme dyrekilde som sekundære antisera brukt i blokkeringstrinn kan forårsake falskt negativ eller falskt positive resultater på grunn av autoantistoffer eller naturlige antistoffer.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Norwegian

BIOCARE
MEDICAL

12. Falsk-positive resultater kan sees på grunn av ikke-immunologisk binding av proteiner eller substratreaksjonsprodukter. De kan også være forårsaket av pseudoperoksidaseaktivitet (erytrocyter), endogen peroksidaseaktivitet (cytokeram C) eller endogent biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) avhengig av typen immunfarging som brukes.^{1,3}
13. Et negativt resultat betyr at antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet var fraværende i cellene eller vevet som ble undersøkt.

Produktspesifikke begrensninger:

Ingen ytterligere produktspesifikke begrensninger.

Ytelsesegenskaper:

Farging ble utført ved bruk av protokoller gitt i de antistoffspesifikke bruksanvisningene eller som spesifisert. Sensitiviteten og spesifisiteten til farging ble evaluert på tvers av en rekke normale og neoplastiske vevstyper evaluert under utvikling av primære antistoffer.

Reproduserbarhet:

Reproduserbarheten til Biocares deteksjonssystemer og systemreagenser verifiseres gjennom en måling av middels presisjon der ulike reagenspartier ble testet over en lengre tidsperiode ved bruk av ulike operatører, analytikere, reagenslots, vevsprøver og utstyr. Fargingen oppnådd for hver deteksjonsreagens som ble evaluert var konsistent og utført som forventet.

9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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 Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

Feilsøking:

1. Ingen farging av noen objektglass – Kontroller for å fastslå at det er brukt passende positivt kontrollvev, antistoff og deteksjonsprodukter. Se etter ufullstendig eller feil fjerning av voks eller forbehandling.
2. Svak farging av alle objektglass – Kontroller for å fastslå at det er brukt passende positivt kontrollvev, antistoff og deteksjonsprodukter.
3. Overdreven bakgrunn av alle lysbildene - Det kan være høye nivåer av endogent biotin (hvis du bruker biotinbaserte deteksjonsprodukter), endogen HRP-aktivitet som konverterer kromogen til farget sluttprodukt (bruk peroksidaseblokk), eller overflødig ikke-spesifikk proteininteraksjon (bruk et protein blokk, for eksempel serum- eller kaseinbasert blokkeringsløsning).
4. VevssekSJONER vasker av objektglass under inkubering – Sjekk objektglassene for å sikre at de er positivt ladet.
5. Spesifikk farging for mørk – Sjekk protokollen for å finne ut om riktig antistofftittel ble brukt på objektglasset, samt riktige inkubasjonstider for alle reagenser. Sørg i tillegg for at protokollen har nok vasketrinn til å fjerne overflødig reagens etter at inkubasjonstrinnene er fullført.

Referanser:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

82/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Polish

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Przeznaczenie:

Dla *in vitro* Zastosowanie diagnostyczne

Biotynylowana kozia anty-mysia IgG 4plus jest przeznaczona do stosowania w ręcznych lub automatycznych protokołach barwienia immunohistochemicznego (IHC) przy użyciu dwuetapowej metody aplikacji peroksydazy chrzanowej (HRP) lub fosfatazy alkalicznej (AP) koniugatu streptawidyny. To wykrywanie koniugatu streptawidyny jest przeznaczone do wykrywania mysich pierwotnych przeciwciał IgG związań z docelowymi抗原ami w tkankach utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie (FFPE) podczas procesu barwienia IHC. Kliniczną interpretację jakiegokolwiek zabarwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi i właściwymi kontrolami oraz ocenić w kontekście historii klinicznej pacjenta i innych badań diagnostycznych przez wykwalifikowanego patologa.

Podsumowanie i wyjaśnienie:

The4plus Biotynylowane kozie przeciwciała przeciwko mysim IgG zostało zaprojektowane przy użyciu dwuetapowej metody wykrywania mysich przeciwciał pierwotnych w celu utworzenia kompleksu przeciwciało-enzym. Kompleks ten następnie wizualizuje się przy użyciu odpowiedniego substratu/chromogenu. W metodzie dwuetapowej przeciwciało drugorzędowe poddaje się biotynylacji i po kolej podaje się dodatkową streptawidynę znakowaną enzymem. Metoda dwuetapowa ma na celu wzmacnienie wykrywania w przypadku抗原ów wykazujących niską ekspresję.

To biotynylowane przeciwciało reaguje z łańcuchami cięzkimi i lekkimi mysie IgG. Jest adsorbowany przez konie, bydło i ludzi. Reaguje ze wszystkimi podklasami mysiego IgG i mysim IgM. Został oczyszczony za pomocą powinowactwa przy minimalnej reakcji krzyżowej z białkami surowicy ludzkiej, bydlęcej i konijskiej. Pomiędzy biotyną a przeciwciałem drugorzędowym umieszczone długie ramię dystansujące, aby zwiększyć czułość w połączeniu z koniugatami streptawidyny. Biotynylowane kozie przeciwciało anty-mysie IgG 4plus można stosować z systemami wykrywania peroksydazy chrzanowej streptawidyny lub streptawidyny fosfatazy alkalicznej.

Zasada postępowania:

Ten zestaw do wykrywania mikropolimerów można stosować w badaniach immunohistochemicznych skrawków tkanek utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie. Ogólnie rzecz biorąc, immunohistochemiczne (IHC) techniki barwienia pozwalają na wizualizację抗原ów poprzez sekwencyjne nakładanie a swoiste przeciwciało wtórne przeciwciało przeciwciało pierwotnemu (opcjonalnie przeciwciało łączace/sonda), kompleks enzymatyczny i substrat chromogenowy z nałożonymi na siebie etapami przemywania. Enzymatyczna aktywacja chromogenu powoduje powstanie widocznego produktu reakcji w miejscu抗原u. Następnie próbki można wybarwić kontrastowo i zamknąć szkiełkiem nakrywkowym. Wyniki interpretuje się za pomocą światła mikroskopu i pomoc w diagnostyce różnicowej procesów patofizjologicznych, które mogą lub mogą nie być powiązane z konkretnym抗原em.

Materiały i metody:

Dostarczone odczynniki:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Rekonstytucja, mieszanie, rozcieńczanie, miareczkowanie:

Odczynniki zestawu do wykrywania na bazie streptawidyny są zoptymalizowane i gotowe do użycia z przeciwciałami Biocare i odczynnikami pomocniczymi. Nie jest wymagana rekonstytucja, mieszanie, rozcieńczanie ani miareczkowanie.

Znane zastosowania:

Immunohistochemia (tkanki utrwalone w formalinie i zatopione w parafinie)

Reaktywność gatunku:

Łańcuchy cięźkie i lekkie mysiego IgG

Dostarczane jako:

Buforowany roztwór soli fizjologicznej o pH 7,2-7,4, zawierający nośnik białkowy i poniżej 0,01% ProClin 300 i/lub poniżej 0,5% ProClin 950 jako środek konserwujący. Dodatkowe szczegóły znajdują się w Karcie Charakterystyki.

Materiały i odczynniki potrzebne, ale niedostarczane:

Szkiełka mikroskopowe, nałożowane dodatnio

Pozytywne i negatywne kontrole tkanek

Komora pustynna* lub podobna Suszarka (opcjonalnie)

Ksylen lub substytut ksylenu

Etanol lub alkohol odczynnikowy

Komora usuwania maskowania* lub podobna szybkowar (opcjonalnie)

Woda dejonizowana lub destylowana

Bufor płuczący*

Odczynniki do obróbki wstępnej* (opcjonalnie)

Trawienie enzymatyczne* (opcjonalnie)

Blok peroksydazy*

Blok proteinowy* (opcjonalnie)

Zestaw blokujący avidynę i biotynę

Przeciwciało pierwotne*

Etykietka streptawidyny*

Odczynniki do kontroli negatywnej*

Chromogeny*

Hematoksylin* (barwnik kontrastowy)

Odczynnik niebieszczący*

Środek montażowy*

Szklana pokrywa

Mikroskop świetlny (powiększenie 40-400X)

* Produkty medyczne Biocare: Informacje dotyczące numerów katalogowych i sposobu zamawiania znajdują się na stronie internetowej Biocare Medical pod adresem <http://biocare.net>. Niektóre odczynniki wymienione powyżej zależą od konkretnego zastosowania i zastosowanego systemu detekcji.

Przechowywanie i stabilność:

Przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C. Produkt jest stabilny do daty ważności podanej na etykiecie fiołki, jeśli jest przechowywany w tych warunkach. Nie stosować po upływie terminu ważności. Należy zweryfikować przechowywanie w warunkach innych niż określone. Odczynniki zestawu są gotowe do użycia i nie należy ich rozcieńczać. Stabilność odczynnika rozcieńczonego przez użytkownika nie została ustalona przez firmę Biocare.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Polish

BIOCARE
MEDICAL

Kontrole dodatnie i ujemne należy oznaczyć jednocześnie ze wszystkimi próbками od pacjentów. W przypadku zaobserwowania nieoczekiwanej zabarwienia, którego nie można wyjaśnić różnicami w procedurach laboratoryjnych i jeśli podejrzewa się problem z przeciwciałem, należy skontaktować się z działem pomocy technicznej firmy Biocare pod numerem 1-800-542-2002 lub za pośrednictwem informacji pomocy technicznej dostępnych na stronie biocare.net.

Przygotowanie próbki:

Chusteczki utrwalone w formalinie nadają się do użycia przed zatapianiem w parafinie. Tkanki kostne należy odwapnić przed obróbką tkanki, aby ułatwić przecięcie tkanki i zapobiec uszkodzeniu ostrzy mikromotu.^{1,2}

Prawidłowo utrwalone i zatopione tkanki wyrażające określony docelowy抗原 należy przechowywać w chłodnym miejscu. Ustawa o doskonaleniu laboratoriów klinicznych (CLIA) z 1988 r. wymaga 42 CFR§493.1259(b), że „Laboratorium musi przechowywać wybarwione preparaty przez co najmniej dziesięć lat od daty badania i przechowuje bloki próbek przez co najmniej dwa lata od daty badania.”³

Obróbka tkanek przed barwieniem:

Wykonaj indukowane ciepłem pobieranie epitopów (HIER) zgodnie z zalecanym protokołem poniżej. Wykazano, że rutynowe stosowanie HIER przed IHC minimalizuje niespójności i standaryzuje barwienie.^{4,5}

Ostrzeżenia i środki ostrożności:

1. Odczynniki zestawu zawierają mniej niż <0,05% ProClin 300 i/lub mniej niż 1% 950>. Nosić rękawice i odzież ochronną oraz zachować odpowiednie środki ostrożności podczas obsługi, ponieważ ProClin jest klasyfikowany jako substancja drażniąca i może powodować uczulenie w kontakcie ze skórą. Unikać kontaktu z oczami, skórą i błonami śluzowymi.
2. Postępuj z materiałami pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego jako potencjalnie niebezpiecznymi biologicznie i utylizuj je z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności. W przypadku narażenia należy postępować zgodnie z wytycznymi zdrowotnymi właściwych władz w miejscu stosowania.^{6,7}
3. Z próbkami przed i po utrwalaniu oraz ze wszystkimi materiałami, które miały z nimi kontakt, należy postępować tak, jakby mogły przenosić infekcję, i usuwać je z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności. Nigdy nie pipetować odczynników ustami i unikać kontaktu odczynników i próbek ze skórą i błonami śluzowymi. Jeżeli odczynniki lub próbki wejdą w kontakt z wrażliwymi miejscami, należy je przemyć dużą ilością wody.⁸
4. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne odczynników może skutkować zwiększeniem nieswoistego barwienia.
5. Czasy inkubacji lub temperatury inne niż podane mogą dawać błędne wyniki. Użytkownik musi zatwierdzić każdą taką zmianę.
6. Nie używać odczynnika po upływie daty ważności wydrukowanej na fiole.
7. Odczynniki zestawu do wykrywania mikropolimerów są zoptymalizowane i gotowe do użycia z przeciwciałami Biocare i odczynnikami pomocniczymi. Aby zapoznać się z zalecanymi protokołami i warunkami stosowania, należy zapoznać się z instrukcją użycia przeciwciała głównego i innych odczynników pomocniczych.
8. Postępuj zgodnie z wymogami władz lokalnych i/lub stanowych dotyczącymi metody utylizacji.
9. Karta charakterystyki jest dostępna na żądanie i znajduje się pod adresem <http://biocare.net>.
10. Zgłaszać wszelkie poważne zdarzenia związane z tym urządzeniem, kontaktując się z lokalnym przedstawicielem firmy Biocare i właściwymi władzami państwa członkowskiego lub kraju, w którym przebywa użytkownik.

Instrukcja użycia:

Odczynniki zestawu do wykrywania mikropolimerów są zoptymalizowane i gotowe do użycia z przeciwciałami Biocare i odczynnikami pomocniczymi. Aby

zapoznać się z zalecanymi protokołami i warunkami stosowania, należy zapoznać się z instrukcją użycia przeciwciała głównego i innych odczynników pomocniczych. Czasy i temperatury inkubacji będą się różnić w zależności od stosowanego protokołu konkretnego przeciwciała.

W przypadku korzystania z automatycznego urządzenia do barwienia należy zapoznać się z instrukcją obsługi konkretnego urządzenia i instrukcją obsługi dotyczącą parametrów operacyjnych.

Ogólne kroki proceduralne dotyczące wykonywania IHC:

1. Odparafinowanie: Odparafinuj szkiełka w Slide Brite lub ksylenie. Uwodnij szkiełka szeregiem stopniowanych alkoholi do wody.
2. Blok nadtlenkowy: Blokuj na 5 minut środkiem Peroksydowanym 1.
3. Roztwór/protokół do leczenia wstępnego: Proszę zapoznać się z odpowiednią kartą charakterystyki przeciwciała pierwotnego, aby zapoznać się z zalecanym roztworem do leczenia wstępnego i protokołem.
5. Blok awidyny: Inkubować przez 10-20 minut w temperaturze pokojowej z awidyną firmy Biocare.
6. Blok biotyny: Inkubować przez 10-20 minut w temperaturze pokojowej z biotyną firmy Biocare.
7. Blok białkowy (opcjonalnie): Inkubować przez 10-15 minut w temperaturze pokojowej (RT) za pomocą tła Sniper.
8. Przeciwciało pierwotne: Czas inkubacji znajduje się w odpowiedniej karcie danych przeciwciała pierwotnego.
9. Łącze: Inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej z biotynolowanym łączem 4plus.
10. Etykieta: Inkubować przez 10-20 minut w temperaturze pokojowej z etykietą 4plus Streptavidin HRP lub Streptavidin AP Label.
11. Chromogen: Inkubować przez 10-20 minut w temperaturze pokojowej z DAB firmy Biocare lub inkubować przez 5-7 minut w temperaturze pokojowej z Warp Red.
12. Barwienie kontrastowe: Barwienie kontrastowe hematoksyną. Spłucz wodą dejonizowaną. Zastosuj roztwór Bluing Solution firmy Tacha na 1 minutę. Spłucz wodą dejonizowaną.

Uwagi techniczne:

1. Do mycia użyj TBS.

Kontrola jakości:

Patrz Standardy jakości CLSI dotyczące projektowania i wdrażania testów immunohistochemicznych; Zatwierdzone wytyczne – wydanie drugie (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA, USA (www.clsi.org). 2011⁹

Pozytywna kontrola tkanek:

Materiałami zewnętrzną kontroli pozytywnej powinny być świeże próbki utrwalone, przetworzone i zatopione tak szybko, jak to możliwe, w taki sam sposób, jak próbki pacjenta. Pozytywne kontrole tkanek wskazują na prawidłowo przygotowane tkanki i odpowiednie techniki barwienia. Do każdego cyklu barwienia należy włączyć jedną pozytywną zewnętrzną kontrolę tkanek dla każdego zestawu warunków testowych.

Tkanki stosowane w materiałach zewnętrznej kontroli pozytywnej należy wybierać spośród próbek pacjentów o dobrze scharakteryzowanym niskim poziomie dodatniej aktywności docelowej, która powoduje słabe dodatnie barwienie. Niski poziom dodatniości zewnętrznych kontroli pozytywnych zaprojektowano tak, aby zapewnić wykrycie subtelnych zmian we wrażliwości przeciwciała pierwotnego wynikających z niestabilności lub problemów z metodologią IHC. Dostępne w handlu szkiełka do kontroli tkanek lub próbki przetworzone inaczej niż próbki pacjenta potwierdzają jedynie działanie odczynnika i nie weryfikują przygotowania tkanki.

Znane pozytywne kontrole tkankowe należy wykorzystywać wyłącznie do monitorowania prawidłowego działania przetworzonych tkanek i

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Polish

BIOCARE
MEDICAL

odczynników testowych, a nie jako pomoc w formułowaniu konkretnej diagnozy próbek od pacjentów. Jeżeli dodatnie kontrole tkankowe nie wykażą dodatniego barwienia, wyniki uzyskane dla próbek testowych należy uznać za nieważne.

Negatywna kontrola tkankowa:

Użyj negatywnej kontroli tkankowej utrwalonej, przetworzonej i zatopionej w sposób identyczny z próbką(-ami) pacjenta przy każdym barwieniu, aby zweryfikować specyficzność przeciwciała pierwotnego IHC dla demonstracji docelowego antygenu i dostarczenie wskazania specyficznego barwienia tła (barwienie fałszywie dodatnie). Również różnorodność różnych typów komórek obecnych w większości skrawków tkanek może to powodować być wykorzystywane przez laboratorium jako wewnętrzne miejsca kontroli negatywnej w celu sprawdzenia działania IHC specyfikacji. Rodzaje i źródła próbek, które można wykorzystać do badania tkanek ujemnych elementy sterujące są wymienione w sekcji Charakterystyka wydajności.

Jeżeli w negatywnej kontroli tkankowej wystąpi specyficzne zabarwienie (fałszywie dodatnie zabarwienie), wyniki uzyskane na próbках pacjentów należy uznać za nieważne.

Nieswoista kontrola ujemna odczynnika:

Do wycinka każdej próbki pacjenta należy zastosować nieswoistą kontrolę ujemną z odczynnikiem zamiast przeciwciała pierwotnego w celu oceny nieswoistego barwienia i pozwalać na lepszą interpretację specyficznego barwienia w miejscu antygenu. W idealnym przypadku kontrola ujemna odczynnika zawiera przeciwciało wytworzone i przygotowane (tj. rozcieńczone do tego samego stężenia przy użyciu tego samego rozcieńczalnika) do użycia w taki sam sposób jak przeciwciało pierwszorzędowe, ale nie wykazuje specyficznej reaktywności z tkankami ludzkimi w tej samej matrycy/roztwórce co przeciwciało Biocare. Można zastosować sam rozcieńczalnik jako mniej pożądaną alternatywę dla opisanych wcześniej kontroli ujemnych z odczynnikami. Okres inkubacji kontroli ujemnej odczynnika powinien odpowiadać okresowi inkubacji przeciwciała pierwszorzędowego.

Jeżeli w skrawkach seryjnych stosuje się panele kilku przeciwciał, obszary jednego szkiełka barwiące się negatywnie mogą służyć jako ujemna/nieswoiste wiążąca kontrola tła dla innych przeciwciał. Aby odróżnić endogenną aktywność enzymatyczną lub nieswoiste wiązanie enzymów od swoistej immunoreaktywności, dodatkowe tkanki pacjenta można wybarwić wyłącznie odpowiednio substratem-chromogenem lub kompleksami enzymatycznymi (PAP, awidyna-biotyna, streptawidyna) i substratem-chromogenem.

Weryfikacja testu:

Przed pierwszym użyciem przeciwciała lub systemu barwienia w procedurze diagnostycznej użytkownik powinien zweryfikować specyficzność przeciwciała, testując je na szeregu własnych tkanek o znanej charakterystyce działania immunohistochemicznego, reprezentujących znane tkanki dodatnie i ujemne. Należy zapoznać się z procedurami kontroli jakości opisanymi wcześniej w tej części ulotki produktu oraz z zaleceniami dotyczącymi kontroli jakości Programu certyfikacji CAP¹⁰ do immunohistochemii i/lub wytyczne NCCLS IHC¹¹. Te procedury kontroli jakości należy powtarzać dla każdej nowej partii przeciwciała lub za każdym razem, gdy nastąpi zmiana parametrów testu. Tkanki wymienione w sekcji Charakterystyka działania nadają się do weryfikacji testu.

Rozwiązywanie problemów:

Postępuj zgodnie z zaleceniami dotyczącymi protokołu dotyczącymi specyficznych przeciwciał, zgodnie z dostarczoną kartą katalogową. W przypadku wystąpienia nietypowych wyników należy skontaktować się z pomocą techniczną firmy Biocare pod numerem 1-800-542-2002.

Interpretacja barwienia:

Biotyniwowała koza anty-mysia IgG 4plus powoduje brązową (HRP) lub czerwoną (AP) reakcję zabarwioną w miejscach antygenu zlokalizowanych przez przeciwciało pierwszorzędowe. Przed interpretacją wyników pacjenta barwienie kontroli musi zostać ocenione przez wykwalifikowanego patologa. Kontrole negatywne są oceniane i porównywane z wybarwionymi szkiełkami, aby upewnić się, że zaobserwowane zabarwienie nie jest wynikiem nieswoistych interakcji.

Pozytywna kontrola tkanek:

Najpierw należy zbadać pozytywną kontrolę tkankową barwioną wskazanym przeciwciałem, aby upewnić się, że wszystkie odczynniki działają prawidłowo. Odpowiednie barwienie komórek docelowych (jak wskazano powyżej) wskazuje na dodatnią reaktywność. Jeżeli dodatnie kontrole tkanek nie wykażą dodatniego barwienia, wszelkie wyniki uzyskane dla próbek testowych należy uznać za nieważne.

Kolor produktu reakcji może się różnić w zależności od użytego chromogenu substratu. Informacje na temat oczekiwanych reakcji kolorystycznych można znaleźć w ulotkach dołączonych do podłoża. Ponadto metachromację można zaobserwować w odmianach metody barwienia.¹²

W przypadku stosowania barwnika kontrastowego, w zależności od długości inkubacji i siły użytego barwnika kontrastowego, barwienie kontrastowe spowoduje zabarwienie jąder komórkowych. Nadmierne lub niepełne barwienie kontrastowe może zakłócić prawidłową interpretację wyników. Zalecane barwienie kontrastowe znajduje się w protokołach.

Negatywna kontrola tkanek:

Negatywną kontrolę tkankową należy zbadać po dodatniej kontroli tkankowej, aby zweryfikować specyficzność znakowania docelowego antygenu przez przeciwciało pierwszorzędowe. Brak swoistego barwienia w negatywnej kontroli tkankowej potwierdza brak reaktywności krzyżowej przeciwciała w stosunku do komórek/składników komórkowych. Jeżeli w ujemnej zewnętrznej kontroli tkanek wystąpi specyficzne zabarwienie (fałszywie dodatnie zabarwienie), wyniki uzyskane dla próbki pacjenta należy uznać za nieważne.

Nieswoiste zabarwienie, jeśli występuje, zwykle ma charakter rozproszony. Sporadyczne zabarwienie tkanki łącznej można również zaobserwować w skrawkach tkanek nadmiernie utrwalonych w formalinie. Do interpretacji wyników barwienia należy używać nienaruszonych komórek. Komórki martwicze lub zdegenerowane często barwią się nieswoistnie.

Tkanka pacjenta:

Zbadaj próbki pacjentów wybarwione wskazanymi przeciwciałami ostatni. Intensywność barwienia dodatniego należy oceniać w kontekście wszelkich nieswoistych barwień tła kontroli negatywnej z odczynnikiem. Podobnie jak w przypadku każdego testu immunohistochemicznego, wynik ujemny oznacza, że antygen nie został wykryty, a nie, że antygen był nieobecny w testowanych komórkach/tkance. Jeśli to konieczne, użyj panelu przeciwciał w celu zidentyfikowania reakcji fałszywie ujemnych.

Aby uzyskać szczegółowe informacje dotyczące wskazanej immunoreaktywności przeciwciała, patrz Podsumowanie i wyjaśnienia, ograniczenia i charakterystyka działania.

Ograniczenia:

Ogólne ograniczenia:

1. Dla *in vitro* zastosowanie diagnostyczne (IVD).
2. Ten produkt jest przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego: Immunohistochemia to wieloetapowy proces diagnostyczny, który obejmuje specjalistyczne szkolenie w zakresie doboru odpowiednich

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Polish

BIOCARE
MEDICAL

- odczynników; wybór tkanki, utrwalanie i przetwarzanie; przygotowanie szkiełka IHC; i interpretację wyników barwienia.
3. Do stosowania wyłącznie na receptę lekarza. (Tylko odbiór)
 4. Barwienie tkanek zależy od sposobu postępowania z tkanką i jej obróbki przed barwieniem. Niewłaściwe utrwalanie, zamrażanie, rozmrażanie, mycie, suszenie, podgrzewanie, dzielenie na skrawki lub zanieczyszczenie innymi tkankami lub płynami może spowodować artefakty, uwieńczenie przeciwcała lub wyniki fałszywie ujemne. Niespójne wyniki mogą wynikać z różnic w metodach utrwalania i osadzania lub z nieodłącznych nieprawidłowości w tkance.¹³
 5. Nadmierne lub niepełne barwienie kontrastowe może zakłócić prawidłową interpretację wyników.
 6. Kliniczną interpretację każdego dodatniego lub ujemnego zabarwienia należy ocenić w kontekście obrazu klinicznego, morfologii i innych kryteriów histopatologicznych. Kliniczną interpretację każdego dodatniego lub ujemnego zabarwienia należy uzupełnić badaniami morfologicznymi z zastosowaniem odpowiednich pozytywnych i negatywnych kontroli wewnętrznych i zewnętrznych, a także innych testów diagnostycznych. Za interpretację wszystkich etapów przygotowania i interpretacji końcowego preparatu IHC odpowiada wykwalifikowany patolog, który jest zazajomiony z właściwym użyciem przeciwcała IHC, odczynników i metod.
 7. Optymalne protokoły dla konkretnego zastosowania mogą się różnić. Należą do nich między innymi utrwalanie, metoda odzyskiwania ciepła, czas inkubacji, rozcieńczenie przeciwcała, grubość skrawków tkanki i zastosowany zestaw do wykrywania. Aby zapoznać się z zalecanymi protokołami i warunkami stosowania, należy zapoznać się z instrukcją użycia przeciwcała głównego i innych odczynników pomocniczych. Zalecenia i protokoły zawarte w arkuszach danych opierają się na wyjątkowym stosowaniu produktów Biocare. Ostatecznie zadaniem badacza jest określenie optymalnych warunków.
 8. Ten produkt nie jest przeznaczony do stosowania w cytometrii przepływowej. Charakterystyki działania nie zostały określone dla cytometrii przepływowej.
 9. Tkanki osób zakażonych wirusem zapalenia wątroby typu B i zawierające antigen powierzchniowy wirusa zapalenia wątroby typu B (HBsAg) mogą wykazywać niespecyficzne barwienie peroksydazą chrzonową.¹⁴
 10. Odczynniki mogą wykazywać nieoczekiwane reakcje w wcześniej nietestowanych tkankach. Nie można całkowicie wyeliminować możliwości wystąpienia nieoczekiwanych reakcji nawet w badanych grupach tkanek ze względu na biologiczną zmienność ekspresji抗原ów w nowotworach lub innych tkankach patologicznych.¹⁵ Skontaktuj się z pomocą techniczną firmy Biocare pod numerem 1-800-542-2002 lub za pośrednictwem informacji pomocy technicznej dostępnych na stronie biocare.net, podając udokumentowane nieoczekiwane reakcje.
 11. Surowice normalne/nieimmunologiczne pochodzące z tego samego źródła zwierzęcego, co surowice wtórne stosowane na etapach blokowania, mogą dawać wyniki fałszywie ujemne lub fałszywie dodatnie ze względu na obecność autoprzeciwała lub przeciwcała naturalnych.
 12. Wyniki fałszywie dodatnie mogą wystąpić w wyniku nieimmunologicznego wiązania białek lub produktów reakcji substratu. Mogą być również spowodowane aktywnością pseudoperoksydazy (erytrocity), endogenną aktywnością peroksydazy (cytochrom C) lub endogenną biotyną (np. wątroba, piersią, mózg, nerki), w zależności od rodzaju użytego barwnika immunologicznego.¹³
 13. Wynik ujemny oznacza, że抗原 nie został wykryty, a nie, że抗原u nie było w badanych komórkach lub tkankach.

Barwienie przeprowadzono przy użyciu protokołów dostarczonych w instrukcjach użycia specyficznych dla przeciwcała lub zgodnie z wyszczególnieniem. Czułość i swoistość barwienia oceniano w szeregu typów tkanek prawidłowych i nowotworowych ocenianych podczas opracowywania przeciwcała pierwotnych.

Powtarzalność:

Powtarzalność systemów detekcyjnych i odczynników systemowych firmy Biocare jest weryfikowana poprzez pomiar o średniej precyzyji, podczas którego testowano różne partie odczynników przez dłuższy okres czasu przy użyciu różnych operatorów, analityków, partii odczynników, próbek tkanek i sprzętu. Barwienie uzyskane dla każdego ocenianego odczynnika wykrywającego było spójne i przeprowadzone zgodnie z oczekiwaniemi.

Rozwiązywanie problemów:

1. Brak barwienia jakichkolwiek szkiełek – sprawdzić, czy użyto odpowiedniej tkanki kontroli pozytywnej, przeciwcała i produktów do wykrywania. Sprawdź, czy wosk nie został całkowicie lub nieprawidłowo usunięty lub nie został poddany obróbce wstępnej.
2. Słabe barwienie wszystkich preparatów – sprawdzić, czy użyto odpowiedniej tkanki kontroli pozytywnej, przeciwcała i produktów do wykrywania.
3. Nadmierne tło wszystkich preparatów – może występować wysoki poziom endogennej biotyny (w przypadku stosowania produktów do wykrywania na bazie biotyny), endogenna aktywność HRP przekształcająca chromogen w kolorowy produkt końcowy (użyj bloku peroksydazy) lub nadmierne niespecyficzne interakcje białek (użyj białka bloker, taki jak roztwór blokujący na bazie surowicy lub kazeiny).
4. Skrawki tkanek zmywają szkiełka podczas inkubacji – Sprawdź szkiełka, aby upewnić się, że są naładowane dodatnio.
5. Specyficzne barwienie jest zbyt ciemne – Sprawdź protokół, aby ustalić, czy do szkiełka nałożono właściwe miano przeciwcała, a także czy określono właściwy czas inkubacji dla wszystkich odczynników. Ponadto należy upewnić się, że protokół zawiera wystarczającą liczbę etapów płukania, aby usunąć nadmiar odczynników po zakończeniu etapów inkubacji.

Bibliografia:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.

Ograniczenia specyficzne dla produktu:

Brak dodatkowych ograniczeń specyficznych dla produktu.

Charakterystyka wydajności:

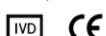
 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

86/116



4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Polish

BIOCARE
M E D I C A L

11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. *Histochemistry* 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. *Lab Med* 1983; 14:767.
14. 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 Path* 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfent EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Portuguese

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Uso pretendido:

Paraem *vitro* Uso de diagnóstico

O 4plus Biotinilado Goat Anti-Mouse IgG destina-se ao uso em protocolos de coloração imuno-histoquímica (IHC) manuais ou automatizados usando um método de aplicação em duas etapas com peroxidase de rábano silvestre (HRP) ou fosfatase alcalina (AP) conjugada com estreptavidina. Esta detecção de conjugado de estreptavidina foi projetada para a detecção de anticorpos primários IgG de camundongo ligados a抗igenos alvo em tecidos fixados em formalina e embebidos em parafina (FFPE) durante o processo de coloração IHC. A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos e controles adequados e deve ser avaliada no contexto da história clínica do paciente e de outros testes de diagnóstico por um patologista qualificado.

Resumo e explicação:

O 4plus IgG anti-rato de cabra biotiniladofoi projetado usando um método de duas etapas para detectar anticorpos primários de camundongo para formar um complexo anticorpo-enzima. Este complexo é então visualizado usando um substrato/cromógeno apropriado. No método de duas etapas, o anticorpo secundário é biotinilado e uma estreptavidina marcada com enzima adicional é aplicada sequencialmente. O método de duas etapas foi projetado para amplificar a detecção em casos de抗igenos de baixa expressão. Este anticorpo biotinilado reage com cadeias pesadas e leves de IgG de camundongo. É adsorvido contra cavalos, bovinos e humanos. Ele reage com todas as subclasses de IgG de camundongo e IgM de camundongo. Foi purificado por afinidade com reação cruzada mínima com proteínas de soro humano, bovino e de cavalo. Um longo braço espaçador foi posicionado entre a biotina e o anticorpo secundário, para aumentar a sensibilidade quando acoplado a conjugados de estreptavidina. 4plus IgG anti-rato de cabra biotinilado pode ser usado com sistemas de detecção de estreptavidina peroxidase de rábano ou estreptavidina fosfatase alcalina.

Princípio do Procedimento:

Este kit de detecção de micropolímero pode ser usado em testes imuno-histoquímicos de secções de tecido fixadas em formalina e embebidas em parafina. Em geral, imuno-histoquímica (IHQ) técnicas de coloração permitem a visualização de抗igenos através da aplicação sequencial de um anticorpo específico para o抗igeno (anticorpo primário), um anticorpo secundário para o anticorpo primário (ligação anticorpo/sonda opcional), um complexo enzimático e um substrato cromogênico com etapas de lavagem interpostas. A ativação enzimática do cromogênio resulta em um produto de reação visível no local do抗igeno. A amostra pode então ser contrastada e coberta com lamínula. Os resultados são interpretados usando uma luz microscópica e auxiliar no diagnóstico diferencial de processos fisiopatológicos, que podem ou pode não estar associado a um抗igeno específico.

Materiais e métodos:

Reagentes fornecidos:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Reconstituição, mistura, diluição, titulação:

Os reagentes do kit de detecção à base de estreptavidina são otimizados e prontos para uso com anticorpos Biocare e reagentes auxiliares. Não é necessária reconstituição, mistura, diluição ou titulação.

Aplicações conhecidas:

Imunohistoquímica (tecidos fixados em formalina e embebidos em parafina)

Reatividade da espécie:

Cadeias pesadas e leves de IgG de camundongo

Fornecido como:

Solução salina tamponada, pH 7,2-7,4, contendo um transportador de proteína e menos de 0,01% de ProClin 300 e/ou menos de 0,5% de ProClin 950 como conservante. Consulte a Ficha de Dados de Segurança para obter detalhes adicionais.

Materiais e reagentes necessários, mas não fornecidos:

Lâminas de microscópio, carregadas positivamente
Controles de tecido positivos e negativos
Câmara do Deserto* ou forno de secagem similar (opcional)
Xileno ou substituto de xileno
Etanol ou álcool reagente
Câmara de Descamuflagem* ou panela de pressão semelhante (opcional)
Água desionizada ou destilada
Tampão de lavagem*
Reagentes de pré-tratamento* (opcional)
Digestão enzimática* (opcional)
Bloqueio de peroxidase*
Bloco de proteínas* (opcional)
Kit de bloqueio de Avidina-Biotina
Anticorpo primário*
Rótulo de estreptavidina*
Reagentes de controle negativo*
Cromógenos*
Hematoxilina* (contracorante)
Reagente azul*
Meio de montagem*
Tampa de vidro
Microscópio óptico (ampliação de 40-400X)

* Produtos médicos da Biocare: Consulte o site da Biocare Medical localizado em <http://biocare.net> para obter informações sobre números de catálogo e pedidos. Certos reagentes listados acima baseiam-se na aplicação específica e no sistema de detecção utilizado.

Armazenamento e estabilidade:

Conservar entre 2°C a 8°C. O produto é estável até a data de validade impressa no rótulo do frasco quando armazenado nessas condições. Não use após a data de validade. O armazenamento sob qualquer condição diferente das especificadas deve ser verificado. O(s) reagente(s) do kit estão prontos para uso e não devem ser diluídos. A estabilidade do reagente diluído pelo utilizador não foi estabelecida pela Biocare.

Os controlos positivos e negativos devem ser analisados simultaneamente com todas as amostras dos pacientes. Se for observada coloração inesperada que não pode ser explicada por variações nos procedimentos laboratoriais e houver suspeita de um problema com o anticorpo, entre em contato com o Suporte Técnico da Biocare pelo telefone 1-800-542-2002 ou através das informações de suporte técnico fornecidas em biocare.net.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

88/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Portuguese

BIOCARE
MEDICAL

Preparação de amostras:

Os tecidos fixados em formalina são adequados para utilização antes da inclusão em parafina. Os tecidos ósseos devem ser descalcificados antes do processamento do tecido para facilitar o corte do tecido e evitar danos às lâminas do micrótomo.^{1,2}

Os tecidos devidamente fixados e embebidos que expressam o antígeno alvo especificado devem ser armazenados em local fresco. A Lei de Melhoria de Laboratórios Clínicos (CLIA) de 1988 exige em 42 CFR§493.1259(b) que "O laboratório deve reter as lâminas coradas por pelo menos dez anos a partir da data de exame e reter blocos de amostras por pelo menos dois anos a partir da data do exame."³

Tratamento de tecidos antes da coloração:

Execute a recuperação de epítotos induzida por calor (HIER) de acordo com o protocolo recomendado abaixo. Foi demonstrado que o uso rotineiro de HIER antes da IHC minimiza a inconsistência e padroniza a coloração.^{4,5}

Aviso e Precauções:

1. Os reagentes do kit contêm menos de <0,05% de ProClin 300 e/ou menos de 1% de 950> Use luvas e roupas de proteção e tome precauções razoáveis ao manusear, pois ProClin é classificado como irritante e pode causar sensibilização por contato com a pele. Evite o contato com os olhos, pele e membranas mucosas.
2. Manuseie materiais de origem humana ou animal como potencialmente perigosos e descarte-os com as devidas precauções. Em caso de exposição, siga as diretrizes de saúde das autoridades responsáveis onde for utilizado.^{6,7}
3. As amostras, antes e depois da fixação, e todos os materiais a elas expostos devem ser manuseados como se fossem capazes de transmitir infecções e eliminados com as devidas precauções. Nunca pipete reagentes com a boca e evite o contacto da pele e das membranas mucosas com reagentes e amostras. Se os reagentes ou as amostras entram em contacto com áreas sensíveis, lave com água em abundância.⁸
4. A contaminação microbiana dos reagentes pode resultar num aumento de coloração inespecífica.
5. Tempos de incubação ou temperaturas diferentes dos especificados podem dar resultados errados. O usuário deve validar qualquer alteração desse tipo.
6. Não utilize o reagente após o prazo de validade impresso no frasco.
7. O(s) reagente(s) do kit de detecção de micropolímeros são otimizados e prontos para uso com anticorpos Biocare e reagentes auxiliares. Consulte as instruções de utilização do anticorpo primário e de outros reagentes auxiliares para conhecer os protocolos e condições de utilização recomendados.
8. Siga os requisitos das autoridades locais e/ou estaduais quanto ao método de descarte.
9. A FDS está disponível mediante solicitação e está localizada em <http://biocare.net>.
10. Relate quaisquer incidentes graves relacionados com este dispositivo contactando o representante local da Biocare e a autoridade competente aplicável do Estado-Membro ou país onde o utilizador está localizado.

Instruções de uso:

Os reagentes do kit de detecção de micropolímero são otimizados e prontos para uso com anticorpos Biocare e reagentes auxiliares. Consulte as instruções de utilização do anticorpo primário e de outros reagentes auxiliares para conhecer os protocolos e condições de utilização recomendados. Os tempos e temperaturas de incubação irão variar dependendo do protocolo de anticorpos específico seguido.

Ao usar um instrumento de coloração automatizado, consulte o manual do operador do instrumento específico e as instruções de uso para obter os parâmetros operacionais.

Etapas processuais gerais para realizar a IHC:

1. Desparafinização: Desparafinar as lâminas em Slide Brite ou xileno. Hidrate as lâminas em uma série de álcoois graduados em água.
2. Bloqueio de Peróxido: Bloqueie por 5 minutos com Peroxidized 1.
3. Solução/protocolo de pré-tratamento: Consulte a respectiva folha de dados do anticorpo primário para obter a solução e o protocolo de pré-tratamento recomendados.
4. Bloco Avidin: Incubar durante 10-20 minutos à temperatura ambiente com Avidin da Biocare.
5. Bloco de Biotina: Incubar durante 10-20 minutos à temperatura ambiente com Biotina da Biocare.
6. Bloco de Proteína (Opcional): Incubar por 10-15 minutos em temperatura ambiente (TA) com Background Sniper.
7. Anticorpo Primário: Consulte a ficha técnica do respectivo anticorpo primário para obter informações sobre o tempo de incubação.
8. Link: Incubar durante 10 minutos à temperatura ambiente com 4plus Biotinilado Link.
9. Etiqueta: Incubar durante 10-20 minutos à temperatura ambiente com 4plus Streptavidin HRP ou Streptavidin AP Label.
10. Cromógeno: Incubar por 10-20 minutos em temperatura ambiente com DAB da Biocare ou incubar por 5-7 minutos em temperatura ambiente com Warp Red.
11. Contracoloração: Contracoloração com hematoxilina. Enxágüe com água deionizada. Aplique a solução Bluing da Tacha por 1 minuto. Enxágüe com água deionizada.

Notas Técnicas:

1. Use TBS para etapas de lavagem.

Controle de qualidade:

Consulte os Padrões de Qualidade CLSI para Projeto e Implementação de Ensaios Imunohistoquímicos; Diretriz Aprovada – Segunda edição (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA EUA (www.clsi.org). 2011⁹

Controle Positivo de Tecidos:

Os materiais de controlo positivo externo devem ser amostras frescas fixadas, processadas e incorporadas o mais rapidamente possível, da mesma forma que a(s) amostra(s) do paciente. Os controlos teciduais positivos são indicativos de tecidos correctamente preparados e de técnicas de coloração adequadas. Deve ser incluído em cada execução de coloração um controlo tecidual externo positivo para cada conjunto de condições de teste.

Os tecidos utilizados para os materiais de controlo positivo externo devem ser seleccionados a partir de amostras de pacientes com baixos níveis bem caracterizados de actividade alvo positiva que originam uma coloração positiva fraca. O baixo nível de positividade para controlos positivos externos foi projetado para garantir a detecção de alterações sutis na sensibilidade do anticorpo primário devido à instabilidade ou problemas com a metodologia IHC. As lâminas de controlo de tecidos disponíveis comercialmente ou as amostras processadas de forma diferente da(s) amostra(s) do paciente validam apenas o desempenho dos reagentes e não verificam a preparação do tecido.

Os controlos teciduais positivos conhecidos só devem ser utilizados para monitorizar o desempenho correcto dos tecidos processados e dos reagentes de teste, e não como auxílio na formulação de um diagnóstico específico de amostras de pacientes. Se os controlos teciduais positivos não demonstrarem coloração positiva, os resultados com as amostras de teste deverão ser considerados inválidos.

Controle Negativo de Tecidos:

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

89/116



EC REP EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Portuguese

BIOCARE
MEDICAL

Use um controle tecidual negativo fixado, processado e incorporado de maneira idêntica à(s) amostra(s) do paciente em cada execução de coloração para verificar a especificidade do anticorpo primário IHC para demonstração do antígeno alvo e para fornecer uma indicação de coloração de fundo específica (coloração falso positivo). Além disso, a variedade de diferentes tipos de células presentes na maioria das secções de tecido pode ser usados pelo laboratório como locais de controle negativo interno para verificar o desempenho do IHC especificações. Os tipos e fontes de amostras que podem ser usadas para tecido negativo os controles estão listados na seção Características de desempenho.

Se ocorrer coloração específica (coloração falsa positiva) no controlo negativo do tecido, os resultados com as amostras do paciente deverão ser considerados inválidos.

Controle de reagente negativo inespecífico:

Use um controle de reagente negativo inespecífico no lugar do anticorpo primário com uma seção de cada amostra do paciente para avaliar coloração inespecífica e permitem uma melhor interpretação da coloração específica no local do antígeno. Idealmente, um controle de reagente negativo contém um anticorpo produzido e preparado (ou seja, diluído na mesma concentração usando o mesmo diluente) para uso da mesma forma que o anticorpo primário, mas não exibe reatividade específica com tecidos humanos na mesma matriz/solução que o anticorpo Biocare. O diluente sozinho pode ser utilizado como uma alternativa menos desejável aos controlos de reagentes negativos descritos anteriormente. O período de incubação do reagente de controlo negativo deve corresponder ao do anticorpo primário.

Quando são utilizados painéis de vários anticorpos em secções em série, as áreas de coloração negativa de uma lâmina podem servir como controlo de fundo de ligação negativo/inespecífico para outros anticorpos. Para diferenciar a atividade enzimática endógena ou a ligação inespecífica de enzimas da imunorreatividade específica, tecidos adicionais do paciente podem ser corados exclusivamente com substrato-cromógeno ou complexos enzimáticos (PAP, avidina-biotina, estreptavidina) e substrato-cromógeno, respectivamente.

Verificação do ensaio:

Antes da utilização inicial de um anticorpo ou sistema de coloração num procedimento de diagnóstico, o utilizador deve verificar a especificidade do anticorpo testando-o numa série de tecidos internos com características de desempenho imuno-histoquímica conhecidas, representando tecidos positivos e negativos conhecidos. Consulte os procedimentos de controle de qualidade descritos anteriormente nesta seção da bula do produto e as recomendações de controle de qualidade do Programa de Certificação CAP¹⁰ para imunohistoquímica e/ou a diretriz NCCLS IHC¹¹. Estes procedimentos de controle de qualidade devem ser repetidos para cada novo lote de anticorpos ou sempre que houver alteração nos parâmetros do ensaio. Os tecidos listados na seção Características de Desempenho são adequados para verificação de ensaio.

Solução de problemas:

Siga as recomendações do protocolo específico do anticorpo de acordo com a ficha técnica fornecida. Se ocorrerem resultados atípicos, entre em contato com o Suporte Técnico da Biocare pelo telefone 1-800-542-2002.

Interpretação da coloração:

O 4plus Biotinilado Goat Anti-Mouse IgG produz uma reação de cor marrom (HRP) ou vermelha (AP) nos locais do antígeno localizados pelo anticorpo primário. Antes da interpretação dos resultados dos pacientes, a coloração dos controles deve ser avaliada por um patologista qualificado. Os controles negativos são avaliados e comparados com lâminas coradas para garantir

que qualquer coloração observada não seja resultado de interações inespecíficas.

Controle Positivo de Tecidos:

O controlo tecidual positivo corado com o anticorpo indicado deve ser examinado primeiro para verificar se todos os reagentes estão a funcionar correctamente. A coloração apropriada das células alvo (como indicado acima) é indicativa de reactividade positiva. Se os controlos teciduais positivos não demonstrarem coloração positiva, quaisquer resultados com as amostras de teste deverão ser considerados inválidos.

A cor do produto da reação pode variar dependendo dos cromógenos do substrato utilizados. Consulte as bulas do substrato para obter as reações de cor esperadas. Além disso, a metacromasia pode ser observada em variações do método de coloração.¹²

Quando é utilizado um contracorante, dependendo da duração da incubação e da potência do contracorante utilizado, o contracorante resultará numa coloração dos núcleos das células. A contrastação excessiva ou incompleta pode comprometer a interpretação adequada dos resultados. Consulte o(s) protocolo(s) para obter a contracoloração recomendada.

Controle Negativo de Tecidos:

O controle tecidual negativo deve ser examinado após o controle tecidual positivo para verificar a especificidade da marcação do antígeno alvo pelo anticorpo primário. A ausência de coloração específica no controlo negativo de tecido confirma a falta de reactividade cruzada do anticorpo com células/componentes celulares. Se ocorrer coloração específica (coloração falsa positiva) no controlo tecidual externo negativo, os resultados com a amostra do paciente deverão ser considerados inválidos.

A coloração inespecífica, se presente, geralmente tem aparência difusa. A coloração esporádica do tecido conjunto também pode ser observada em secções de tecidos excessivamente fixados em formalina. Use células intactas para interpretação dos resultados de coloração. Células necróticas ou degeneradas geralmente apresentam coloração inespecífica.

Tecido do Paciente:

Examinar amostras de pacientes coradas com o anticorpo indicado durar. A intensidade da coloração positiva deve ser avaliada no contexto de qualquer coloração de fundo inespecífica do controlo de reagente negativo. Tal como acontece com qualquer teste imuno-histoquímico, um resultado negativo significa que o antígeno não foi detectado, e não que o antígeno estava ausente nas células/tecidos analisados. Se necessário, utilize um painel de anticorpos para identificar reações falso-negativas.

Consulte Resumo e Explicação, Limitações e Características de Desempenho para obter informações específicas sobre a imunorreatividade de anticorpos indicada.

Limitações:

Limitações Gerais:

1. Para *em vitro* Diagnóstico (IVD) Uso
2. Este produto é apenas para uso profissional: A imunohistoquímica é um processo de diagnóstico em múltiplas etapas que consiste em treinamento especializado na seleção dos reagentes adequados; seleção, fixação e processamento de tecidos; preparação da lâmina IHC; e interpretação dos resultados da coloração.
3. Para uso somente mediante prescrição médica. (Somente Rx)
4. A coloração do tecido depende do manuseio e processamento do tecido antes da coloração. Fixação, congelamento, descongelamento, lavagem, secagem, aquecimento, seccionamento ou contaminação inadequados com outros tecidos ou fluidos podem produzir artefatos, aprisionamento

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Portuguese

BIOCARE
MEDICAL

de anticorpos ou resultados falsos negativos. Resultados inconsistentes podem ser devidos a variações nos métodos de fixação e inclusão, ou a irregularidades inerentes ao tecido.¹³

5. A contrastação excessiva ou incompleta pode comprometer a interpretação adequada dos resultados.
6. A interpretação clínica de qualquer coloração positiva ou negativa deve ser avaliada dentro do contexto da apresentação clínica, morfologia e outros critérios histopatológicos. A interpretação clínica de qualquer coloração positiva ou negativa deve ser complementada por estudos morfológicos utilizando controlos internos e externos positivos e negativos adequados, bem como outros testes de diagnóstico. É responsabilidade de um patologista qualificado que esteja familiarizado com o uso adequado de anticorpos, reagentes e métodos de IHC interpretar todas as etapas usadas para preparar e interpretar a preparação final de IHC.
7. Os protocolos ideais para uma aplicação específica podem variar. Estes incluem, mas não estão limitados a fixação, método de recuperação de calor, tempos de incubação, diluição de anticorpos, espessura da secção de tecido e kit de detecção utilizado. Consulte as instruções de utilização do anticorpo primário e de outros reagentes auxiliares para conhecer os protocolos e condições de utilização recomendados. As recomendações e protocolos da ficha técnica são baseados no uso exclusivo de produtos Biocare. Em última análise, é responsabilidade do investigador determinar as condições ideais.
8. Este produto não se destina ao uso em citometria de fluxo. As características de desempenho não foram determinadas para citometria de fluxo.
9. Os tecidos de pessoas infectadas com o vírus da hepatite B e contendo antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) podem apresentar coloração inespecífica com peroxidase de rábano.¹⁴
10. Os reagentes podem demonstrar reações inesperadas em tecidos não testados anteriormente. A possibilidade de reações inesperadas mesmo em grupos de tecidos testados não pode ser completamente eliminada devido à variabilidade biológica da expressão do antígeno em neoplasias ou outros tecidos patológicos.¹⁵ Entre em contato com o suporte técnico da Biocare pelo telefone 1-800-542-2002 ou por meio das informações de suporte técnico fornecidas em biocare.net, com reações inesperadas documentadas.
11. Os soros normais/não imunes da mesma origem animal que os anti-soros secundários utilizados nas etapas de bloqueio podem causar resultados falso-negativos ou falso-positivos devido a autoanticorpos ou anticorpos naturais.
12. Resultados falso-positivos podem ser observados devido à ligação não imunológica de proteínas ou produtos de reação de substrato. Eles também podem ser causados por atividade de pseudo-peroxidase (eritrócitos), atividade de peroxidase endógena (citocromo C) ou biotina endógena (por exemplo, fígado, mama, cérebro, rim), dependendo do tipo de imunocoloração utilizada.¹³
13. Um resultado negativo significa que o抗ígeno não foi detectado e não que o抗ígeno estava ausente nas células ou tecidos examinados.

Limitações Específicas do Produto:

Sem limitações adicionais específicas do produto.

Características de desempenho:

A coloração foi realizada utilizando protocolos fornecidos nas instruções de utilização específicas do anticorpo ou conforme especificado. A sensibilidade e a especificidade da coloração foram avaliadas em vários tipos de tecidos normais e neoplásicos avaliados durante o desenvolvimento de anticorpos primários.

Reprodutibilidade:

A reprodutibilidade dos sistemas de detecção e reagentes do sistema da Biocare é verificada através de uma medição de precisão intermediária na qual vários lotes de reagentes foram testados durante um longo período de

tempo usando vários operadores, analistas, lotes de reagentes, amostras de tecidos e equipamentos. A coloração obtida para cada reagente de detecção avaliado foi consistente e realizada conforme esperado.

Solução de problemas:

1. Nenhuma coloração em nenhuma lâmina – Verifique para determinar se foram utilizados tecidos de controle positivo, anticorpos e produtos de detecção apropriados. Verifique se há remoção ou pré-tratamento de cera incompleto ou inadequado.
2. Coloração fraca de todas as lâminas – Verifique para determinar se foram utilizados tecidos de controlo positivo apropriados, anticorpos e produtos de detecção.
3. Fundo excessivo de todas as lâminas – Pode haver altos níveis de biotina endógena (se estiver usando produtos de detecção à base de biotina), atividade endógena de HRP convertendo cromogênio em produto final colorido (use bloco de peroxidase) ou excesso de interação proteica não específica (use uma proteína bloqueio, como solução de bloqueio à base de soro ou caseína).
4. As secções de tecido são removidas das lâminas durante a incubação – Verifique as lâminas para garantir que estão carregadas positivamente.
5. Coloração específica demasiado escura – Verifique o protocolo para determinar se o título de anticorpos adequado foi aplicado à lâmina, bem como os tempos de incubação adequados para todos os reagentes. Além disso, certifique-se de que o protocolo tenha etapas de lavagem suficientes para remover o excesso de reagentes após a conclusão das etapas de incubação.

Referências:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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 Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Romanian

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Utilizarea prevăzută:

Pentru *in vitro* Utilizare pentru diagnosticare

4plus Biotinilate Goat Anti-Mouse IgG este destinat utilizării fie în protocoale de colorare manuale sau automate de imunohistochimie (IHC), folosind o metodă de aplicare în două etape a peroxidazei de hrean (HRP) sau fosfatază alcalină (AP). Această detectare a streptavidină-conjugat este concepută pentru detectarea anticorpilor primari IgG de șoarece legați de antigenele întâi în țesuturile fixate în formalină, încorporate în parafină (FFPE) în timpul procesului de colorare IHC. Interpretarea clinică a oricăriei colorări sau absența acesteia ar trebui completată de studii morfologice și controale adecvate și ar trebui evaluată în contextul istoricului clinic al pacientului și al altor teste de diagnostic de către un patolog calificat.

Rezumat și explicație:

The4plus IgG biotinilat de capră anti-șoarece este proiectat folosind o metodă în două etape pentru detectarea anticorpilor primari de șoarece pentru a forma un complex anticorp-enzimă. Acest complex este apoi vizualizat folosind un substrat/cromogen adecvat. În metoda în două etape, anticorpul secundar este biotinilat și se aplică sevențial o streptavidină suplimentară marcată cu enzimă. Metoda în două etape este concepută pentru a amplifica detectia în cazurile de antigen cu exprimare scăzută.
Acest anticorp biotinilat reacționează cu lanțuri grele și ușoare pe IgG de șoarece. Este adsorbit împotriva calului, bovinelor și omului. Reacționează cu toate subclasele de IgG de șoarece și cu IgM de șoarece. A fost purificat prin afinitate cu reacție încrucisată minimă cu proteinele din serum uman, bovin și cal. Un braț distanțier lung a fost poziționat între biotină și anticorpul secundar, pentru a crește sensibilitatea atunci când este cuplat cu conjugătii de streptavidină. IgG anti-șoarece de capră biotinilat 4plus poate fi utilizat fie cu sisteme de detectare a streptavidin peroxidază de hrean, fie cu sisteme de detectare a streptavidin fosfatază alcalină.

Principiul procedurii:

Acest kit de detectare a micro-polimerului poate fi utilizat în testarea imunohistochimică a secțiunilor de țesut fixate cu formol, încorporate în parafină. În general, imunohistochimic (IHC) tehnici de colorare permit vizualizarea antigenelor prin aplicarea sevențială a unui anticorp specific la antigen (anticorp primar), un anticorp secundar la anticorpul primar (anticorp/sondă optional link), un complex enzimatic și un substrat cromogen cu etape de spălare interpuze. Activarea enzimatică a cromogenului are ca rezultat un produs de reacție vizibil la locul antigenului. Eșantionul poate fi apoi contricolorat și acoperit cu lamela. Rezultatele sunt interpretate folosind o lumină microscop și ajută la diagnosticul diferențial al proceselor fiziopatologice, care pot sau poate să nu fie asociat cu un anumit antigen.

Materiale și metode:

Reactivi furnizati:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Reconstituire, amestecare, diluare, titrare:

Reactivi(i) kitului de detectie pe bază de streptavidină sunt optimizați și gata de utilizare cu anticorpi Biocare și reactivi auxiliari. Nu este necesară reconstituire, amestecare, diluare sau titrare.

Aplicații cunoscute:

Imunohistochimie (țesuturi încorporate în parafină fixate în formol)

Reactivitatea speciei:

Lanțuri grele și ușoare de IgG de șoarece

Furnizat ca:

Soluție salină tamponată, pH 7,2-7,4, care conține un purtător proteic și mai puțin de 0,01% ProClin 300 și/sau mai puțin de 0,5% ProClin 950 ca conservant. Consultați Fișa cu date de securitate pentru detalii suplimentare.

Materiale și reactivi necesari, dar nefurnizati:

Lame de microscop, încărcate pozitiv

Controale tisulare pozitive și negative

Camera de sechete* sau cuptor de uscare similar (optional)

Xilen sau înlocuitor de xilen

Etilanol sau alcool reactiv

Camera de declocking* sau oala sub presiune similară (optional)

Apă deionizată sau distilitată

tampon de spălare*

Reactivi de pretratare* (optional)

Digestie enzimatică* (optional)

bloc de peroxidază*

Bloc de proteine* (optional)

Kit de blocare avidin-biotină

Anticorp primar*

Eticheta de streptavidină*

Reactivi de control negativ*

Cromogene*

Hematoxilină* (contracolor)

Reactiv de albastru*

Mediu de montare*

Sticlă de acoperire

Microscop cu lumină (mărire 40-400X)

* Produse medicale Biocare: Consultați site-ul web Biocare Medical aflat la <http://biocare.net> pentru informații privind numerele de catalog și comenzi. Anumiți reactivi enumerate mai sus se bazează pe aplicații specifice și pe sistemul de detectare utilizat.

Depozitare și stabilitate:

A se păstra la 2°C până la 8°C. Produsul este stabil până la data de expirare imprimată pe eticheta flaconului atunci când este păstrat în aceste condiții. Nu utilizați după data de expirare. Depozitarea în orice alte condiții decât cele specificate trebuie verificată. Reactivul (reactivii) trusei sunt gata de utilizare și nu trebuie diluați. Stabilitatea reactivului diluat de utilizator nu a fost stabilită de Biocare.

Controalele pozitive și negative trebuie efectuate simultan cu toate probele pacientului. Dacă se observă o colorare neașteptată care nu poate fi explicată prin variații ale procedurilor de laborator și se suspectează o problemă cu anticorpul, contactați Asistența Tehnică Biocare la 1-800-542-2002 sau prin intermediul informațiilor de asistență tehnică furnizate pe biocare.net.

Pregătirea probei:

Tesuturile fixate în formol sunt adecvate pentru utilizare înainte de încorporarea parafinei. Țesuturile osoase trebuie decalcificate înainte de prelucrarea țesuturilor pentru a facilita tăierea țesuturilor și pentru a preveni deteriorarea lamelor microtomului.^{1,2}

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Romanian

BIOCARE
MEDICAL

Tesuturile fixate și încorporate în mod corespunzător care exprimă antigenul sănătății specificat trebuie păstrate într-un loc răcoros. Actul Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) din 1988 impune în 42 CFR§493.1259(b) că „laboratorul trebuie să rețină lamele colorate cel puțin zece ani de la data examinarea și păstrarea blocurilor de specimene cel puțin doi ani de la data examinării.”³

Tratamentul tesuturilor înainte de colorare:

Efectuați recuperarea epitopului indușă de căldură (HIER) conform protocolului recomandat de mai jos. S-a demonstrat că utilizarea de rutină a HIER înainte de IHC reduce la minimum inconsistenta și standardizează colorarea.^{4,5}

Avertisment și precauții:

1. Reactivii trusei conțin mai puțin de <0,05% ProClin 300 și/sau mai puțin de 1% 950> Portați mănuși și îmbrăcăminte de protecție și luați măsuri de precauție rezonabile la manipulare, deoarece ProClin este clasificat ca iritant și poate provoca sensibilizare la contactul cu pielea. Evitați contactul cu ochii, pielea și mucoasele.
2. Manipulați materialele de origine umană sau animală ca potențial periculoase biologice și eliminați astfel de materiale cu măsurile de precauție corespunzătoare. În cazul expunerii, respectați directivele de sănătate ale autorităților responsabile acolo unde este utilizat.^{6,7}
3. Specimenele, înainte și după fixare, și toate materialele expuse acestora trebuie manipulate ca și cum ar fi capabile să transmită infecția și eliminate cu măsurile de precauție corespunzătoare. Nu pipetați niciodată reactivii pe gură și evitați contactul pielii și mucoaselor cu reactivii și mostrele. Dacă reactivii sau mostrele vin în contact cu zone sensibile, spălați-vă cu cantități mari de apă.⁸
4. Contaminarea microbiană a reactivilor poate duce la o creștere a colorației nespecifice.
5. Timpul de incubare sau alte temperaturi decât cele specificate pot da rezultate eronate. Utilizatorul trebuie să valideze orice astfel de modificare.
6. Nu utilizați reactiv după data de expirare imprimată pe flacon.
7. Reactivul (reactivii) kit-ului de detectare a micropolimerului este optimizat(i) și gata de utilizare cu anticorpi Biocare și reactivi auxiliari. Consultați instrucțiunile de utilizare a anticorpului primar și a altor reactivi auxiliari pentru protocoalele și condițiile recomandate de utilizare.
8. Respectați cerințele autorităților locale și/sau de stat pentru metoda de eliminare.
9. FDS este disponibilă la cerere și se află la <http://biocare.net>.
10. Raportați orice incidente grave legate de acest dispozitiv contactând reprezentantul local Biocare și autoritatea competență aplicabilă a statului membru sau a țării în care se află utilizatorul.

Instructiuni de folosire:

Reactivii kitului de detectare a micropolimerului sunt optimizați și gata de utilizare cu anticorpi Biocare și reactivi auxiliari. Consultați instrucțiunile de utilizare a anticorpului primar și a altor reactivi auxiliari pentru protocoalele și condițiile recomandate de utilizare. Timpul și temperaturile de incubare vor varia în funcție de protocolul specific de anticorpi urmat.

Când utilizați un instrument automat de colorare, consultați manualul de utilizare al instrumentului specific și instrucțiunile de utilizare pentru parametrii de funcționare.

Etape procedurale generale pentru efectuarea IHC:

1. Deparafinizare: Deparafiniză lamele în Slide Brite sau xilen. Hidratează lamele într-o serie de alcoolii clasificați până la apă.
2. Bloc de peroxid: Blocați timp de 5 minute cu Peroxidized 1.
3. Soluție/Protocol de pretratare: Vă rugăm să consultați fișa de date a anticorpului primar respectiv pentru soluția și protocolul de pretratare recomandate.

5. Bloc de Avidină: Incubați timp de 10-20 de minute la RT cu Avidin de la Biocare.

6. Bloc de biotină: Incubați timp de 10-20 de minute la temperatura camerei cu Biocare's Biotin.

7. Bloc de proteine (Optional): Incubați timp de 10-15 minute la temperatura camerei (RT) cu Background Sniper.

8. Anticorp primar: Vă rugăm să consultați fișa de date a anticorpului primar respectiv pentru timpul de incubare.

9. Link: Se incubează timp de 10 minute la RT cu 4plus Biotinylated Link.

10. Etichetă: Se incubează timp de 10-20 minute pentru la temperatura camerei cu 4plus Streptavidin HRP sau Streptavidin AP Label.

11. Cromogen: Se incubează timp de 10-20 minute la temperatura camerei cu DAB Biocare sau se incubează timp de 5-7 minute la temperatura camerei cu Warp Red.

12. Contracolorare: Contracolorare cu hematoxilină. Clătiți cu apă deionizată. Aplicați soluția de albastru Tacha timp de 1 minut. Clătiți cu apă deionizată.

Note tehnice:

1. Folosiți TBS pentru etapele de spălare.

Control de calitate:

Consultați Standardele de calitate CLSI pentru proiectarea și implementarea testelor imunohistochimice; Ghid aprobat-A două ediție (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA SUA (www.clsi.org). 2011⁹

Control pozitiv al tesuturilor:

Materialele de control pozitiv extern trebuie să fie probe proaspete fixate, procesate și încorporate cât mai curând posibil, în același mod ca probele pacientului. Controlele pozitive ale țesuturilor indică țesuturile pregătite corect și tehnice de colorare adecvate. Un control de țesut extern pozitiv pentru fiecare set de condiții de testare ar trebui să fie inclus în fiecare cursă de colorare.

Țesuturile utilizate pentru materialele de control pozitiv extern trebuie selectate din mostre de pacient cu niveluri scăzute bine caracterizate ale activității sănătății pozitive care dă colorare pozitivă slabă. Nivelul scăzut de pozitivitate pentru controalele pozitive externe este conceput astfel încât să asigure detectarea modificărilor subtile ale sensibilității anticorpilor primari din instabilitate sau probleme cu metodologia IHC. Lamelele de control al țesuturilor disponibile comercial sau mostrele procesate diferă de eșantioanele pacientului validează doar performanța reactivului și nu verifică pregătirea țesuturilor.

Controlele de țesut pozitive cunoscute ar trebui utilizate numai pentru monitorizarea performanței corecte a țesuturilor procesate și a reactivilor de testare, mai degrabă decât ca ajutor în formularea unui diagnostic specific al probelor de pacienți. Dacă controalele pozitive ale țesuturilor nu reușesc să demonstreze o colorare pozitivă, rezultatele cu probele de testat trebuie considerate nevalide.

Controlul negativ al țesuturilor:

Utilizați un control de țesut negativ fixat, procesat și încorporat într-o manieră identică cu eșantionul(e) pacientului la fiecare cursă de colorare pentru a verifica specificitatea anticorpului primar IHC pentru demonstrarea antigenului sănătății și pentru a oferi o indicație a colorării specifice de fond (colorare fals pozitivă). De asemenea, varietatea diferitelor tipuri de celule prezente în majoritatea secțiunilor de țesut poate să fie utilizate de către laborator ca locuri de control negativ intern pentru a verifica performanța IHC specifică. Tipurile și sursele de specimene care pot fi utilizate pentru țesutul negativ controalele sunt listate în secțiunea Caracteristici de performanță.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Romanian

BIOCARE
MEDICAL

Dacă apare o colorare specifică (colorare fals pozitivă) în controlul negativ al țesutului, rezultatele cu mostrele pacientului trebuie considerate nevalide.

Control reactiv negativ nespecific:

Utilizați un control reactiv negativ nespecific în locul anticorpului primar cu o secțiune din fiecare specimen de pacient pentru a evalua colorarea nespecifică și

permite o mai bună interpretare a colorării specifice la locul antigenului. În mod ideal, un control reactiv negativ conține un anticorp produs și preparat (adică diluat la aceeași concentrație folosind același diluant) pentru utilizare în același mod ca anticorpul primar, dar nu prezintă reactivitate specifică cu țesuturile umane în aceeași matrice/soluție ca și anticorpul Biocare. . Numai diluantul poate fi utilizat ca o alternativă mai puțin dorită față de controale negative descrise anterior. Perioada de incubație pentru controlul reactiv negativ trebuie să corespundă cu cea a anticorpului primar.

Când sunt utilizate panouri de mai mulți anticorpi pe secțiuni în serie, zonele cu colorare negativă ale unei lame pot servi ca un control de fond negativ/nespecific de legare pentru alți anticorpi. Pentru a diferenția activitatea enzimatică endogene sau legarea nespecifică a enzimelor de imunoreactivitatea specifică, țesuturile suplimentare ale pacientului pot fi colorate exclusiv cu substrat-cromogen sau complexe enzimatic (PAP, avidină-biotină, streptavidină) și respectiv substrat-cromogen.

Verificarea testului:

Înainte de utilizarea inițială a unui anticorp sau a unui sistem de colorare într-o procedură de diagnosticare, utilizatorul trebuie să verifice specificitatea anticorpului testându-l pe o serie de țesuturi interne cu caracteristici de performanță imunohistochimice cunoscute reprezentând țesuturi pozitive și negative cunoscute. Consultați procedurile de control al calității prezentate anterior în această secțiune a prospectului produsului și recomandările de control al calității din Programul de certificare CAP,¹⁰ pentru imunohistochimie și/sau ghidul NCCLS IHC¹¹. Aceste proceduri de control al calității trebuie repetate pentru fiecare lot nou de anticorpi sau ori de câte ori există o modificare a parametrilor de analiză. Țesuturile enumerate în secțiunea Caracteristici de performanță sunt potrivite pentru verificarea testului.

Depanare:

Urmați recomandările protocolului specific anticorpilor conform fisei de date furnizate. Dacă apar rezultate atipice, contactați asistența tehnică Biocare la 1-800-542-2002.

Interpretarea colorării:

IgG biotinilat de capră anti-șoarece 4plus produce o reacție de culoare maro (HRP) sau roșu (AP) la locurile antigenului localizate de anticorpul primar. Înainte de interpretarea rezultatelor pacientului, colorarea controalelor trebuie evaluată de un patolog calificat. Mărtori negativi sunt evaluati și comparați cu lamelele colorate pentru a se asigura că orice colorare observată nu este rezultatul interacțiunilor nespecifice.

Control pozitiv al țesuturilor:

Controlul pozitiv al țesutului colorat cu anticorpul indicat trebuie examinat mai întâi pentru a se asigura că toți reactivii funcționează corect. Colorarea adecvată a celulelor întări (așa cum s-a indicat mai sus) indică reactivitate pozitivă. Dacă controalele pozitive ale țesuturilor nu reușesc să demonstreze o colorare pozitivă, orice rezultat cu probele de testat trebuie considerat nevalid.

Culoarea produsului de reacție poate varia în funcție de cromogenii substratului utilizat. Consultați prospectele de ambalaj pentru substrat pentru reacțiile de culoare așteptate. Mai mult, metacromazia poate fi observată în variațiile metodei de colorare.¹²

Când se folosește o contracolorare, în funcție de durata de incubare și de putență contracolorului utilizat, contracolorarea va avea ca rezultat o colorare a nucleilor celulare. Contracolorarea excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea corectă a rezultatelor. Consultați protocoalele pentru contracolorarea recomandată.

Controlul negativ al țesuturilor:

Controlul negativ al țesuturilor trebuie examinat după controlul pozitiv al țesutului pentru a verifica specificitatea etichetării antigenului întărită de către anticorpul primar. Absenta colorației specifice în controlul negativ al țesutului confirmă lipsa reactivității încrucisate a anticorpilor la celule/componentele celulare. Dacă apare o colorare specifică (colorare fals pozitivă) în controlul extern negativ al țesutului, rezultatele cu specimenul pacientului trebuie considerate nevalide.

Colorația nespecifică, dacă este prezentă, are de obicei un aspect difuz. Colorarea sporadică a țesutului conjunctiv poate fi observată și în secțiuni din țesuturi fixate în exces de formol. Utilizați celule intace pentru interpretarea rezultatelor colorării. Celulele necrotice sau degenerate se colorează adesea nespecific.

Țesutul pacientului:

Examinați mostrele pacientului colorate cu anticorpul indicat ultimul. Intensitatea colorării pozitive trebuie evaluată în contextul oricărei colorări de fond nespecifice a controlului reactiv negativ. Ca și în cazul oricărui test imunohistochimic, un rezultat negativ înseamnă că antigenul nu a fost detectat, nu că antigenul a fost absent în celulele/țesutul testat. Dacă este necesar, utilizați un panou de anticorpi pentru a identifica reacțiile false-negative.

Consultați Rezumatul și Explicația, Limitările și Caracteristicile de performanță pentru informații specifice privind imunoreactivitatea indicată a anticorpilor.

Limitări:

Limitări generale:

1. Pentru *in vitro* Utilizarea diagnosticului (IVD).
2. Acest produs este doar pentru uz profesional: Imunohistochimia este un proces de diagnosticare în mai multe etape care constă în pregătire specializată în selectarea reactivilor corespunzătoare; selecția, fixarea și prelucrarea țesuturilor; prepararea lamei IHC; și interpretarea rezultatelor colorării.
3. Pentru utilizare numai pe bază de prescripție medicală. (Numai Rx)
4. Colorarea țesuturilor depinde de manipularea și prelucrarea țesutului înainte de colorare. Fixarea necorespunzătoare, înghețarea, dezghețarea, spălarea, uscarea, încălzirea, secționarea sau contaminarea cu alte țesuturi sau fluidi pot produce artefacte, captarea anticorpilor sau rezultate false negative. Rezultatele inconveniente se pot datora variațiilor în metodele de fixare și încorporare sau neregularităților inerente în țesut.¹³
5. Contracolorarea excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea corectă a rezultatelor.
6. Interpretarea clinică a oricărei colorări pozitive sau negative trebuie evaluată în contextul prezentării clinice, al morfologiei și al altor criterii histopatologice. Interpretarea clinică a oricărei colorări pozitive sau negative ar trebui să fie completată de studii morfologice care utilizează controale interne și externe pozitive și negative adecvate, precum și alte teste de diagnosticare. Este responsabilitatea unui patolog calificat care este familiarizat cu utilizarea corectă a anticorpilor, reactivilor și metodelor IHC să interpreteze toți pașii utilizati pentru pregătirea și interpretarea preparatului final IHC.
7. Protocoalele optime pentru o anumită aplicație pot varia. Acestea includ, dar nu se limitează la fixare, metoda de recuperare a căldurii, timpii de incubare, diluarea anticorpilor, grosimea secțiunii de țesut și trusa de

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Romanian

BIOCARE
MEDICAL

- detectare utilizată. Consultați instrucțiunile de utilizare a anticorpului primar și a altor reactiv auxiliari pentru protocoalele și condițiile recomandate de utilizare. Recomandările și protocoalele din fișa de date se bazează pe utilizarea exclusivă a produselor Biocare. În cele din urmă, este responsabilitatea investigatorului să determine condițiile optime.
8. Acest produs nu este destinat utilizării în citometria în flux. Caracteristicile de performanță nu au fost determinate pentru citometria în flux.
 9. Ţesuturile de la persoane infectate cu virusul hepatitei B și care conțin antigenul de suprafață al hepatitei B (HBsAg) pot prezenta colorare nespecifică cu peroxidază de hrean.¹⁴
 10. Reactivii pot demonstra reacții neașteptate în ţesuturile netestate anterior. Posibilitatea unor reacții neașteptate chiar și în grupurile de ţesuturi testate nu poate fi eliminată complet din cauza variabilității biologice a exprimării antigenului în neoplasme sau în alte ţesuturi patologice.¹⁵ Contactați asistența tehnică Biocare la 1-800-542-2002 sau prin intermediul informațiilor de asistență tehnică furnizate pe biocare.net, cu reacții neașteptate documentate.
 11. Serurile normale/neîmune din aceeași sursă animală ca și antiserurile secundare utilizate în etapele de blocare pot provoca rezultate fals negative sau fals pozitive din cauza autoanticorpilor sau a anticorpilor naturali.
 12. Rezultate fals pozitive pot fi observate din cauza legării neimunologice a proteinelor sau a produselor de reacție substrat. Ele pot fi, de asemenea, cauzate de activitatea pseudo-peroxidazei (eritrocite), activitatea peroxidazei endogene (citocromul C) sau biotina endogenă (de exemplu, ficat, sân, creier, rinichi), în funcție de tipul de imunocolor utilizat.¹³
 13. Un rezultat negativ înseamnă că antigenul nu a fost detectat, nu că antigenul a fost absent în celulele sau ţesutul examinat.

Limitări specifice produsului:

Fără limitări suplimentare specifice produsului.

Caracteristici de performanță:

Colorarea a fost efectuată utilizând protocoalele furnizate în instrucțiunile specifice de utilizare a anticorpilor sau conform specificațiilor. Sensibilitatea și specificitatea colorării au fost evaluate într-o serie de tipuri de ţesut normal și neoplazic evaluate în timpul dezvoltării anticorpilor primari.

Reproductibilitate:

Reproductibilitatea sistemelor de detectare și a reactivilor de sistem Biocare este verificată printr-o măsurare a preciziei intermediare în care au fost testate diferite loturi de reactivi pe o perioadă lungă de timp folosind diversi operatori, analiști, loturi de reactivi, probe de ţesut și echipamente. Colorația obținută pentru fiecare reactiv de detectie evaluat a fost consecventă și a fost efectuată conform așteptărilor.

4. Secțiunile de ţesut spăla lamelele în timpul incubației – Verificați lamele pentru a vă asigura că sunt încărcate pozitiv.
5. Colorare specifică prea întunecată – Verificați protocolul pentru a determina dacă pe lame a fost aplicat titrul adecvat de anticorpi, precum și timpul de incubare corespunzători pentru toți reactivii. În plus, asigurați-vă că protocolul are suficienți pași de spălare pentru a elimina excesul de reactivi după finalizarea etapelor de incubare.

Referințe:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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 Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

Depanare:

1. Nicio colorare a niciunei lame – Verificați pentru a determina că au fost utilizate ţesuturi de control pozitiv adecvate, anticorpi și produse de detectare. Verificați dacă există îndepărtarea sau pretratarea ceară incompletă sau necorespunzătoare.
2. Colorare slabă a tuturor lamelor – Verificați pentru a determina că au fost utilizate ţesuturi de control pozitiv adecvate, anticorpi și produse de detectare.
3. Fundal excesiv al tuturor diapozițivelor – Pot exista niveluri ridicate de biotină endogenă (dacă se utilizează produse de detecție pe bază de biotină), activitate HRP endogenă de conversie a cromogenului în produs final colorat (utilizați bloc de peroxidază) sau interacțiune proteică nespecifică în exces (utilizați o proteină), bloc, cum ar fi soluția de blocare pe bază de ser sau caseină).

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

95/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Slovak

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Zamýšľané použitie:

Pre *in vitro* Diagnostické použitie

4plus Biotinylovaný koží anti-myší IgG je určený na použitie v manuálnych alebo automatických imunohistochemických (IHC) protokoloch farbenia s použitím dvojkrokovej aplikačnej metódy konjugátu streptavidínu a chrenovej peroxidázy (HRP) alebo alkalickej fosfátázy (AP). Táto detekcia konjugátu streptavidínu na detekciu myších primárnych protilátok IgG naviazaných na cielové抗原 vo formalíne fixovaných tkanicích zaliatych v parafíne (FFPE) počas procesu farbenia IHC. Klinická interpretácia akéhokoľvek zafarbenia alebo jeho absencie by mala byť doplnená morfológickými štúdiami a náležitými kontrolami a mala by byť hodnotená v kontexte pacientovej klinickej anamnézy a iných diagnostických testov kvalifikovaným patológom.

Zhrnutie a vysvetlenie:

The 4plus Biotinylovaný koží anti-myší IgG je navrhnutý s použitím dvojkrokovej metódy na detekciu myších primárnych protilátok za vzniku komplexu protilátka-enzým. Tento komplex sa potom vizualizuje použitím vhodného substrátu/chromogénu. V dvojkrokovej metóde sa sekundárna protilátka biotinuje a následne sa aplikuje ďalší enzymom značený streptavidín. Dvojstupňová metóda je navrhnutá na amplifikáciu detekcie v prípadoch mälo exprimujúcich antigénov. Táto biotinylovaná protilátka reaguje s ľahkými a ľahkými reťazcami na myšacom IgG. Je adsorbovaný proti koňom, hovädzemu dobytku a ľudom. Reaguje so všetkými myšacími podtrydami IgG a myšacími IgM. Bol afinitne purifikovaný s minimálnou skriženou reakciou na ľudské, hovädzie a konské sérové proteíny. Medzi biotín a sekundárnu protilátku sa umiestnilo dlhé rozperné rameno, aby sa zvýšila citlivosť pri spojení s konjugátmi streptavidínu. 4plus Biotinylovaný koží anti-myší IgG sa môže použiť so streptavidínovou chrenovou peroxidázou alebo so streptavidínovými detekčnými systémami alkalickej fosfátázy.

Princíp postupu:

Táto mikropolymerová detekčná súprava sa môže použiť pri imunohistochemickom testovaní tkanivových rezov fixovaných vo formalíne a zaliatych do parafínu. Vo všeobecnosti imunohistochemické (IHC) techniky farbenia umožňujú vizualizáciu antigénov prostredníctvom sekvenčnej aplikácie a špecifická protilátka k antigenu (primárna protilátka), sekundárna protilátka k primárnej protilátkе (voliteľná väzba protilátka/sonda), enzymový komplex a chromogénnu substrát s vloženými krokmi premývania. Enzymatická aktivácia chromogénu vedie k viditeľnému reakčnému produktu v mieste antigenu. Vzorka sa potom môže kontrastne zafarbiť a zakryť krycím skličkom. Výsledky sa interpretujú pomocou svetla mikroskop a pomôcka pri diferenciálnej diagnostike patofiziologických procesov, ktoré môžu resp nemusia byť spojené s konkrétnym antigenom.

Materiály a metódy:

Dodávané činidlá:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Rekonštitúcia, miešanie, riedenie, titrácia:

Činidlá detekčnej súpravy na báze streptavidínu sú optimalizované a pripravené na použitie s protilátkami Biocare a pomocnými činidlami. Nie je potrebná žiadna rekonštitúcia, miešanie, riedenie alebo titrácia.

Známe aplikácie:

Imunohistochémia (tkanivá fixované v parafíne fixované vo formalíne)

Reaktivita druhov:

Ľažké a ľahké reťazce myšieho IgG

Dodávané ako:

Pufrvaný fyziologický roztok, pH 7,2-7,4, obsahujúci proteínový nosič a menej ako 0,01 % ProClin 300 a/alebo menej ako 0,5 % ProClin 950 ako konzervačnú látku. Ďalšie podrobnosti nájdete v karte bezpečnostných údajov.

Potrebné materiály a činidlá, ktoré nie sú súčasťou dodávky:

Mikroskopické sklička, kladne nabité

Pozitívne a negatívne kontroly tkaniva

Pústna komora* alebo podobná Sušiaca pec (voliteľné)

Xylén alebo náhrada xylénu

Etolan alebo reagenčný alkohol

Odmäťovacia komora* alebo podobný tlakový hrniec (voliteľné)

Deionizovaná alebo destilovaná voda

Premývací pufor*

Činidlá na predúpravu* (voliteľné)

Enzymové trávenie* (voliteľné)

Peroxidázový blok*

Proteinový blok* (voliteľné)

Súprava na blokovanie avidín-biotínu

Primárna protilátka*

Označenie streptavidínu*

Negatívne kontrolné činidlá*

Chromogény*

Hematoxylín* (kontrafarba)

Blueingovo činidlo*

Montážne médium*

Krycie sklo

Svetelný mikroskop (40-400x zväčšenie)

* Biocare Medical Products: Informácie o katalógových číslach a objednávaní nájdete na webovej stránke Biocare Medical na adrese <http://biocare.net>. Niektoré činidlá uvedené výšie sú založené na špecifickej aplikácii a použitom detekčnom systéme.

Skladovanie a stabilita:

Skladujte pri teplote 2°C až 8°C. Ak sa liek uchováva za týchto podmienok, je stabilný do dátumu expirácie vytlačeného na štítku injekčnej liekovky. Nepoužívajte po dátume expirácie. Skladovanie za akýchkoľvek iných podmienok, ako sú uvedené, musí byť overené. Činidlá súpravy sú pripravené na použitie a nemali by sa riediť. Stabilita užívateľom zriadeného činidla nebola stanovená spoločnosťou Biocare.

Pozitívne a negatívne kontroly by sa mali vykonávať súčasne so všetkými vzorkami pacienta. Ak spozorujete neočakávané zafarbenie, ktoré nemožno vysvetliť odchýlkami v laboratórnych postupoch a máte podezrenie na problém s protilátkou, kontaktujte technickú podporu spoločnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002 alebo prostredníctvom informácií o technickej podpore poskytovaných na biocare.net.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

96/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Slovak

BIOCARE
MEDICAL

Príprava vzorky:

Tkanivá fixované vo formalíne sú vhodné na použitie pred zaliatím do parafínu. Kostné tkanivá by sa mali pred spracovaním tkaniva odvápiť, aby sa uľahčilo rezanie tkaniva a zabránilo sa poškodeniu čepielok mikrotómu.^{1,2}

Správne fixované a zaliate tkanivá exprimujúce špecifikovaný cielový antigén by sa mali skladovať na chladnom mieste. Zákon o zlepšovaní klinických laboratórií (CLIA) z roku 1988 vyžaduje v 42 CFR§493.1259(b), že „Laboratórium musí uchovávať zafarbené sklička najmenej desať rokov od dátumu vyšetrenia a uchovávať bloky vzoriek najmenej dva roky od dátumu vyšetrenia.“³

Ošetrenie tkanív pred farbením:

Vykonalte teplom indukované vyhladávanie epitopu (HIER) podľa odporúčaného protokolu uvedeného nižšie. Ukázalo sa, že rutinné používanie HIER pred IHC minimalizuje nekonzistentnosť a štandardizuje farbenie.^{4,5}

Varovanie a bezpečnostné opatrenia:

- Reagencie súpravy obsahujú menej ako <0,05 % ProClin 300 a/alebo menej ako 1 % 950> Pri manipulácii používajte rukavice a ochranný odev a vykonajte primerané opatrenia, pretože ProClin je klasifikovaný ako dráždivý a môže spôsobiť senzibilizáciu pri kontakte s pokožkou. Zabráňte kontaktu s očami, pokožkou a sliznicami.
- Zaobchádzajte s materiálmi ľudského alebo živočíšneho pôvodu ako s potenciálne biologicky nebezpečnými a likvidujte ich s náležitými opatreniami. V prípade expozície postupujte podľa zdravotníckych smerníc zodpovedných orgánov, kde sa používa.^{6,7}
- So vzorkami pred a po fixácii a so všetkými materiálmi, ktoré sú im vystavené, by sa malo zaobchádzať tak, ako keby boli schopné prenášať infekciu, a mali by sa likvidovať podľa náležitých opatrení. Nikdy nepipetujte reagencie ústami a vyhýbajte sa kontaktu kože a sliznic s činidlami a vzorkami. Ak sa reagencie alebo vzorky dostanú do kontaktu s citlivými oblastami, umyte ich veľkým množstvom vody.⁸
- Mikrobiálna kontaminácia činidel môže viesť k zvýšeniu nešpecifického zafarbenia.
- Iné inkubačné časy alebo teploty, ako sú uvedené, môžu viesť k chybným výsledkom. Používateľ musí každú takúto zmenu potvrdiť.
- Nepoužívajte činidlo po dátume expirácie vytláčenom na injekčnej liekoyke.
- Činidlá súpravy na detekciu mikropolymérov sú optimalizované a prípravené na použitie s protílátkami Biocare a pomocnými činidlami. Odporúčané protokoly a podmienky použitia nájdete v pokynoch na použitie primárnej protílátky a ďalších pomocných reagencií.
- Dodržiavajte požiadavky miestnych a/alebo štátnych orgánov na spôsob likvidácie.
- KBÚ je k dispozícii na požiadanie a nachádza sa na adrese <http://biocare.net>.
- Nahláste akékoľvek väzne incidenty súvisiace s týmto zariadením kontaktovaním miestneho zástupcu spoločnosti Biocare a príslušným orgánom členského štátu alebo krajiny, kde sa používateľ nachádza.

Inštrukcie na používanie:

Činidlá súpravy na detekciu mikropolymérov sú optimalizované a prípravené na použitie s protílátkami Biocare a pomocnými činidlami. Odporúčané protokoly a podmienky použitia nájdete v pokynoch na použitie primárnej protílátky a ďalších pomocných reagencií. Inkubačné časy a teploty sa budú lišiť v závislosti od špecifického protokolu protílátky, ktorý sa použije.

Pri používaní automatického farbiaceho prístroja si preštudujte prevádzkové parametre v návode na obsluhu konkrétneho prístroja a v návode na použitie.

Všeobecné procesné kroky na vykonávanie IHC:

- Deparafinizácia: Deparafinizujte sklička pomocou Slide Brite alebo xylénu. Hydratujte sklička v sérii odstupňovaných alkoholov do vody.
- Peroxidový blok: Blokujte 5 minút peroxidom 1.
- Roztok/protokol na predúpravu: Odporúčaný roztok a protokol na predúpravu nájdete v príslušnom údajovom liste primárnych protílátok.
- Blokovanie avidínu: Inkubujte 10-20 minút pri teplote miestnosti s Avidínom od Biocare.
- Biotínový blok: Inkubujte 10-20 minút pri teplote miestnosti s biotínom od Biocare.
- Proteínový blok (voliteľné): Inkubujte 10-15 minút pri izbovej teplote (RT) s odstrel'ovačom pozadia.
- Primárna protílátka: Inkubačný čas nájdete v príslušnom údajovom liste primárnych protílátok.
- Link: Inkubujte 10 minút pri teplote miestnosti s 4plus Biotinylated Link.
- Označenie: Inkubujte 10-20 minút pri teplote miestnosti s 4plus Streptavidinom HP alebo Streptavidinom AP Label.
- Chromogén: Inkubujte 10-20 minút pri RT s Biocare's DAB alebo inkubujte 5-7 minút pri RT s Warp Red.
- Kontrafarba: Kontrafarba s hematoxylínom. Opláchnite deionizovanou vodou. Aplikujte Tacha's Blueing Solution na 1 minútu. Opláchnite deionizovanou vodou.

Technické poznámky:

- Na premývanie použite TBS.

Kontrola kvality:

Pozrite si štandardy kvality CLSI pre návrh a implementáciu imunohistochemických testov; Schwálená smernica – druhé vydanie (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁹

Positívna kontrola tkaniva:

Externé pozitívne kontrolné materiály by mali byť čerstvý vzorky fixované, spracované a zaliate čo najskôr rovnakým spôsobom ako vzorka (vzorky) pacienta. Pozitívne kontroly tkaniva naznačujú správne pripravené tkanivá a správne techniky farbenia. Do každého cyklu farbenia by mala byť zahrnutá jedna pozitívna externá tkanivová kontrola pre každý súbor testovacích podmienok.

Tkanivá použité pre externé materiály pre pozitívnu kontrolu by sa mali vyberať zo vzoriek pacientov s dobre charakterizovanými nízkymi hladinami pozitívnej cielovej aktivity, ktorá poskytuje slabé pozitívne zafarbenie. Nízka úroveň pozitivity pre externé pozitívne kontroly je navrhnutá tak, aby zabezpečila detekciu jemných zmien citlivosti primárnej protílátky z nestability alebo problémov s metodikou IHC. Komercne dostupné tkanivové kontrolné sklička alebo vzorky spracované inak ako vzorka (vzorky) pacienta iba overujú účinnosť činidla a neoverujú prípravu tkaniva.

Známe pozitívne kontroly tkaniva by sa mali používať len na monitorovanie správneho výkonu spracovaných tkanív a testovacích činidel, a nie ako pomôcka pri formulovaní špecifickej diagnózy vzoriek pacientov. Ak pozitívne kontroly tkaniva neprekážu pozitívne zafarbenie, výsledky s testovanými vzorkami by sa mali považovať za neplatné.

Negatívna kontrola tkaniva:

Na overenie špecificity primárnej protílátky IHC použite negatívnu tkanivovú kontrolu fixovanú, spracovanú a zapustenú rovnakým spôsobom ako vzorka (vzorky) pacienta pri každom cykle farbenia. preukázanie cielového antigénu a poskytnutie indikácie špecifického zafarbenia pozadia (falošne pozitívne farbenie). Môže to byť aj množstvo rôznych typov buniek prítomných vo väčšine tkanivových rezov byť použité laboratóriom ako interné negatívne kontrolné miesta na overenie výkonu IHC technické údaje. Typy a zdroje vzoriek, ktoré možno použiť na negatívne tkanivo ovládacie prvky sú uvedené v časti Výkonnostné charakteristiky.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

97/116

TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Slovak

BIOCARE
MEDICAL

Ak sa v negatívnej kontrole tkaniva vyskytne špecifické zafarbenie (falošne pozitívne zafarbenie), výsledky so vzorkami pacienta by sa mali považovať za neplatné.

Nešpecifická negatívna kontrola reagencií:

Použite nešpecifickú negatívnu kontrolu činidla namiesto primárnej protilátky s rezom každej vzorky pacienta na vyhodnotenie nešpecifického zafarbenia a umožňujú lepšiu interpretáciu špecifického zafarbenia v mieste antigénu. V ideálnom prípade obsahuje negatívna reagenčná kontrola protilátku vyrobenú a pripravenú (t. j. zriedenú na rovnakú koncentráciu použitím rovnakého riedidla) na použitie rovnakým spôsobom ako primárna protilátka, ale nevykazuje žiadnu špecifickú reaktivitu s ľudskými tkanivami v rovnejkej matrici/rroztoku ako protilátku Biocare . Samotné riedidlo sa môže použiť ako menej žiaduca alternatíva k predtým opísaným negatívnym kontrolám činidlám. Inkubačná doba pre negatívnu reagenčnú kontrolu by mala zodpovedať dobe primárnej protilátky.

Ked' sa na sériových rezoch použijú panely niekoľkých protilátok, negatívne zafarbené oblasti jedného sklička môžu slúžiť ako negatívna/nešpecifická väzbová kontrola pozadia pre iné protilátky. Na odlišenie endogénnej enzymovej aktivity alebo nešpecifickej väzby enzymov od špecifickej imunoreaktivity môžu byť ďalšie tkanivá pacienta zafarbené výlučne substrát-chromogén alebo enzymovými komplexmi (PAP, avidín-biotín, streptavidín) a substrát-chromogén.

Overenie testu:

Pred prvým použitím protilátky alebo farbiaceho systému v diagnostickom postupe by si mal používateľ overiť špecifickosť protilátky testovaním na sérii vlastných tkanív so známymi imunohistochemickými charakteristikami, ktoré predstavujú známe pozitívne a negatívne tkanivá. Pozrite si postupy kontroly kvality predtým uvedené v tejto časti príbalového letáku k produktu a odporúčania kontroly kvality certifikačného programu CAP¹⁰ pre imunohistochemiu a/alebo usmernenie NCCLS IHC¹¹. Tieto postupy kontroly kvality by sa mali opakovať pre každú novú šaržu protilátok alebo vždy, keď dôjde k zmene parametrov testu. Na overenie testu sú vhodné tkanivá uvedené v časti Výkonnostné charakteristiky.

Riešenie problémov:

Postupujte podľa odporúčaní protokolu špecifického pre protilátky podľa poskytnutého údajového listu. Ak sa vyskytnú atypické výsledky, kontaktujte technickú podporu spoločnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002.

Interpretácia farbenia:

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG vytvára hnedú (HRP) alebo červenú (AP) farebnú reakciu na miestach antigénu lokalizovaných primárnu protilátkou. Pred interpretáciou výsledkov pacienta musí zafarbenie kontrol využiť kvalifikovaný patológ. Negatívne kontroly sa využadujú a porovnájú so zafarbenými skličkami, aby sa zabezpečilo, že akékoľvek pozorované zafarbenie nie je výsledkom nešpecifických interakcií.

Pozitívna kontrola tkaniva:

Pozitívna tkanivová kontrola zafarbená indikovanou protilátkou by sa mala najskôr vyšetriť, aby sa zistilo, že všetky činidlá fungujú správne. Príslušné farbenie cielových buniek (ako je uvedené vyššie) svedčí o pozitívnej reaktivite. Ak pozitívne kontroly tkaniva neprekážu pozitívne zafarbenie, akékoľvek výsledky s testovanými vzorkami by sa mali považovať za neplatné.

Farba reakčného produktu sa môže meniť v závislosti od použitých substrátových chromogénov. Očakávané farebné reakcie nájdete v príbalových letákoch substrátu. Ďalej je možné pozorovať metachromáziu vo variantoch spôsobu farbenia.¹²

Ked' sa použije kontrastné farbenie, v závislosti od dĺžky inkubácie a účinnosti použitého kontrastného farbenia, kontrastné farbenie povedie k zafarbeniu

bunkových jadier. Nadmerné alebo neúplné kontrastné farbenie môže ohrozit správnu interpretáciu výsledkov. Odporúčané kontrastné farbenie nájdete v protokole(och).

Negatívna kontrola tkaniva:

Negatívna tkanivová kontrola by sa mala vyšetriť po pozitívnej kontrole tkaniva, aby sa overila špecifickosť označenia cielového antigénu primárnu protilátkou. Neprítomnosť špecifického zafarbenia v negatívnej kontrole tkaniva potvrzuje nedostatok krízovej reaktivity protilátky s bunkami/bunkovými zložkami. Ak sa v negatívnej vonkajšej kontrole tkaniva vyskytne špecifické zafarbenie (falošne pozitívne zafarbenie), výsledky so vzorkou pacienta by sa mali považovať za neplatné.

Nešpecifické sfarbenie, ak je prítomné, má zvyčajne difúzny vzhľad. Sporadické zafarbenie spojivového tkaniva možno pozorovať aj na rezoch z tkanív nadmerne fixovaných formalínom. Na interpretáciu výsledkov farbenia použite neporušené bunky. Nekrotické alebo degenerované bunky sa často farbia nešpecificky.

Tkanivo pacienta:

Preskúmajte vzorky pacientov zafarbené indikovanou protilátkou posledný. Intenzita pozitívneho zafarbenia by sa mala posúdiť v kontexte akéhokoľvek nešpecifického zafarbenia pozadia negatívnej kontroly s činidlom. Ako pri akomkoľvek imunohistochemickom teste, negatívny výsledok znamená, že antigén neboli detegovaný, nie že antigén chýbal v testovaných bunkách/tkanive. V prípade potreby použite panel protilátok na identifikáciu falošne negatívnych reakcií.

Špecifické informácie týkajúce sa indikovanej imunoreaktivity protilátky nájdete v časti Súhrn a vysvetlenie, obmedzenia a výkonnostné charakteristiky.

Obmedzenia:

Všeobecné obmedzenia:

1. Pre *in vitro* diagnostické (IVD) použitie
2. Tento produkt je určený len na profesionálne použitie: Imunohistochémia je viackrokový diagnostický proces, ktorý pozostáva zo špecializovaného školenia vo výbere vhodných činidiel; výber tkaniva, fixácia a spracovanie; príprava podložného sklička IHC; a interpretácia výsledkov farbenia.
3. Na použitie len na lekársky predpis. (Len Rx)
4. Farbenie tkaniva závisí od manipulácie a spracovania tkaniva pred farbením. Nesprávna fixácia, zmrazovanie, rozmrázovanie, umývanie, sušenie, zahrievanie, rezanie alebo kontaminácia inými tkanivami alebo tekutinami môže spôsobiť artefakty, zachytávanie protilátok alebo falošne negatívne výsledky. Nekonzistentné výsledky môžu byť spôsobené odchylikami v metódach fixácie a zapustenia alebo prirodzenými nepravidelnosťami v tkanive.¹³
5. Nadmerné alebo neúplné kontrastné farbenie môže ohrozit správnu interpretáciu výsledkov.
6. Klinická interpretácia akéhokoľvek pozitívneho alebo negatívneho zafarbenia by sa mala hodnotiť v kontexte klinického obrazu, morfológie a iných histopatologických kritérií. Klinická interpretácia akéhokoľvek pozitívneho alebo negatívneho zafarbenia by mala byť doplnená morfológickými štúdiami s použitím správnych pozitívnych a negatívnych vnútorných a vonkajších kontrol, ako aj iných diagnostických testov. Je zodpovednosťou kvalifikovaného patológova, ktorý je oboznámený so správnym používaním IHC protilátok, činidel a metód, interpretovať všetky kroky použité na prípravu a interpretáciu konečného IHC preparátu.
7. Optimálne protokoly pre konkrétnu aplikáciu sa môžu lišiť. Tieto zahŕňajú, ale nie sú obmedzené na fixáciu, metódu získania tepla, inkubačné časy, riedenie protilátky, hrúbku tkanivového rezu a použití

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

98/116



TP v3 (12/15/2021)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Slovak

BIOCARE
MEDICAL

- detekčnú súpravu. Odporúčané protokoly a podmienky použitia nájdete v pokynoch na použitie primárnej protilátky a ďalších pomocných reagencií. Odporúčania a protokoly údajových listov sú založené na výhradnom používaní produktov Biocare. V konečnom dôsledku je zodpovednosťou vyšetrovateľa určiť optimálne podmienky.
8. Tento produkt nie je určený na použitie v prietokovej cytometrii. Výkonnostné charakteristiky neboli stanovené pre prietokovú cytometriu.
 9. Tkaniá od osôb infikovaných vírusom hepatitídy B a obsahujúce povrchový antigen hepatitídy B (HBsAg) môžu vykazovať nešpecifické zafarbenie chrenovou peroxidázou.¹⁴
 10. Reagencie môžu vykazovať neočakávané reakcie v predtým netestovaných tkaniach. Možnosť neočakávaných reakcií ani v testovaných skupinách tkaniov nie je možné úplne eliminovať z dôvodu biologickej variability expresie antigénu v novotvaroch alebo iných patologických tkaniach.¹⁵ Kontaktujte technickú podporu spoločnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002 alebo prostredníctvom informácií technickej podpory poskytnutých na biocare.net so zdokumentovanými neočakávanými reakciami.
 11. Normálne/neimunitné séra z rovnakého zvieracieho zdroja ako sekundárne antiséra použité v blokovacích krokoch môžu spôsobiť falošne negatívne alebo falošne pozitívne výsledky v dôsledku autoprotilátok alebo prirodzených protilátok.
 12. Falošne pozitívne výsledky môžu byť pozorované v dôsledku neimunologickej väzby proteínov alebo produktov reakcie substrátu. Môžu byť spôsobené aj pseudoperoxidázovou aktivitou (erytrocyty), endogénou peroxidázovou aktivitou (cytochróm C) alebo endogénym biotínom (napr. pečeň, prsia, mozog, obličky) v závislosti od typu použitého imunočerivca.¹³
 13. Negatívny výsledok znamená, že antigen neboli detegovaný, nie že antigen chýbal v skúmaných bunkách alebo tkanive.

Špecifické obmedzenia produktu:

Žiadne ďalšie špecifické obmedzenia produktu.

Výkonnostné charakteristiky:

Farbenie sa uskutočňovalo s použitím protokolov poskytnutých v návode na použitie špecifických pre protilátku alebo podľa špecifikácie. Citlivosť a špecifita farbenia sa hodnotila v celom rozsahu normálnych a neoplastických typov tkaniov hodnotených počas vývoja primárnych protilátok.

Reprodukčnosť:

Reprodukčnosť detekčných systémov Biocare a systémových činidiel sa overuje meraním strednej presnosti, pri ktorom boli rôzne šarže činidiel testované počas dĺžeho časového obdobia pomocou rôznych operátorov, analytikov, šarží činidiel, vzoriek tkaniov a zariadení. Farbenie získané pre každé hodnotené detekčné činidlo bolo konzistentné a uskutočnilo sa podľa očakávania.

4. Tkanivové rezy zmyjú sklička počas inkubácie – Skontrolujte sklička, aby ste sa uistili, že sú pozitívne nabité.
5. Špecifické zafarbenie je príliš tmavé – Skontrolujte protokol a zistite, či bol na skličko aplikovaný správny titer protilátky, ako aj správne inkubačné časy pre všetky činidlá. Okrem toho sa uistite, že protokol obsahuje dostatok premývacích krovok na odstránenie nadbytočných činidiel po dokončení inkubačných krovok.

Referencie:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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 Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

Riešenie problémov:

1. Žiadne zafarbenie na skličkach – Skontrolujte, či sa použilo vhodné tkano pozitívnej kontroly, protilátku a detekčné produkty. Skontrolujte neúplné alebo nesprávne odstránenie vosku alebo predbežnú úpravu.
2. Slabé zafarbenie všetkých skličok – Skontrolujte, či sa použilo vhodné tkano pozitívnej kontroly, protilátku a detekčné produkty.
3. Nadmerné pozadie všetkých skličok – Môžu existovať vysoké hladiny endogénneho biotínu (ak používate detekčné produkty na báze biotínu), endogénna aktivita HRP premieňajúca chromogén na farebný konečný produkt (použite peroxidázový blok) alebo nadmerná nešpecifická proteínová interakcia (použite protein blok, ako je blokovací roztok na báze séra alebo kazeínu).

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

99/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Slovenian

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Predvidena uporaba:

Zain vitro Diagnostična uporaba

Biotinilirani kozji protimišči IgG 4plus je namenjen za uporabo v protokolih ročnega ali avtomatiziranega imunohistokemijskega (IHC) barvanja z uporabo dvostopenjske metode nanašanja hrenove peroksidaze (HRP) ali alkalne fosfataze (AP) s konjugatom streptavidina. To odkrivanje s konjugatom streptavidina je zasnovano na odkrivanju primarnih protiteles IgG miši, vezanih na ciljne antogene v tkivih, fiksiranih s formalinom, v parafinu (FFPE) med postopkom barvanja IHC. Klinično interpretacijo kakšnega koli obarvanja ali njegove odsotnosti je treba dopolniti z morfološkimi študijami in ustreznimi kontrolami ter jo mora oceniti usposobljen patolog v kontekstu bolnikove klinične anamneze in drugih diagnostičnih testov.

Povzetek in razlaga:

The4plus biotinilirani kozji protimišči IgG je zasnovan z uporabo dvostopenjske metode za odkrivanje mišjih primarnih protiteles za tvorbo kompleksa protitelo-encim. Ta kompleks se nato vizualizira z uporabo ustreznega substrata/kromogena. Pri dvostopenjski metodi se sekundarno protitelo biotinilira, zaporedno pa se uporabi dodaten, z encimom označen streptavidin. Dvostopenjska metoda je zasnovana za izboljšanje odkrivanja v primerih nizko izraženih antigenov.

To biotinilirano protitelo reagira s težkimi in lahkimi verigami mišjega IgG. Adsorbira se proti konju, govedu in človeku. Reagira na vse podrazrede mišjih IgG in mišjih IgM. Bil je afinitetno prečiščen z minimalno navzkrižno reakcijo na človeške, goveje in konjske serumski beljakovine. Med biotinom in sekundarnim protitelesom je bila nameščena dolga distančna roka, da se poveča občutljivost pri spajjanju s konjugati streptavidina. Biotinilirani kozji protimišči IgG 4plus se lahko uporablja s sistemmi za odkrivanje streptavidin hrenove peroksidaze ali streptavidin alkalne fosfataze.

Načelo postopka:

Ta komplet za odkrivanje mikropolimerov se lahko uporablja pri imunohistokemijskem testiranju s formalinom fiksiranim in v parafin vgrajenih tkivnih odsekov. Na splošno imunohistokemični (IHC) tehnike barvanja omogočajo vizualizacijo antigenov z zaporedno uporabo a specifično protitelo proti antigenu (primarno protitelo), sekundarno protitelo proti primarnemu protitelesu (neobvezno povezovalno protitelo/sonda), encimski kompleks in kromogeni substrat z vmesnimi koraki pranja. Posledica encimske aktivacije kromogena je viden reakcijski produkt na mestu antiga. Vzorec lahko nato obarvamo in prekrjemo s pokrivnim stekelcem. Rezultati se interpretirajo z uporabo luč mikroskopom in pomč pri diferencialni diagnostiki patofizioloških procesov, ki lahko oz morda ni povezan z določenim antigenom.

Materiali in metode:

Priloženi reagenti:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Rekonstitucija, mešanje, redčenje, titracija:

Reagenti kompleta za odkrivanje na osnovi streptavidina so optimizirani in pripravljeni za uporabo s protitelesi Biocare in pomožnimi reagenti. Rekonstitucija, mešanje, redčenje ali titracija niso potrebni.

Znane aplikacije:

Imunohistokemija (tkiva, fiksirana s formalinom in parafinom)

Reaktivnost vrste:

Težke in lahke verige mišjega IgG

Dobavljeno kot:

Pufirana fiziološka raztopina, pH 7,2-7,4, ki vsebuje proteinski nosilec in manj kot 0,01 % ProClin 300 in/ali manj kot 0,5 % ProClin 950 kot konzervans. Za dodatne podrobnosti glejte varnostni list.

Potrebni materiali in reagenti, ki niso priloženi:

Mikroskopska stekelca, pozitivno nabita
Positivne in negativne kontrole tkiva
Puščavska komora* ali podobna sušilna pečica (izbirno)
Ksilén ali nadomestek ksiléna
Etanol ali reagentni alkohol
Komora za razkrivanje* ali podoben lonec na pritisk (neobvezno)
Deionizirana ali destilirana voda
Pralni pufer*
Reagenti za predhodno obdelavo* (neobvezno)
Encimska prebava* (neobvezno)
Blok peroksidaze*
Beljakovinski blok* (neobvezno)
Komplet za blokiranje avidin-biotina
Primarno protitelo*
Oznaka streptavidina*
Reagenti negativne kontrole*
Kromogeni*
Hematoksilin* (protibarvanje)
Reagent za pomodrelo*
Montažni medij*
Pokrivo steklo
Svetlobni mikroskop (40-400-kratna povečava)

* Biocare Medical Products: Za informacije o kataloških številkah in naročanju obiščite spletno mesto Biocare Medical na naslovu <http://biocare.net>. Nekateri zgoraj navedeni reagenti temeljijo na specifični uporabi in uporabljenem sistemu odkrivanja.

Shranjevanje in stabilnost:

Shranjujte pri 2°C do 8°C. Pri shranjevanju pod temi pogoji je izdelek stabilen do datuma izteka roka uporabnosti, ki je natisnjen na nalepki vialie. Ne uporabljajte po preteku roka uporabnosti. Preveriti je treba shranjevanje pod kakšnimi koli pogoji, razen navedenih. Reagenti kompleta so pripravljeni za uporabo in jih ne smete redčiti. Biocare ni ugotovil stabilnosti uporabniško razredčenega reagenta.

Positivne in negativne kontrole je treba opraviti hkrati z vsemi vzorci bolnikov. Če opazite nepričakovano obarvanje, ki ga ni mogoče razložiti z variacijami v laboratorijskih postopkih, in obstaja sum na težavo s protitelesi, se obrnite na tehnično podporo Biocare na 1-800-542-2002 ali prek informacij o tehnični podpori na biocare.net.

Priprava vzorca:

Robčki, fiksirani v formalinu, so primerni za uporabo pred vgradnjo v parafin. Kostna tkiva je treba pred obdelavo tkiva dekalcificirati, da olajšamo rezanje tkiva in preprečimo poškodbe rezil mikrotoma.^{1,2}

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Slovenian

BIOCARE
MEDICAL

Pravilno fiksirana in vdelana tkiva, ki izražajo določeno tarčo antigena, morajo biti shranjena na hladnem. Zakon o izboljšanju kliničnega laboratorija (CLIA) iz leta 1988 zahteva v 42 CFR§493.1259(b), da mora laboratorij hrani obarvana stekelca najmanj deset let od datuma pregledati in hrani bloke vzorcev vsaj dve leti od datuma pregleda.³

Obdelava tkiv pred barvanjem:

Izvedite toplotno povzročeno pridobivanje epitopov (HIER) po priporočenem protokolu spodaj. Pokazalo se je, da rutinska uporaba HIER pred IHC zmanjšuje nedoslednost in standardizira barvanje.^{4,5}

Opozorilo in previdnostni ukrepi:

1. Komplet reagentov vsebuje manj kot <0,05 % ProClin 300 in/ali manj kot 1 % 950>. Nosite rokavice in zaščitno obleko ter upoštevajte razumne previdnostne ukrepe pri ravnjanju, saj je ProClin razvrščen kot dražilni in lahko povzroči preobčutljivost kože. Izogibajte se stiku z očmi, kožo in sluznicami.
2. S snovmi človeškega ali živalskega izvora ravnajte kot s potencialno biološko nevarnimi snovmi in jih odstranite z ustreznimi varnostnimi ukrepi.
3. V primeru izpostavljenosti upoštevajte zdravstvene smernice pristojnih organov, kjer jih uporabljate.⁶
4. Z vzorci pred in po fiksaciji ter z vsemi materiali, ki so jim izpostavljeni, je treba ravnati, kot da bi lahko prenašali okužbo, in jih odstraniti z ustreznimi varnostnimi ukrepi. Reagentov nikoli ne pipetirajte z usti in se izogibajte stiku reagentov in vzorcev s kožo in sluznicami. Če pridejo reagenti ali vzorci v stik z občutljivimi območji, jih sperite z veliko vode.⁸
5. Časi inkubacije ali temperature, ki niso navedene, lahko dajo napačne rezultate. Uporabnik mora vsako takšno spremembo potrditi.
6. Reagenta ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti, ki je natisnjen na viali.
7. Reagenti kompleta za odkrivanje mikropolimerov so optimizirani in pripravljeni za uporabo s protitelesi Biocare in pomožnimi reagenti. Za priporočene protokole in pogoje uporabe glejte navodila za uporabo primarnega protitelesa in drugega pomožnega reagenta.
8. Upoštevajte zahteve lokalnih in/ali državnih oblasti glede načina odstranjevanja.
9. Varnostni list je na voljo na zahtevo in se nahaja na <http://biocare.net>.
10. Prijavite vse resne incidente, povezane s to napravo, tako da se obrnete na lokalnega predstavnika družbe Biocare in ustrezne pristojne organe države članice ali države, kjer se uporabnik nahaja.

Navodila za uporabo:

Reagenti kompleta za odkrivanje mikropolimerov so optimizirani in pripravljeni za uporabo s protitelesi Biocare in pomožnimi reagenti. Za priporočene protokole in pogoje uporabe glejte navodila za uporabo primarnega protitelesa in drugega pomožnega reagenta. Časi in temperature inkubacije se bodo razlikovali glede na določen protokol protiteles, ki se uporablja.

Pri uporabi avtomatiziranega instrumenta za obarvanje si o operativnih parametrih oglejte priročnik za uporabo posebnega instrumenta in navodila za uporabo.

Splošni postopkovni koraki za izvajanje IHC:

1. Deparafinizacija: stekelca deparafinizirajte v Slide Brite ali ksilenu. Hidrat drsi v nizu razvrščenih alkoholov v vodo.
2. Peroxide Block: Blokirajte 5 minut s Peroxidized 1.
3. Raztopina/protokol za predhodno obdelavo: Za priporočeno raztopino in protokol za predhodno obdelavo si oglejte podatkovni list ustreznega primarnega protitelesa.
5. Avidin Block: Inkubirajte 10-20 minut pri RT z Biocare's Avidin.

6. Blok biotina: Inkubirajte 10-20 minut pri sobni temperaturi z biotinom Biocare.

7. Protein Block (izbirno): Inkubirajte 10-15 minut pri sobni temperaturi (RT) z Background Sniper.

8. Primarno protiteло: prosimo, glejte podatkovni list ustreznega primarnega protitelesa za čas inkubacije.

9. Link: Inkubirajte 10 minut pri sobni temperaturi s 4plus Biotinylated Link.

10. Oznaka: Inkubirajte 10-20 minut pri sobni temperaturi s 4plus Streptavidin HRP ali Streptavidin AP Label.

11. Kromogen: Inkubirajte 10-20 minut pri sobni temperaturi z Biocare DAB ali inkubirajte 5-7 minut pri sobni temperaturi z Warp Red.

12. Protobarvanje: Protobarvanje s hematoksilinom. Izperite z deionizirano vodo. Nanesite raztopino Tacha's Bluing Solution za 1 minutu. Izperite z deionizirano vodo.

Tehnične opombe:

1. Uporabite TBS za korake pranja.

Nadzor kakovosti:

Glejte standarde kakovosti CLSI za načrtovanje in izvajanje imunohistokemijskih testov; Odobrene smernice – druga izdaja (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA ZDA (www.clsi.org). 2011⁹

Pozitivna kontrola tkiva:

Materiali za zunanjou pozitivno kontrolu morajo biti sveži vzorci, fiksirani, obdelani in vdelani čim prej na enak način kot vzorci bolnikov. Pozitivne kontrole tkiva kažejo na pravilno pripravljena tkiva in pravilne tehnike barvanja. V vsak postopek barvanja je treba vključiti eno pozitivno zunanjou kontrolu tkiva za vsak niz testnih pogojev.

Tkiva, uporabljena za materiale za zunanjou pozitivno kontrolu, je treba izbrati iz bolnikovih vzorcev z dobro označenimi nizkimi ravnimi pozitivne ciljne aktivnosti, ki daje šibko pozitivno obarvanje. Nizka raven pozitivnosti za zunanjou pozitivne kontrole je zasnovana tako, da zagotavlja odkrivanje subtelnih sprememb v občutljivosti primarnega protitelesa zaradi nestabilnosti ali težav z metodologijo IHC. Komercialno dostopna stekelca za kontrolu tkiva ali vzorci, obdelani drugače kot vzorec(-i) bolnika, potrebujejo samo učinkovitost reagenta in ne preverjajo priprave tkiva.

Znane pozitivne kontrole tkiv je treba uporabiti samo za spremljanje pravilnega delovanja obdelanih tkiv in testnih reagentov, ne pa kot pomoč pri oblikovanju specifične diagnoze bolnikovih vzorcev. Če pozitivne kontrole tkiva ne pokažejo pozitivnega obarvanja, je treba rezultate s preskusnimi vzorci štetni za neveljavne.

Negativna kontrola tkiva:

Za preverjanje specifičnosti primarnega protitelesa IHC za prikaz tarčnega antigena in podatek o specifičnem obarvanju ozadja (lažno pozitivno obarvanje). Tudi različne vrste celic, ki so prisotne v večini delov tkiva, lahko laboratorij uporablja kot mesta notranje negativne kontrole za preverjanje delovanja IHC specifikacije. Vrste in viri vzorcev, ki se lahko uporabijo za negativno tkivo kontrolniki so navedeni v razdelku Performance Characterists.

Če se pri negativni kontroli tkiva pojavi specifično obarvanje (lažno pozitivno obarvanje), je treba rezultate bolnikovih vzorcev obravnavati kot neveljavne.

Nespecifična negativna kontrola reagenta:

Uporabite nespecifično negativno kontrolo reagenta namesto primarnega protitelesa z odsekom vsakega bolnikovega vzorca, da ocenite nespecifično obarvanje in omogočajo boljšo interpretacijo specifičnega obarvanja na mestu antigena. V idealnem primeru negativna kontrola reagenta vsebuje proizvedeno in pripravljeno protiteло (tj. razredčeno na enako koncentracijo z istim

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Slovenian

BIOCARE
MEDICAL

razredčilom) za uporabo na enak način kot primarno protiteleso, vendar ne kaže specifične reaktivnosti s človeškimi tkivi v istem matriksu/raztopini kot protiteleso Biocare. Samo razredčilo se lahko uporabi kot manj zaželena alternativa prej opisanim negativnim kontrolam reagenta. Inkubacijsko obdobje za negativno kontrolo reagenta mora ustrezati obdobju primarnega protitelesa.

Kadar se plošče z več protitelesi uporabljajo na serijskih odsekih, lahko negativno obarvana področja enega preparata služijo kot negativna/nespecifična vezavna kontrola ozadja za druga protitelesa. Za razlikovanje endogene encimske aktivnosti ali nespecifične vezave encimov od specifične imunoreaktivnosti se lahko dodatna bolnikova tkiva obarvajo izključno s substrat-kromogenom ali encimskimi kompleksi (PAP, avidin-biotin, streptavidin) oziroma substrat-kromogen.

Preverjanje testa:

Pred prvo uporabo protitelesa ali sistema obarvanja v diagnostičnem postopku mora uporabnik preveriti specifičnost protitelesa tako, da ga testira na nizu lastnih tkiv z znanimi lastnostmi imunohistokemičnega delovanja, ki predstavljajo znana pozitivna in negativna tkiva. Glejte postopke nadzora kakovosti, ki so bili predhodno opisani v tem razdelku vložka izdelka, in priporočila za nadzor kakovosti certifikacijskega programa CAP¹⁰ za imunohistokemijo in/ali smernico NCCLS IHC¹¹. Te postopke nadzora kakovosti je treba ponoviti za vsako novo serijo protiteles ali vsakič, ko pride do sprememb parametrov testa. Tkiva, navedena v razdelku z značilnostmi delovanja, so primerena za preverjanje testa.

Odpravljanje težav:

Sledite priporočilom protokola za specifična protitelesa v skladu s priloženim podatkovnim listom. Če pride do netipičnih rezultatov, se obrnite na tehnično podporo Biocare na 1-800-542-2002.

Razlaga barvanja:

Biotinilirani kozji protimišči IgG 4plus povzroči rjavo (HRP) ali rdečo (AP) barvno reakcijo na mestih antigena, ki jih lokalizira primarno protiteleso. Pred interpretacijo bolnikovih rezultatov mora obarvanje kontrol oceniti usposobljen patolog. Negativne kontrole se ovrednotijo in primerjajo z obarvanimi preparati, da se zagotovi, da morebitno opaženo obarvanje ni posledica nespecifičnih interakcij.

Pozitivna kontrola tkiva:

Najprej je treba pregledati pozitivno kontrolo tkiva, obarvano z navedenim protitelesom, da se prepričamo, ali vsi reagenti delujejo pravilno. Ustrezno obarvanje ciljnih celic (kot je navedeno zgoraj) kaže na pozitivno reaktivnost. Če pozitivne kontrole tkiva ne pokažejo pozitivnega obarvanja, je treba vse rezultate s preskusnimi vzorci obravnavati kot neveljavne.

Barva reakcijskega produkta se lahko razlikuje glede na uporabljeni substratne kromogene. Za pričakovane barvne reakcije glejte navodila za embalažo substrata. Poleg tega lahko opazimo metakromazijo pri različnih metodah obarvanja.¹²

Ko se uporabi nasprotno barvanje, bo odvisno od dolžine inkubacije in moči uporabljenega nasprotnega barvanja povzročilo obarvanje celičnih jeder. Prekomerno ali nepopolno kontrastno barvanje lahko ogrozi pravilno interpretacijo rezultatov. Glejte protokol(e) za priporočeno kontrastno barvanje.

Negativna kontrola tkiva:

Negativno tkivno kontrolo je treba pregledati po pozitivni tkivni kontroli, da se preveri specifičnost označevanja tarčnega antigena s primarnim protitelesom. Odsotnost specifičnega barvanja v negativni tkivni kontroli potrjuje pomanjkanje navzkrižne reaktivnosti protiteles na celice/celične komponente. Če pride do specifičnega obarvanja (lažno pozitivno obarvanje)

pri negativni zunanji kontroli tkiva, je treba rezultate bolnikovega vzorca štetni za neveljavne.

Nespecifično obarvanje, če je prisotno, ima običajno razpršen videz. Občasno obarvanje vezivnega tkiva je mogoče opaziti tudi v odsekih tkiv, ki so preveč fiksirana s formalinom. Za razlago rezultatov obarvanja uporabite nedotaknjene celice. Nekrotične ali degenerirane celice se pogosto obarvajo nespecifično.

Bolnikovo tkivo:

Preglejte bolnikove vzorce, obarvane z navedenim protitelesom zadnja. Intenzivnost pozitivnega obarvanja je treba oceniti v kontekstu morebitnega nespecifičnega obarvanja ozadja negativne reagentne kontrole. Kot pri vsakem imunohistokemičnem testu negativen rezultat pomeni, da antigen ni bil odkrit, ne pa, da antigena ni bilo v testiranih celicah/tkvih. Po potrebi uporabite ploščo protiteles za identifikacijo lažno negativnih reakcij.

Glejte povzetek in razlago, omejitve in značilnosti delovanja za posebne informacije glede indicirane imunoreaktivnosti protiteles.

Omejitve:

Splošne omejitve:

1. *Zain vitro diagnostična (IVD) uporaba*
2. Ta izdelek je samo za profesionalno uporabo: Imunohistokemija je večstopenjski diagnostični proces, ki je sestavljen iz specializiranega usposabljanja za izbiro ustreznih reagentov; izbiro, fiksacija in obdelava tkiv; priprava preparata IHC; in interpretacijo rezultatov barvanja.
3. Samo za uporabo po zdravniškem receptu. (Samo Rx)
4. Obarvanje tkiva je odvisno od ravnanja in obdelave tkiva pred barvanjem. Nepravilna fiksacija, zamrzovanje, odmrzovanje, pranje, sušenje, segrevanje, rezanje ali kontaminacija z drugimi tkivi ali tekočinami lahko povzroči artefakte, ujetost protiteles ali lažno negativne rezultate. Neskladni rezultati so lahko posledica razlik v metodah fiksacije in vdelave ali inherentnih nepravilnosti v tkivu.¹³
5. Prekomerno ali nepopolno kontrastno barvanje lahko ogrozi pravilno interpretacijo rezultatov.
6. Klinično interpretacijo kakršnega koli pozitivnega ali negativnega obarvanja je treba ovrednotiti v okviru klinične slike, morfologije in drugih histopatoloških meril. Klinično interpretacijo kakršnega koli pozitivnega ali negativnega obarvanja je treba dopolniti z morfološkimi študijami z uporabo ustreznih pozitivnih in negativnih notranjih in zunanjih kontrol ter drugih diagnostičnih testov. Odgovornost kvalificiranega patologa, ki je seznanjen s pravilno uporabo protiteles, reagentov in metod IHC, je za razlago vseh korakov, uporabljenih za pripravo in razlagu končnega pripravka IHC.
7. Optimalni protokoli za določeno aplikacijo se lahko razlikujejo. Ti vključujejo, vendar niso omejeni na fiksacijo, metodo odvzema toploste, čas inkubacije, razredčitev protiteles, debelino odseka tkiva in uporabljen komplet za odkrivanje. Za priporočene protokole in pogoje uporabe glejte navodila za uporabo primarnega protitelesa in drugega pomožnega reagenta. Priporočila in protokoli podatkovnega lista temeljijo na izključni uporabi izdelkov Biocare. Navsezadnje je odgovornost raziskovalca, da določi optimalne pogoje.
8. Ta izdelek ni namenjen uporabi v pretočni citometriji. Značilnosti delovanja za pretočno citometrijo niso bile določene.
9. Tkiva oseb, okuženih z virusom hepatitisa B in vsebujejo površinski antigen hepatitisa B (HBsAg), so lahko nespecifično obarvana s hrenovo peroksidazo.¹⁴
10. Reagenti lahko pokažejo nepričakovane reakcije v predhodno netestiranih tkivih. Možnosti nepričakovanih reakcij tudi v testiranih skupinah tkiv ni mogoče popolnoma odpraviti zaradi biološke variabilnosti izražanja antigenov v novotvorbah ali drugih patoloških tkivih.¹⁵ Obrnite se na tehnično podporo podjetja Biocare na 1-800-542-

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

102/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Slovenian

BIOCARE
MEDICAL

- 2002 ali prek informacij o tehnični podpori na biocare.net z dokumentiranimi nepričakovanimi reakcijami.
11. Normalni/neimunski serumi iz istega živalskega izvora kot sekundarni antiserumi, uporabljeni v korakih blokiranja, lahko povzročijo lažno negativne ali lažno pozitivne rezultate zaradi avtoproteites ali naravnih protiteles.
 12. Lažno pozitivne rezultate lahko opazimo zaradi neimunološke vezave beljakovin ali reakcijskih produktov substrata. Lahko jih povzroči tudi aktivnost psevdo peroksidaze (eritrociti), aktivnost endogene peroksidaze (citokrom C) ali endogeni biotin (npr. jetra, dojke, možgani, ledvice), odvisno od vrste uporabljenega imunskega barvanja.¹³
 13. Negativen rezultat pomeni, da antigen ni bil odkrit, ne pa, da antiga na ni bilo v pregledanih celicah ali tkivu.

Posebne omejitve izdelka:

Ni dodatnih posebnih omejitev za izdelek.

Značilnosti delovanja:

Barvanje je bilo izvedeno z uporabo protokolov, navedenih v navodilih za uporabo za protitelesa ali kot je določeno. Občutljivost in specifičnost obarvanja sta bili ovrednoteni za vrsto normalnih in neoplastičnih vrst tkiv, ocenjenih med razvojem primarnih protiteles.

Ponovljivost:

Ponovljivost sistemov za odkrivanje in sistemskih reagentov Biocare je preverjena z meritvijo vmesne natančnosti, pri kateri so bile različne serije reagentov testirane v daljšem časovnem obdobju z uporabo različnih operaterjev, analitikov, serij reagentov, vzorcev tkiv in opreme. Dobljeno barvanje za vsak ovrednoten detekcijski reagent je bilo dosledno in izvedeno po pričakovanjih.

5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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 Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

Odpravljanje težav:

1. Nobeno stekelci ni obaran – preverite, da ugotovite, ali so bila uporabljena ustrezna pozitivna kontrola, tkivo, protitelesa in izdelki za odkrivanje. Preverite nepopolno ali nepravilno odstranjevanje ali predobdelavo voska.
2. Sibko obaranje vseh stekelcev – Preverite, da ugotovite, ali so bila uporabljena ustrezna pozitivna kontrola, tkivo, protitelesa in izdelki za odkrivanje.
3. Prekomerno ozadje vseh stekelcev – morda so visoke ravni endogenega biotina (če uporabljate izdelke za odkrivanje na osnovi biotina), endogena aktivnost HRP, ki pretvarja kromogen v obarvani končni produkt (uporabite blok peroksidaze) ali presežek nespecifične interakcije z beljakovinami (uporabite beljakovino blok, kot je raztopina za blokiranje na osnovi serumu ali kazeina).
4. Odrezki tkiv se med inkubacijo sprejo s stekelcem – Preverite stekelca, da zagotovite, da so pozitivno nanelektrena.
5. Specifično barvanje je pretemno – Preverite protokol, da ugotovite, ali je bil na objektнем stekelcu uporabljen ustrezen titer protiteles, kot tudi ustrezone inkubacijske čase za vse reagente. Poleg tega zagotovite, da ima protokol dovolj korakov pranja, da odstranite odvečne reagente po zaključku korakov inkubacije.

Reference:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Spanish

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Uso previsto:

Para *in vitro* Uso diagnóstico

La IgG anti-ratón de cabra biotinilada 4plus está diseñada para usarse en protocolos de tinción de inmunohistoquímica (IHC) manuales o automatizados utilizando un método de aplicación de dos pasos conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP) o fosfatasa alcalina (AP). Esta detección de conjugado de estreptavidina está diseñada para la detección de anticuerpos primarios IgG de ratón unidos a antígenos diana en tejidos fijados con formalina e incluidos en parafina (FFPE) durante el proceso de tinción IHC. La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos y controles adecuados y debe ser evaluada dentro del contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas por un patólogo calificado.

Resumen y explicación:

EIIgG anti-ratón de cabra biotinilada 4plus está diseñado utilizando un método de dos pasos para detectar anticuerpos primarios de ratón para formar un complejo anticuerpo-enzima. Este complejo luego se visualiza utilizando un sustrato/cromógeno apropiado. En el método de dos pasos, el anticuerpo secundario se biotinila y se aplica secuencialmente una estreptavidina marcada con enzima adicional. El método de dos pasos está diseñado para amplificar la detección en casos de antígenos de baja expresión. Este anticuerpo biotinilado reacciona con las cadenas pesadas y ligeras de la IgG de ratón. Se adsorbe contra caballos, bovinos y humanos. Reacciona con todas las subclases de IgG de ratón y con IgM de ratón. Se ha purificado por afinidad con una reacción cruzada mínima con las proteínas del suero humano, bovino y equino. Se ha colocado un brazo espaciador largo entre la biotina y el anticuerpo secundario para aumentar la sensibilidad cuando se combina con conjugados de estreptavidina. 4plus IgG anti-ratón de cabra biotinilada se puede utilizar con sistemas de detección de estreptavidina peroxidasa de rábano picante o de estreptavidina fosfatasa alcalina.

Principio de Procedimiento:

Este kit de detección de micropolímeros se puede utilizar en pruebas inmunohistoquímicas de secciones de tejido fijadas con formalina e incluidas en parafina. En general, inmunohistoquímica (IHC) Las técnicas de tinción permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario contra el anticuerpo primario (enlace opcional anticuerpo/sonda), un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con pasos de lavado interpuestos. La activación enzimática del cromógeno da como resultado un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjetos. Los resultados se interpretan utilizando una luz, microscopio y ayuda en el diagnóstico diferencial de procesos fisiopatológicos, que pueden o Puede no estar asociado con un antígeno en particular.

Materiales y métodos:

Reactivos proporcionados:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Reconstitución, mezcla, dilución, valoración:

Los reactivos del kit de detección a base de estreptavidina están optimizados y listos para usar con anticuerpos y reactivos auxiliares de Biocare. No se requiere reconstitución, mezcla, dilución o titulación.

Aplicaciones conocidas:

Inmunohistoquímica (tejidos incluidos en parafina y fijados con formalina)

Reactividad de las especies:

Cadenas pesadas y ligeras de IgG de ratón

Se suministra como:

Solución salina tamponada, pH 7,2-7,4, que contiene un portador de proteína y menos del 0,01 % de ProClin 300 y/o menos del 0,5 % de ProClin 950 como conservante. Consulte la Hoja de datos de seguridad para obtener detalles adicionales.

Materiales y reactivos necesarios pero no suministrados:

Portaobjetos de microscopio, cargados positivamente.
Controles de tejido positivos y negativos.
Cámara del Desierto* o similar Estufa de secado (opcional)
Xileno o sustituto del xileno
Etanol o alcohol reactivo
Cámara de ocultación* o olla a presión similar (opcional)
Agua desionizada o destilada
Tampón de lavado*
Reactivos de pretratamiento* (opcional)
Digestión enzimática* (opcional)
Bloqueo de peroxidasa*
Bloqueo de proteínas* (opcional)
Kit de bloqueo de avidina y biotina
Anticuerpo primario*
Etiqueta de estreptavidina*
Reactivos de control negativo*
Cromógenos*
Hematoxilina* (contratinción)
Reactivivo azulante*
Medio de montaje*
Vidrio de protección
Microscopio óptico (aumento 40-400X)

* Productos médicos de Biocare: consulte el sitio web de Biocare Medical ubicado en <http://biocare.net> para obtener información sobre los números de catálogo y los pedidos. Ciertos reactivos enumerados anteriormente se basan en la aplicación específica y el sistema de detección utilizado.

Almacenamiento y estabilidad:

Conservar entre 2°C y 8°C. El producto es estable hasta la fecha de vencimiento impresa en la etiqueta del vial cuando se almacena en estas condiciones. No utilizar después de la fecha de caducidad. Se debe verificar el almacenamiento en cualquier condición distinta a las especificadas. Los reactivos del kit están listos para usar y no deben diluirse. Biocare no ha establecido la estabilidad del reactivo diluido por el usuario.

Se deben realizar controles positivos y negativos simultáneamente con todas las muestras de pacientes. Si se observa una tinción inesperada que no puede explicarse por variaciones en los procedimientos de laboratorio y se sospecha un problema con el anticuerpo, comuníquese con el soporte técnico de Biocare al 1-800-542-2002 o mediante la información de soporte técnico proporcionada en biocare.net.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Spanish

BIOCARE
MEDICAL

Preparación de espécimen:

Los tejidos fijados en formalina son adecuados para su uso antes de la inclusión en parafina. Los tejidos óseos deben descalcificarse antes del procesamiento del tejido para facilitar el corte del tejido y evitar daños a las hojas del micrótomo.^{1,2}

Los tejidos correctamente fijados e incluidos que expresen el antígeno objetivo especificado deben almacenarse en un lugar fresco. La Ley de Mejora de Laboratorios Clínicos (CLIA) de 1988 exige en 42 CFR§493.1259(b) que "El laboratorio debe conservar los portaobjetos teñidos al menos diez años a partir de la fecha de examen y conservar los bloques de muestras al menos dos años después de la fecha del examen".³

Tratamiento de tejidos antes de la tinción:

Realice la recuperación de epítotos inducida por calor (HIER) según el protocolo recomendado a continuación. Se ha demostrado que el uso rutinario de HIER antes de la IHC minimiza la inconsistencia y estandariza la tinción.^{4,5}

Advertencias y precauciones:

1. Los reactivos del kit contienen menos de <0,05 % de ProClin 300 y/o menos de 1 % de 950> Use guantes y ropa protectora y tome precauciones razonables al manipularlo, ya que ProClin está clasificado como irritante y puede causar sensibilización por contacto con la piel. Evite el contacto con ojos, piel y mucosas.
2. Manipule materiales de origen humano o animal como potencialmente biopeligrosos y deséchelos con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, siga las directivas sanitarias de las autoridades responsables donde se utilice.^{6,7}
3. Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a ellas deben manipularse como si pudieran transmitir infecciones y eliminarse con las precauciones adecuadas. Nunca pipetee reactivos con la boca y evite el contacto de la piel y las membranas mucosas con reactivos y muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lave con abundante agua.⁸
4. La contaminación microbiana de los reactivos puede provocar un aumento de la tinción inespecífica.
5. Tiempos de incubación o temperaturas distintas a las especificadas pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.
6. No utilice el reactivo después de la fecha de vencimiento impresa en el vial.
7. Los reactivos del kit de detección de micropolímeros están optimizados y listos para usar con anticuerpos y reactivos auxiliares de Biocare. Consulte las instrucciones de uso del anticuerpo primario y otros reactivos auxiliares para conocer los protocolos y condiciones de uso recomendados.
8. Siga los requisitos de las autoridades locales y/o estatales sobre el método de eliminación.
9. La SDS está disponible previa solicitud y se encuentra en <http://biocare.net>.
10. Informe cualquier incidente grave relacionado con este dispositivo comunicándose con el representante local de Biocare y la autoridad competente correspondiente del Estado miembro o país donde se encuentra el usuario.

Instrucciones de uso:

Los reactivos del kit de detección de micropolímeros están optimizados y listos para usar con anticuerpos y reactivos auxiliares de Biocare. Consulte las instrucciones de uso del anticuerpo primario y otros reactivos auxiliares para conocer los protocolos y condiciones de uso recomendados. Los tiempos y temperaturas de incubación variarán según el protocolo de anticuerpos específico seguido.

Cuando utilice un instrumento de tinción automatizado, consulte el manual del operador del instrumento específico y las instrucciones de uso para conocer los parámetros operativos.

Pasos generales del procedimiento para realizar IHC:

1. Desparafinización: Desparafinar los portaobjetos en Slide Brite o xileno. Hidratar los portaobjetos en una serie de alcoholos graduados hasta el agua.
2. Bloqueo de Peróxido: Bloquear durante 5 minutos con Peroxidized 1.
3. Solución/Protocolo de pretratamiento: consulte la hoja de datos del anticuerpo primario respectivo para conocer la solución y el protocolo de pretratamiento recomendados.
4. Bloque Avidin: Incubar durante 10 a 20 minutos a temperatura ambiente con Avidin de Biocare.
5. Bloque de biotina: Incubar durante 10 a 20 minutos a temperatura ambiente con biotina de Biocare.
6. Bloque de proteínas (opcional): Incubar durante 10 a 15 minutos a temperatura ambiente (RT) con Background Sniper.
7. Anticuerpo primario: consulte la hoja de datos del anticuerpo primario respectivo para conocer el tiempo de incubación.
8. Link: Incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente con 4plus Biotinylated Link.
9. Etiqueta: Incubar durante 10 a 20 minutos a temperatura ambiente con 4plus Streptavidin HRP o Streptavidin AP Label.
10. Cromógeno: Incubar durante 10 a 20 minutos a temperatura ambiente con DAB de Biocare o incubar durante 5 a 7 minutos a temperatura ambiente con Warp Red.
11. Contratinación: Contratinación con hematoxilina. Enjuague con agua desionizada. Aplicar la Solución Azulante de Tacha durante 1 minuto. Enjuague con agua desionizada.

Notas técnicas:

1. Utilice TBS para los pasos de lavado.

Control de calidad:

Consulte los Estándares de calidad del CLSI para el diseño e implementación de ensayos de inmunohistoquímica; Guía aprobada-Segunda edición (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁹

Control Positivo de Tejidos:

Los materiales de control positivo externo deben ser muestras frescas fijadas, procesadas e incluidas lo antes posible de la misma manera que las muestras del paciente. Los controles de tejido positivos son indicativos de tejidos correctamente preparados y técnicas de tinción adecuadas. En cada proceso de tinción se debe incluir un control de tejido externo positivo para cada conjunto de condiciones de prueba.

Los tejidos utilizados para los materiales de control positivo externo deben seleccionarse de muestras de pacientes con niveles bajos bien caracterizados de actividad diana positiva que proporcione una tinción positiva débil. El bajo nivel de positividad para los controles positivos externos está diseñado para garantizar la detección de cambios sutiles en la sensibilidad del anticuerpo primario debido a inestabilidad o problemas con la metodología IHC. Los portaobjetos de control de tejido disponibles comercialmente o las muestras procesadas de manera diferente a las muestras del paciente validan únicamente el rendimiento del reactivo y no verifican la preparación del tejido.

Los controles de tejido positivos conocidos solo deben utilizarse para monitorear el desempeño correcto de los tejidos procesados y los reactivos de prueba, en lugar de como ayuda para formular un diagnóstico específico de muestras de pacientes. Si los controles de tejido positivos no logran demostrar una tinción positiva, los resultados de las muestras de prueba deben considerarse inválidos.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

105/116



TP v3 (12/15/2021)

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Spanish

BIOCARE
MEDICAL

Control de tejido negativo:

Utilice un control de tejido negativo fijado, procesado e incluido de manera idéntica a las muestras del paciente en cada proceso de tinción para verificar la especificidad del anticuerpo primario IHC para demostración del antígeno diana y para proporcionar una indicación de tinción de fondo específica (tinción falsa positiva). Además, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de las secciones de tejido puede ser utilizada por el laboratorio como sitios de control negativo interno para verificar el desempeño de la IHC. especificaciones. Los tipos y fuentes de muestras que pueden usarse para tejido negativo. Los controles se enumeran en la sección Características de rendimiento.

Si se produce una tinción específica (tinción falsa positiva) en el control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

Control de reactivos negativos no específicos:

Utilice un control reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con una sección de cada muestra de paciente para evaluar la tinción no específica y permitir una mejor interpretación de la tinción específica en el sitio del antígeno. Idealmente, un control reactivo negativo contiene un anticuerpo producido y preparado (es decir, diluido a la misma concentración usando el mismo diluyente) para usar de la misma manera que el anticuerpo primario, pero no muestra reactividad específica con tejidos humanos en la misma matriz/solución que el anticuerpo Biocare. . Se puede utilizar diluyente solo como una alternativa menos deseable a los controles reactivos negativos descritos anteriormente. El período de incubación del control reactivo negativo debe corresponder al del anticuerpo primario.

Cuando se utilizan paneles de varios anticuerpos en secciones en serie, las áreas teñidas negativamente de un portaobjetos pueden servir como control de fondo de unión negativa/no específica para otros anticuerpos. Para diferenciar la actividad enzimática endógena o la unión no específica de enzimas de la inmunorreactividad específica, se pueden teñir tejidos adicionales del paciente exclusivamente con sustrato-cromógeno o complejos enzimáticos (PAP, avidina-biotina, estreptavidina) y sustrato-cromógeno, respectivamente.

Verificación del ensayo:

Antes del uso inicial de un anticuerpo o sistema de tinción en un procedimiento de diagnóstico, el usuario debe verificar la especificidad del anticuerpo probándolo en una serie de tejidos internos con características de rendimiento inmunohistoquímico conocidas que representen tejidos positivos y negativos conocidos. Consulte los procedimientos de control de calidad descritos anteriormente en esta sección del prospecto del producto y las recomendaciones de control de calidad del Programa de Certificación CAP.¹⁰ para inmunohistoquímica y/o la guía NCCLS IHC¹¹. Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse para cada nuevo lote de anticuerpos o siempre que haya un cambio en los parámetros del ensayo. Los tejidos enumerados en la sección Características de rendimiento son adecuados para la verificación del ensayo.

Solución de problemas:

Siga las recomendaciones del protocolo específico de anticuerpos según la hoja de datos proporcionada. Si se producen resultados atípicos, comuníquese con el soporte técnico de Biocare al 1-800-542-2002.

Interpretación de la tinción:

La IgG anti-ratón de cabra biotinilada 4plus produce una reacción de color marrón (HRP) o rojo (AP) en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Antes de interpretar los resultados del paciente, un patólogo calificado debe evaluar la tinción de los controles. Los controles negativos se evalúan y comparan con portaobjetos teñidos para garantizar

que cualquier tinción observada no sea el resultado de interacciones no específicas.

Control Positivo de Tejidos:

Primero se debe examinar el control de tejido positivo teñido con el anticuerpo indicado para comprobar que todos los reactivos funcionan correctamente. La tinción apropiada de las células diana (como se indicó anteriormente) es indicativa de reactividad positiva. Si los controles de tejido positivos no logran demostrar una tinción positiva, cualquier resultado con las muestras de prueba debe considerarse inválido.

El color del producto de reacción puede variar dependiendo de los cromógenos del sustrato utilizados. Consulte los prospectos del paquete del sustrato para conocer las reacciones de color esperadas. Además, se puede observar metacromasia en variaciones del método de tinción.¹²

Cuando se utiliza una contratinación, dependiendo de la duración de la incubación y la potencia de la contratinación utilizada, la contratinación dará como resultado una coloración de los núcleos celulares. Una contratinación excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Consulte los protocolos para conocer la contratinación recomendada.

Control de tejido negativo:

El control de tejido negativo debe examinarse después del control de tejido positivo para verificar la especificidad del marcaje del antígeno diana por parte del anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la falta de reactividad cruzada de anticuerpos con células/componentes celulares. Si se produce una tinción específica (tinción falsa positiva) en el control de tejido externo negativo, los resultados con la muestra del paciente se deben considerar no válidos.

La tinción inespecífica, si está presente, suele tener una apariencia difusa. También se puede observar tinción esporádica del tejido conectivo en secciones de tejidos excesivamente fijados con formalina. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. Las células necróticas o degeneradas a menudo se tiñen de forma inespecífica.

Tejido del paciente:

Examinar muestras de pacientes teñidas con el anticuerpo indicado. Último. La intensidad de la tinción positiva debe evaluarse en el contexto de cualquier tinción de fondo inespecífica del control de reactivo negativo. Como ocurre con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se detectó el antígeno, no que el antígeno estuviera ausente en las células/tejido analizado. Si es necesario, utilice un panel de anticuerpos para identificar reacciones falsas negativas.

Consulte Resumen y explicación, limitaciones y características de rendimiento para obtener información específica sobre la inmunorreactividad de los anticuerpos indicada.

Limitaciones:

Limitaciones generales:

1. Para *in vitro* Uso de diagnóstico (IVD)
2. Este producto es sólo para uso profesional: La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico de varios pasos que consiste en una capacitación especializada en la selección de los reactivos adecuados; selección, fijación y procesamiento de tejidos; preparación del portaobjetos IHC; e interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo con receta médica. (Solo receta)
4. La tinción de tejidos depende de la manipulación y procesamiento del tejido antes de la tinción. La fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento, corte o contaminación inadecuados con

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

106/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Spanish

BIOCARE
MEDICAL

otros tejidos o fluidos pueden producir artefactos, atrapamiento de anticuerpos o resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden deberse a variaciones en los métodos de fijación e inclusión, o a irregularidades inherentes dentro del tejido.¹³

5. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
6. La interpretación clínica de cualquier tinción positiva o negativa debe evaluarse dentro del contexto de la presentación clínica, la morfología y otros criterios histopatológicos. La interpretación clínica de cualquier tinción positiva o negativa debe complementarse con estudios morfológicos utilizando controles internos y externos positivos y negativos adecuados, así como otras pruebas de diagnóstico. Es responsabilidad de un patólogo calificado que esté familiarizado con el uso adecuado de los anticuerpos, reactivos y métodos de IHC interpretar todos los pasos utilizados para preparar e interpretar la preparación IHC final.
7. Los protocolos óptimos para una aplicación específica pueden variar. Estos incluyen, entre otros, fijación, método de recuperación de calor, tiempos de incubación, dilución de anticuerpos, espesor de la sección de tejido y kit de detección utilizado. Consulte las instrucciones de uso del anticuerpo primario y otros reactivos auxiliares para conocer los protocolos y condiciones de uso recomendados. Las recomendaciones y protocolos de la ficha técnica se basan en el uso exclusivo de productos Biocare. En última instancia, es responsabilidad del investigador determinar las condiciones óptimas.
8. Este producto no está diseñado para usarse en citometría de flujo. No se han determinado las características de rendimiento para la citometría de flujo.
9. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contienen el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) pueden presentar tinciones inespecíficas con peroxidasa de rábano picante.¹⁴
10. Los reactivos pueden demostrar reacciones inesperadas en tejidos no probados previamente. La posibilidad de reacciones inesperadas incluso en grupos de tejidos probados no se puede eliminar por completo debido a la variabilidad biológica de la expresión de antígenos en neoplasias u otros tejidos patológicos.¹⁵ Comuníquese con el soporte técnico de Biocare al 1-800-542-2002, o a través de la información de soporte técnico proporcionada en biocare.net, con reacciones inesperadas documentadas.
11. Los sueros normales/no inmunes de la misma fuente animal que los antisueros secundarios utilizados en los pasos de bloqueo pueden causar resultados falsos negativos o falsos positivos debido a autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
12. Se pueden observar resultados falsos positivos debido a la unión no inmunológica de proteínas o productos de reacción del sustrato. También pueden ser causados por actividad pseudo peroxidasa (eritrocitos), actividad peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (p. ej., hígado, mama, cerebro, riñón), según el tipo de inmunotinción utilizada.¹³
13. Un resultado negativo significa que no se detectó el antígeno, no que el antígeno estuviera ausente en las células o el tejido examinados.

Limitaciones específicas del producto:

No hay limitaciones adicionales específicas del producto.

Características de presentación:

La tinción se realizó utilizando los protocolos proporcionados en las instrucciones de uso específicas del anticuerpo o según se especifica. La sensibilidad y especificidad de la tinción se evaluaron en una variedad de tipos de tejido normales y neoplásicos evaluados durante el desarrollo de anticuerpos primarios.

Reproducibilidad:

La reproducibilidad de los sistemas de detección y los reactivos del sistema de Biocare se verifica mediante una medición de precisión intermedia en la

que se probaron varios lotes de reactivos durante un período prolongado utilizando varios operadores, analistas, lotes de reactivos, muestras de tejido y equipos. La tinción obtenida para cada reactivo de detección evaluado fue consistente y se realizó como se esperaba.

Solución de problemas:

1. Sin tinción de ningún portaobjetos: verifique que se hayan utilizado tejido de control positivo, anticuerpos y productos de detección adecuados. Compruebe si hay eliminación de cera o tratamiento previo incompletos o inadecuados.
2. Tinción débil de todos los portaobjetos: verifique que se hayan utilizado tejido de control positivo, anticuerpos y productos de detección adecuados.
3. Fondo excesivo en todos los portaobjetos: puede haber niveles altos de biotina endógena (si se utilizan productos de detección a base de biotina), actividad HRP endógena que convierte el cromógeno en un producto final coloreado (use un bloqueo de peroxidasa) o un exceso de interacción proteica no específica (use una proteína), bloqueante, como una solución bloqueadora a base de suero o caseína).
4. Las secciones de tejido se lavan de los portaobjetos durante la incubación. Revise los portaobjetos para asegurarse de que estén cargados positivamente.
5. Tinción específica demasiado oscura: consulte el protocolo para determinar si se aplicó el título de anticuerpos adecuado al portaobjetos, así como los tiempos de incubación adecuados para todos los reactivos. Además, asegúrese de que el protocolo tenga suficientes pasos de lavado para eliminar el exceso de reactivos una vez completados los pasos de incubación.

Referencias:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Spanish

BIOCARE
M E D I C A L

14. 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. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfent EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection
901-GM601-122023

Swedish

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Avsedd användning:

För *in vitro* Diagnostisk användning

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG är avsedd för användning i antingen manuella eller automatiserade immunhistokemi (IHC) färgningsprotokoll med användning av en pepparrotsperoxidas (HRP) eller alkaliskt fosfatas (AP) streptavidinkonjugat tvåstegsappliceringsmetod. Denna streptavidinkonjugatdetektering är designad för detektion av primära mus-IgG-antikroppar bundna till målantigen i de formalinfixerade, paraffininbäddade (FFPE) vävnaderna under IHC-färgningsprocessen. Den kliniska tolkningen av eventuell färgning eller frånvaro av denna bör kompletteras med morfologiska studier och lämpliga kontroller och bör utvärderas inom ramen för patientens kliniska historia och andra diagnostiska tester av en kvalificerad patolog.

Sammanfattning och förklaring:

De 4plus biotinyerade get Anti-mus IgG är utformad med en tvåstegsmetod för att detektera primära musantikroppar för att bilda ett antikropp-enzymkomplex. Detta komplex visualiseras sedan med användning av ett lämpligt substrat/kromogen. I tvåstegsmetoden biotinyleras den sekundära antikroppen och ytterligare ett enzymmärkt streptavidin appliceras sekventiellt. Tvåstegsmetoden är utformad för att förstärka detektionen i fall av låguttryckande抗原er.

Denna biotinyerade antikropp reagerar med tunga och lätt kedjor på mus-IgG. Den adsorberas mot hästar, nötkreatur och människor. Den reagerar med alla mus-IgG-underklasser och mus-IgM. Det har affinitetsrenats med minimal korsreaktion mot humana, bovina och hästserumproteiner. En lång distansarm har placerats mellan biotinet och den sekundära antikroppen för att öka känsligheten när den kopplas till streptavidinkonjugat. 4plus Biotinylated get Anti-Mouse IgG kan användas med antingen streptavidin pepparrotsperoxidas eller streptavidin alkaliskt fosfatasdetektionssystem.

Procedurprincip:

Detta mikropolymerdetektionskit kan användas vid immunhistokemitestning av formalinfixerade, paraffininbäddade vävnadssnitt. I allmänhet immunhistokemiska (IHC) färgningstekniker möjliggör visualisering av抗原er via sekventiell applering av en specifik antikropp mot antigenet (primär antikropp), en sekundär antikropp mot den primära antikroppen (valfri länkantikropp/sond), ett enzymkomplex och ett kromogent substrat med mellanliggande tvättsteg. Den enzymatiska aktiveringens kromogen resulterar i en synlig reaktionsprodukt vid antigenstället. Provet kan sedan motfärgas och täckglas. Resultaten tolkas med hjälp av ett ljus mikroskop och hjälp vid differentialdiagnos av patofisiologiska processer, som kan eller kanske inte vara associerad med ett visst antigen.

Material och metoder:

Reagens som tillhandahålls:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Rekonstitution, blandning, spädning, titrering:

De streptavidinbaserade detektionskit-reagensen är optimerade och redo att användas med Biocare-antikroppar och hjälpreagenser. Ingen beredning, blandning, spädning eller titrering krävs.

Kända applikationer:

Immunhistokemi (formalinfixerade paraffininbäddade vävnader)

Arters reaktivitet:

Mus IgG tunga och lätt kedjor

Levereras som:

Bufferad saltlösning, pH 7,2-7,4, innehållande en proteinbärare och mindre än 0,01 % ProClin 300 och/eller mindre än 0,5 % ProClin 950 som konserveringsmedel. Se säkerhetsdatabladet för ytterligare information.

Material och reagens som behövs men inte tillhandahålls:

Objektglas, positivt laddade
Positiva och negativa vävnadskontroller
Desert Chamber* eller liknande torkugn (valfritt)
Xylen eller xylensubstitut
Etanol eller reagens alkohol
Decloaking Chamber* eller liknande tryckkokare (valfritt)
Avjoniserat eller destillerat vatten
Tvättbuffert*
Förbehandlingsreagens* (valfritt)
Enzymnedbrytning* (valfritt)
Peroxidasblock*
Proteinblock* (valfritt)
Avidin-Biotin Blocking Kit
Primär antikropp*
Streptavidinetikett*
Negativa kontrollreagens*
kromogener*
Hematoxylin* (motfärgning)
Blåande reagens*
Monteringsmedium*
Täckglas
Ljusmikroskop (40-400X förstoring)

* Biocare Medical Products: Se Biocare Medicals webbplats på <http://biocare.net> för information om katalognummer och beställning. Vissa reagenser listade ovan är baserade på specifik tillämpning och detektionssystem som används.

Lagring och stabilitet:

Förvara vid 2°C till 8°C. Produkten är stabil till det utgångsdatum som är tryckt på injektionsflaskans etikett när den förvaras under dessa förhållanden. Använd inte efter utgångsdatum. Förvaring under alla andra förhållanden än de angivna måste verifieras. Kit-reagenserna är färdiga att använda och bör inte spädas ut. Stabiliteten för användarens utspädda reagens har inte fastställts av Biocare.

Positiva och negativa kontroller bör köras samtidigt med alla patientprover. Om oväntad färgning observeras som inte kan förklaras av variationer i laboratorieprocedurer och ett problem med antikroppen misstänks, kontakta Biocares tekniska support på 1-800-542-2002 eller via den tekniska supportinformationen på biocare.net.

Provförberedelse:

Vävnader fixerade i formalin är lämpliga för användning före paraffininbäddning. Ossös vävnad bör avkalkas före vävnadsbearbetning för att underlätta vävnadsskärning och förhindra skador på mikrotombladen.^{1,2}

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Swedish

BIOCARE
MEDICAL

Korrekt fixerade och inbäddade vävnader som uttrycker det specificerade antigenmålet bör förvaras på en sval plats. Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) från 1988 kräver i 42 CFR§493.1259(b) att "Laboratoriet måste behålla färgade objektkläder minst tio år från datumet för undersöka och behålla provblocken minst två år från datumet för undersökningen."³

Behandling av vävnader före färgning:

Utför Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) enligt rekommenderat protokoll nedan. Rutinmässig användning av HIER före IHC har visat sig minimera inkonsekvens och standardisera färgning.^{4,5}

Varning och försiktigheftsåtgärder:

- Kitreagenser innehåller mindre än <0,05 % ProClin 300 och/eller mindre än 1 % 950>. Bär handskar och skyddskläder och vidta rimliga försiktigheftsåtgärder vid hantering eftersom ProClin är klassificerat som irriterande och kan orsaka hudkontaktsensibilisering. Undvik kontakt med ögon, hud och slemhinnor.
- Hantera material av mänskligt eller animaliskt ursprung som potentiellt biologiskt farligt och kassera sådant material med lämpliga försiktigheftsåtgärder. I händelse av exponering, följ hälsodirektiven från de ansvariga myndigheterna där det används.^{6,7}
- Prover, före och efter fixering, och allt material som exponeras för dem ska hanteras som om de skulle kunna överföra infektion och kasseras med lämpliga försiktigheftsåtgärder. Pipettera aldrig reagens genom munnen och undvik att komma i kontakt med huden och slemhinnorna med reagenser och prover. Om reagenser eller prover kommer i kontakt med känsliga områden, tvätta med rikliga mängder vatten.⁸
- Mikrobiell kontaminering av reagenser kan resultera i en ökning av ospecifik färgning.
- Andra inkubationstider eller temperaturer än de angivna kan ge felaktiga resultat. Användaren måste validera alla sådana ändringar.
- Använd inte reagens efter det utgångsdatum som är tryckt på flaskan.
- Mikropolymerdetektionsreagenserna är optimerade och redo att användas med Biocare-antikroppar och hjälpreagenser. Se den primära antikroppen och andra hjälpreagensanvisningar för användning för rekommenderade protokoll och villkor för användning.
- Följ lokala och/eller statliga myndigheters krav för avfallshantering.
- Säkerhetsdatabladet är tillgängligt på begäran och finns på <http://biocare.net>.
- Rapportera alla allvarliga incidenter relaterade till denna enhet genom att kontakta den lokala Biocare-representanten och tillämplig behörig myndighet i den medlemsstat eller det land där användaren befinner sig.

Användningsinstruktioner:

Mikropolymerdetektionsreagenserna är optimerade och redo att användas med Biocare-antikroppar och hjälpreagenser. Se den primära antikroppen och andra hjälpreagensanvisningar för användning för rekommenderade protokoll och villkor för användning. Inkubationstider och temperaturer kommer att variera beroende på det specifika antikroppsprotokoll som följs.

När du använder ett automatiserat färgningsinstrument, se den specifika instrumentets användarmanual och bruksanvisningar för driftsparametrar.

Allmänna procedurstege för att utföra IHC:

- Aparaffinering: Aparaffinera objektkläder i Slide Brite eller xylen. Hydrera objektkläder i en serie graderade alkoholer till vatten.
- Peroxidblock: Blockera i 5 minuter med Peroxidized 1.
- Förbehandlingslösning/-protokoll: Se respektive primär antikroppsdatablad för rekommenderad förbehandlingslösning och protokoll.
- Avidinblock: Inkubera i 10-20 minuter vid RT med Biocares Avidin.
- Biotinblock: Inkubera i 10-20 minuter vid RT med Biocares Biotin.
- Proteinblock (valfritt): Inkubera i 10-15 minuter vid rumstemperatur (RT) med Background Sniper.

8. Primär antikropp: Se respektive datablad för primär antikropp för inkubationstid.

9. Länk: Inkubera i 10 minuter vid RT med 4plus Biotinylated Link.

10. Etikett: Inkubera i 10-20 minuter vid RT med 4plus Streptavidin HRP eller Streptavidin AP Label.

11. Kromogen: Inkubera i 10-20 minuter vid RT med Biocares DAB eller inkubera i 5-7 minuter vid RT med Warp Red.

12. Mottfärgning: Motfärgning med hematoxylin. Skölj med avjoniserat vatten. Applicera Tacha's Blueing Solution i 1 minut. Skölj med avjoniserat vatten.

Tekniska anmärkningar:

- Använd TBS för tvättstegen.

Kvalitetskontroll:

Se CLSI kvalitetsstandarder för design och implementering av immunhistokemianalyser; Godkänd guideline-andra upplagan (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁹

Positiv vävnadskontroll:

Extern positivt kontrollmaterial bör vara färska prover fixerade, bearbetade och inbäddade så snart som möjligt på samma sätt som patientproverna. Positiva vävnadskontroller tyder på korrekt preparerade vävnader och korrekta färgningstekniker. En positiv extern vävnadskontroll för varje uppsättning testbetingelser bör inkluderas i varje färgningskörning.

De vävnader som används för de externa positiva kontrollmaterialen bör väljas från patientprover med välkartererade låga nivåer av den positiva målaktiviteten som ger svag positiv färgning. Den låga nivån av positivitet för externa positiva kontroller är utformad för att säkerställa upptäckt av subtila förändringar i den primära antikroppens känslighet från instabilitet eller problem med IHC-metoden. Kommersiellt tillgängliga vävnadskontrollobjektkläder eller prover som bearbetats annorlunda än patientproven/patienterna validerar endast reagensprestanda och verifierar inte vävnadsberedning.

Kända positiva vävnadskontroller bör endast användas för att övervaka korrekt prestanda hos bearbetade vävnader och testreagens, snarare än som ett hjälpmittel för att formulera en specifik diagnos av patientprover. Om de positiva vävnadskontrollerna inte visar positiv färgning, bör resultaten med testproverna anses ogiltiga.

Negativ vävnadskontroll:

Använd en negativ vävnadskontroll fixerad, bearbetad och inbäddad på ett sätt som är identiskt med patientproverna med varje färgningskörning för att verifiera specificiteten hos den primära IHC-antikroppen för demonstration av målantigenet och för att ge en indikation på specifik bakgrundsfärgning (falsk positiv färgning). Det kan också mångfalden av olika celltyper som finns i de flesta vävnadssnitt användas av laboratoriet som interna negativa kontrollplatser för att verifiera IHC:s prestanda specificeringer. Typer och källor för prover som kan användas för negativ vävnad kontrollerna listas i avsnittet Prestandaegenskaper.

Om specifik färgning (falsk positiv färgning) inträffar i den negativa vävnadskontrollen, bör resultaten med patientproverna anses ogiltiga.

Osäkert negativ reagenskontroll:

Använd en osäkert negativ reagenskontroll i stället för den primära antikroppen med en sektion av varje patientprov för att utvärdera osäkert färgning och möjliggöra bättre tolkning av specifik färgning på antigenstället. Helst innehåller en negativ reagenskontroll en antikropp som produceras och prepareras (dvs spädd till samma koncentration med samma spädningsmedel) för användning på samma sätt som den primära antikroppen men uppvisar

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Swedish

BIOCARE
MEDICAL

ingen specifik reaktivitet med mänskliga vävnader i samma matris/lösning som Biocare-antikroppen. Enbart utspädningsmedel kan användas som ett mindre önskvärt alternativ till de tidigare beskrivna negativa reagenskontrollerna. Inkubationstiden för den negativa reagenskontrolpen bör motsvara den för den primära antikroppen.

När paneler med flera antikroppar används på seriella snitt, kan de negativt färgande områdena på ett objektglas fungera som en negativ/iclespecifik bindningsbakgrundskontroll för andra antikroppar. För att differentiera endogen enzymaktivitet eller ospecifik bindning av enzymer från specifik immunreaktivitet, kan ytterligare patientvävnader färgas uteslutande med substrat-kromogen eller enzymkomplex (PAP, avidin-biotin, streptavidin) respektive substrat-kromogen.

Analysverifiering:

Innan en antikropp eller färgningssystem används i ett diagnostiskt förfarande, bör användaren verifiera antikroppens specificitet genom att testa den på en serie interna vävnader med kända immunhistokemiska prestandaegenskaper som representerar kända positiva och negativa vävnader. Se kvalitetskontrollprocedurerna som tidigare beskrivits i detta avsnitt av produktbilagan och till kvalitetskontrollrekommendationerna i CAP Certification Program¹⁰ för immunhistokemi och/eller NCCLS IHC-riktlinje¹¹. Dessa kvalitetskontrollprocedurer bör upprepas för varje nytt antikroppsparti, eller närhelst det sker en förändring i analysparametrarna. Vävnader listade i avsnittet Prestandaeegenskaper är lämpliga för analysverifiering.

Felsökning:

Följ de antikoppsspecifika protokollrekommendationerna enligt databladet som tillhandahålls. Om atypiska resultat uppstår, kontakta Biocares tekniska support på 1-800-542-2002.

Tolkning av färgning:

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG producerar en brun (HRP) eller röd (AP) färgreaktion vid antigenställena lokaliseringar av den primära antikroppen. Före tolkning av patientresultat måste färgningen av kontroller utvärderas av en kvalificerad patolog. Negativa kontroller utvärderas och jämförs med färgade objektglas för att säkerställa att eventuell observerad färgning inte är ett resultat av ospecifika interaktioner.

Positiv vävnadskontroll:

Den positiva vävnadskontrollen färgad med indikerad antikropp bör undersökas först för att säkerställa att alla reagenser fungerar korrekt. Lämplig färgning av målceller (som indikerat ovan) indikerar positiv reaktivitet. Om de positiva vävnadskontrollerna inte visar positiv färgning, bör alla resultat med testproverna anses ogiltiga.

Färgen på reaktionsprodukten kan variera beroende på använda substratkromogener. Se substratets bipacksedel för förväntade färgreaktioner. Vidare kan metakromasi observeras i variationer av färgningsmetoden.¹²

När en motfärgning används, beroende på inkubationslängden och styrkan hos den använda motfärgningen, kommer motfärgning att resultera i en färgning av cellkärnorna. Överdriven eller ofullständig motfärgning kan äventyra korrekt tolkning av resultaten. Se protokoll för rekommenderad motfärgning.

Negativ vävnadskontroll:

Den negativa vävnadskontrollen bör undersökas efter den positiva vävnadskontrollen för att verifiera specificiteten för märkningen av målantigenet med den primära antikroppen. Frånvaron av specifik färgning i den negativa vävnadskontrollen bekräftar avsaknaden av antikroppskorsreaktivitet mot celler/cellulära komponenter. Om specifik

färgning (falsk positiv färgning) inträffar i den negativa externa vävnadskontrollen, bör resultaten med patientprovet anses ogiltiga.

Ospeficifik färgning, om sådan finns, har vanligtvis ett diffust utseende. Sporadisk färgning av bindväv kan också observeras i snitt från alltför formalinfixerade vävnader. Använd intakta celler för tolkning av färgningsresultat. Nekrotiska eller degenererade celler färgas ofta ospecifikt.

Patientvävnad:

Undersök patientprover färgade med indikerad antikropp sista. Positiv färgningsintensitet bör bedömas inom ramen för eventuell ospecifik bakgrundsfärgning av den negativa reagenskontrollen. Som med alla immunhistokemiska tester betyder ett negativt resultat att antigenet inte upptäcktes, inte att antigenet saknades i cellerna/vävnaden som analyserades. Använd vid behov en panel av antikroppar för att identifiera falsknegativa reaktioner.

Se Sammanfattnings och förklaring, begränsningar och prestandaeegenskaper för specifik information om indikerad antikoppsimmunreaktivitet.

Begränsningar:

Allmänna begränsningar:

1. För *in vitro* diagnostisk (IVD) användning
2. Denna produkt är endast avsedd för professionellt bruk: Immunhistokemi är en diagnostisk process i flera steg som består av specialiserad utbildning i val av lämpliga reagenser; vävnadsval, fixering och bearbetning; förberedelse av IHC-objektglaset; och tolkning av färgningsresultaten.
3. Endast för användning av läkares recept. (Endast Rx)
4. Vävnadsfärgning är beroende av hantering och bearbetning av vävnaden före färgning. Felaktig fixering, frysning, upptining, tvättning, torkning, uppvärming, sekktionering eller kontaminerings med andra vävnader eller vätskor kan ge artefakter, antikoppsfärgning eller falskt negativt resultat. Inkonsekventa resultat kan bero på variationer i fixerings- och inbäddningsmetoder, eller på inneboende oregelbundenhet i vävnaden.¹³
5. Överdriven eller ofullständig motfärgning kan äventyra korrekt tolkning av resultaten.
6. Den kliniska tolkningen av positiv eller negativ färgning bör utvärderas mot bakgrund av klinisk presentation, morfologi och andra histopatologiska kriterier. Den kliniska tolkningen av positiv eller negativ färgning bör kompletteras med morfologiska studier med korrekta positiva och negativa interna och externa kontroller samt andra diagnostiska tester. Det är en kvalificerad patolog som är bekant med korrekt användning av IHC-antikroppar, reagens och metoder som ansvarar för att tolka alla steg som används för att förbereda och tolka det slutliga IHC-preparatet.
7. De optimala protokollen för en specifik applikation kan variera. Dessa inkluderar, men är inte begränsade till fixering, värmeåtervinningsmetod, inkubationsstider, antikoppsspädning, vävnadssnitttjocklek och detektionskit som används. Se den primära antikroppen och andra hjälpreagensanvisningar för användning för rekommenderade protokoll och villkor för användning. Databladets rekommendationer och protokoll är baserade på exklusiv användning av Biocare-produkter. Ytterst är det utredarens ansvar att fastställa optimala förhållanden.
8. Denna produkt är inte avsedd för användning i flödescytometri. Prestandaeegenskaper har inte fastställts för flödescytometri.
9. Vävnader från personer infekterade med hepatitis B-virus och som innehåller hepatitis B-yt抗原 (HBsAg) kan uppvisa ospecifik färgning med pepparrotsperoxidase.¹⁴
10. Reagenser kan uppvisa oväntade reaktioner i tidigare otestade vävnader. Möjligheten för oväntade reaktioner även i testade

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

111/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Swedish

BIOCARE
MEDICAL

vävnadsgrupper kan inte helt elimineras på grund av biologisk variation av antigenuttryck i neoplasmer eller andra patologiska vävnader.¹⁵ Kontakta Biocares tekniska support på 1-800-542-2002, eller via den tekniska supportinformationen på biocare.net, med dokumenterade oväntade reaktioner.

11. Normala/icke-immuna sera från samma djurkälla som sekundära antisera som används i blockeringsssteg kan orsaka falsknegativa eller falskt positiva resultat på grund av autoantikroppar eller naturliga antikroppar.
12. Falskt positiva resultat kan ses på grund av icke-immunologisk bindning av proteiner eller substratreaktionsprodukter. De kan också orsakas av pseudoperoxidasaktivitet (erytrocyter), endogen peroxidasaktivitet (cytokrom C) eller endogent biotin (t.ex. lever, bröst, hjärna, njure) beroende på vilken typ av immunfärgning som används.¹³
13. Ett negativt resultat betyder att antigenet inte detekterades, inte att antigenet saknades i de undersökta cellerna eller vävnaden.

Produktspecifika begränsningar:

Inga ytterligare produktspecifika begränsningar.

Prestandaegenskaper:

Färgning utfördes med hjälp av protokoll som tillhandahålls i de antikroppsspecifika bruksanvisningarna eller som specificerats. Färgningens känslighet och specifiteten utvärderades över en rad normala och neoplastiska vävnadstyper som utvärderades under utveckling av primära antikroppar.

Reproducerbarhet:

Reproducerbarheten av Biocares detektionssystem och systemreagenser verifieras genom en mätning av mellanprecision där olika reagenslots testades under en längre tidperiod med hjälp av olika operatörer, analytiker, reagenslots, vävnadsprover och utrustning. Färgningen som erhölls för varje detektionsreagens som utvärderades var konsekvent och utfördes som förväntat.

3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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 Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

Felsökning:

1. Ingen färgning av några objektglas – Kontrollera att lämplig positiv kontrollvävnad, antikroppar och detektionsprodukter har använts. Kontrollera om det finns ofullständig eller felaktig borttagning eller förbehandling av vax.
2. Svag färgning av alla objektglas – Kontrollera att lämplig positiv kontrollvävnad, antikroppar och detektionsprodukter har använts.
3. Överdriven bakgrund av alla objektglas – Det kan finnas höga nivåer av endogent biotin (om du använder biotinbaserade detektionsprodukter), endogen HRP-aktivitet som omvandlar kromogen till färgad slutprodukt (använt peroxidaseblock) eller överskott av icke-specific proteininteraktion (använt ett protein block, såsom serum- eller kaseinbaserad blockeringslösning).
4. Vävnadssektioner tvättar bort objektglasen under inkubationen – Kontrollera objektglasen för att säkerställa att de är positivt laddade.
5. Specifik färgning för mörk – Kontrollera protokollet för att avgöra om korrekt antikroppstiter applicerades på objektglaset, samt korrekta inkubationstider för alla reagenser. Se dessutom till att protokollet har tillräckligt med tvättsteg för att ta bort överflödigt reagens efter att inkubationsstegen har slutförts.

Referenser:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Turkish

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
GM601H	25 mL

Kullanım amacı:

İçin laboratuvar ortamında Tanısal Kullanım

4plus Biyotinlenmiş Keçi Anti-Fare IgG'nin yaban turpu peroksidaz (HRP) veya alkalin fosfataz (AP) streptavidin konjugat iki adımlı uygulama yöntemi kullanılarak manuel veya otomatik İmmünohistokimya (IHC) boyama protokollerinde kullanılmıştır. Bu streptavidin-konjugat tespiti, IHC boyama işlemi sırasında formaline sabitlenmiş, parafine gömülü (FFPE) dokulardaki hedef antijenlere bağlanan fare IgG birincil antikorlarının tespiti için tasarlanmıştır. Herhangi bir lekelenmenin veya yokluğunun klinik yorumu, morfolojik çalışmalar ve uygun kontrollerle tamamlanmalı ve hastanın klinik geçmişi ve diğer tanısal testler bağlamında kalifiye bir patolog tarafından değerlendirilmelidir.

Özet ve Açıklama:

4plus Biyotinlenmiş Keçi Anti-Fare IgG bir antikor-enzim kompleksi oluşturmak üzere fare birincil antikorlarını saptamak için iki aşamalı bir yöntem kullanılarak tasarlanmıştır. Bu kompleks daha sonra uygun bir substrat/kromojen kullanılarak görselleştirilir. İki aşamalı yöntemde ikincil antikor biyotinlenir ve ek bir enzim etiketi streptavidin sırasıyla uygulanır. İki aşamalı yöntem, antijenlerin düşük düzeyde eksprese edildiği durumlarda tespitin güçlendirilmesi için tasarlanmıştır.
Bu biyotinlenmiş antikor, fare IgG'sindeki ağır ve hafif zincirlerle reaksiyona girer. At,歌唱 ve insana karşı adsorbe edilir. Tüm fare IgG alt sınıfları ve fare IgM'si ile reaksiyona girer. İnsan,歌唱 ve at serum proteinlerine minimal çapraz reaksiyonla afiniteye saflaştırılmıştır. Streptavidin konjugatlarıyla birleştiğinde duyarlılığı artırmak için biyotin ile ikincil antikor arasına uzun bir aralayıcı kol yerleştirildi. 4plus Biyotinlenmiş keçi Anti-Fare IgG'si, streptavidin yaban turpu peroksidazı veya streptavidin alkalin fosfataz tespit sistemleriyle birlikte kullanılabilir.

Prosedür Prensibi:

Bu mikro polimer tespit kiti, formalinle sabitlenmiş, parafine gömülü doku kesitlerinin immünohistokimyasal (IHC) boyama teknikleri, bir ardışık uygulama yoluyla antijenlerin görselleştirilmesine izin verir antijene spesifik antikor (birincil antikor), birincil antikora ikincil bir antikor (isteğe bağlı bağlantı antikoru/prob), bir enzim kompleksi ve araya giren yıkama adımlarına sahip bir kromojenik substrat. Kromojenin enzimatik aktivasyonu, antijen bölgesinde görünür bir reaksiyon ürünü ile sonuçlanır. Numune daha sonra zıt boyanabilir ve lamel ile kaplanabilir. Sonuçlar bir ışık kullanılarak yorumlanır olabilecek veya patofizyolojik süreçlerin ayırcı tanısında yardımcı olabilir. belirli bir antijenle ilişkili olmayıpabilir.

Malzemeler ve yöntemler:

Sağlanan Reaktifler:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
GM601H	GM601H	4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG	1 x 25 mL

Sulandırma, Karıştırma, Seyreltme, Titrasyon:

Streptavidin bazlı tespit kiti reaktif(ler)i optimize edilmiştir ve Biocare antikorları ve yardımcı reaktiflerle kullanıma hazırır. Sulandırmaya, karıştırma, seyreltmeye veya titrasyona gerek yoktur.

 Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080



TP v3 (12/15/2021)

113/116

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

Bilinen Uygulamalar:

İmmünohistokimya (formalinle sabitlenmiş parafine gömülü dokular)

Türlerin Reaktivitesi:

Fare IgG ağır ve hafif zincirleri

Şu Şekilde Sağlanır:

Bir protein taşıyıcı ve koruyucu olarak %0,01'den az ProClin 300 ve/veya %0,5'ten az ProClin 950 içeren tamponlu salin solusyonu, pH 7,2-7,4. Ek ayrıntılar için Güvenlik Veri Sayfasına bakın.

Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Malzemeler ve Reaktifler:

Mikroskop slaytları, pozitif yüklü
Positif ve negatif doku kontrolleri
Çöl Odası* veya benzeri Kurutma fırını (isteğe bağlı)
Ksilen veya ksilen ikamesi
Etanol veya reaktif alkol
Gizlenme Odası* veya benzeri düdüklü tencere (isteğe bağlı)
Deiyonize veya damitilmiş su
Yıkama tamponu*
Ön arıtma reaktifleri* (isteğe bağlı)
Enzim sindirim* (isteğe bağlı)
Peroksidaz bloğu*
Protein bloğu* (isteğe bağlı)
Avidin-Biyotin Engelleme Kiti
Birincil antikor*
Streptavidin etiketi*
Negatif kontrol reaktifleri*
Kromojenler*
Hematoksilin* (karşı boyaya)
Mavileştirme reaktifi*
Montaj ortamı*
Lamel camı
Işık Mikroskopu (40-400X büyütme)

* Biocare Tıbbi Ürünler: Katalog numaraları ve siparişle ilgili bilgi için <http://biocare.net> adresindeki Biocare Medical web sitesine bakın. Yukarıda listelenen bazı reaktifler, kullanılan spesifik uygulama ve tespit sisteme dayanmaktadır.

Depolama ve Stabilite:

2°C ile 8°C arasında saklayın. Ürün, bu koşullar altında saklandığında flakon etiketi üzerinde yazılı olan son kullanma tarihine kadar stabildir. Son kullanma tarihinden sonra kullanmayın. Belirtilenlerin dışındaki koşullar altında depolama doğrulanmalıdır. Kit reaktif(ler)i kullanıma hazırlır ve seyreltilmemelidir. Kullanıcı tarafından seyreltilen reaktifin stabilitesi Biocare tarafından belirlenmemiştir.

Pozitif ve negatif kontroller tüm hasta örnekleriyle aynı anda çalıştırılmalıdır. Laboratuvar prosedürlerindeki değişikliklerle açıklanamayan beklenmedik bir lekelenme gözlemlenirse ve antikorla ilgili bir sorundan şüpheleniliyorsa, 1-800-542-2002 numaralı telefondan veya biocare.net adresinde sağlanan teknik destek bilgileri aracılığıyla Biocare Teknik Desteğiyle iletişime geçin.

Numune hazırlama:

Formalinde sabitlenen dokular parafine gömülümeden önce kullanıma uygundur. Doku kesmeyi kolaylaştırmak ve mikrotom bıçaklarının zarar görmesini önlemek için doku işlemeden önce kemik dokuların kireçten arındırılması gereklidir.

Belirtilen antijen hedefini ifade eden uygun şekilde sabitlenmiş ve gömülü dokular serin bir yerde saklanmalıdır. 1988 tarihli Klinik Laboratuvar İyileştirme Yasası (CLIA), 42 CFR'de §493.1259(b) uyarınca "Laboratuvar

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Turkish

BIOCARE
MEDICAL

boyalı slaytları, alındığı tarihten itibaren en az on yıl saklamalıdır. numune bloklarını inceleme tarihinden itibaren en az iki yıl boyunca saklayın.³

Dokuların Boyama Öncesi Tedavisi:

Aşağıda önerilen protokole göre İsi Kaynaklı Epitop Alma (HIER) işlemini gerçekleştirsiniz. HIER'in IHC'den önce rutin kullanımının tutarsızlığı en aza indirdiği ve boyamayı standartlaştırdığı gösterilmiştir.^{4,5}

Uyarı ve Önlemler:

- Kit reaktifleri <%0,05'ten az ProClin 300 ve/veya %1'den az 950 içerir> ProClin tahrîs edici olarak sınıflandırıldığından ve ciltle temasla hassasiyete neden olabileceğinden eldiven ve koruyucu kıyafet giyin ve kullanırken makul önlemler alın. Göz, cilt ve mukoza ile temasından kaçının.
- İnsan veya hayvan kökenli malzemeleri potansiyel olarak biyolojik olarak tehlikeli olarak ele alın ve bu tür malzemeleri uygun önlemlerle atın. Maruz kalma durumunda, kullanıldığı yerde sorumlu makamların sağlık direktiflerine uyın.^{6,7}
- Tespitten önce ve sonra numuneler ve bunlara maruz kalan tüm materyaller, enfeksiyon bulaştırabilecekmiş gibi kullanılmalı ve uygun önlemler alınarak imha edilmelidir. Reaktifleri asla ağız yoluyla pipetlemeyin ve reaktiflerin ve numunelerin cilt ve mukoza zarlarına temasından kaçının. Reaktifler veya numuneler hassas alanlarla temas ederse bol miktarda suyla yıkayın.⁸
- Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonu spesifik olmayan boyamanın artmasına neden olabilir.
- Belirtilenlerin dışındaki inkübasyon süreleri veya sıcaklıklar hatalı sonuçlar verebilir. Kullanıcının bu tür değişiklikleri doğrulaması gereklidir.
- Reaktif şişenin üzerinde yazılı olan son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
- Mikro polimer saptama kiti reaktif(ler)i optimize edilmişdir ve Biocare antikorları ve yardımcı reaktiflerle kullanımına hazırlıdır. Önerilen protokoller ve kullanım koşulları için birincil antikor ve diğer yardımcı reaktif talimatlarına bakın.
- Bertaraf yöntemi için yerel ve/veya resmi makamların gerekliliklerine uyın.
- GBF talep üzerine temin edilebilir ve şu adreste bulunabilir:<http://biocare.net>.
- Bu cihazla ilgili her türlü ciddi olayı, yerel Biocare temsilcisiyle ve kullanıcının bulunduğu Üye Devletin veya ülkenin ilgili yetkili makamıyla iletişime geçerek bildirin.

Kullanım için talimatlar:

Mikro polimer tespit kiti reaktif(ler)i optimize edilmişdir ve Biocare antikorları ve yardımcı reaktiflerle kullanımına hazırlıdır. Önerilen protokoller ve kullanım koşulları için birincil antikor ve diğer yardımcı reaktif talimatlarına bakın. Kuluçka süreleri ve sıcaklıkları, takip edilen spesifik antikor protokolüne bağlı olarak değişecektir.

Otomatik bir boyama aleti kullanırken, çalışma parametreleri için özel aletin kullanım kılavuzuna ve kullanım talimatlarına bakın.

IHC gerçekleştirmek için genel prosedür adımları:

- Deparafinizasyon: Slaytları Slide Brite veya ksilende parafinden arındırın. Slaytları bir dizi dereceli alkolle suya hidratlayın.
- Peroksit Bloku: Peroxidazed 1 ile 5 dakika süreyle bloke edin.
- Ön Tedavi Çözümü/Protokolü: Önerilen ön tedavi çözümü ve protokolü için lütfen ilgili birincil antikor veri sayfasına bakın.
- Avidin Bloğu: Biocare Avidin ile oda sıcaklığında 10-20 dakika inkübe edin.
- Biotin Bloğu: Biocare Biotin ile oda sıcaklığında 10-20 dakika inkübe edin.
- Protein Bloğu (İsteğe Bağlı): Arkaplan Sniper'la oda sıcaklığında (RT) 10-15 dakika inkübe edin.
- Birincil Antikor: Kuluçka süresi için lütfen ilgili birincil antikor veri sayfasına bakın.

9. Bağlantı: 4plus Biyotinlenmiş Bağlantı ile oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edin.

10. Etiket: 4plus Streptavidin HRP veya Streptavidin AP Label ile oda sıcaklığında 10-20 dakika inkübe edin.

11. Kromojen: Biocare'in DAB'sı ile oda sıcaklığında 10-20 dakika inkübe edin veya Warp Red ile oda sıcaklığında 5-7 dakika inkübe edin.

12. Karşıt boyama: Hematoksilen ile karşıt boyama. Deionize su ile durulayın. Tacha'nın Bluing Solüsyonunu 1 dakika boyunca uygulayın. Deionize su ile durulayın.

Teknik Notlar:

- Yıkama adımları için TBS'yi kullanın.

Kalite kontrol:

İmmünohistokimya Testlerinin Tasarımı ve Uygulanmasına İlişkin CLSI Kalite Standartlarına bakın; Onaylanmış Kılavuz-İkinci Baskı (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA ABD (www.clsi.org). 2011⁹

Pozitif Doku Kontrolü:

Harici pozitif kontrol materyalleri, hasta numunesi/numuneleri ile aynı şekilde mümkün olan en kısa sürede sabitlenmiş, işlenmiş ve gömülü taze numunelerden oluşmalıdır. Pozitif doku kontrolleri, doğru hazırlanmış dokuların ve uygun boyama tekniklerinin göstergesidir. Her boyama işlemeye, her test koşulu seti için bir pozitif dış doku kontrolü dahil edilmelidir.

Harici pozitif kontrol materyalleri için kullanılan dokular, zayıf pozitif boyama veren, iyi karakterize edilmiş düşük pozitif hedef aktivitesi seviyelerine sahip hasta numunelerinden seçilmelidir. Harici pozitif kontroller içi düşük pozitiflik düzeyi, birincil antikor duyarlılığında kararsızlıkta veya IHC metodolojisindeki sorunlardan kaynaklanan hafif değişikliklerin tespit edilmesini sağlayacak şekilde tasarlanmıştır. Ticari olarak temin edilebilen doku kontrol slaytları veya hasta numunesinden/numunelerinden farklı şekilde işlenmiş numuneler yalnızca reaktif performansını doğrular ve doku hazırlığını doğrulamaz.

Bilinen pozitif doku kontrolleri, hasta örneklerine yönelik spesifik bir teşhisin formüle edilmesine yardımcı olmak yerine, yalnızca işlenmiş dokuların ve test reaktiflerinin doğru performansını izlemek için kullanılmalıdır. Pozitif doku kontrolleri pozitif boyama göstermezse test örnekleriyle elde edilen sonuçlar geçersiz sayılmalıdır.

Negatif Doku Kontrolü:

IHC birincil antikorunun özgüllüğünü doğrulamak için her boyama işleminde hasta numunesi/numuneleri ile aynı şekilde sabitlenmiş, işlenmiş ve gömülü bir negatif doku kontrolü kullanın. hedef antijenin gösterilmesi ve spesifik arka plan boyamasının bir göstergesinin sağlanması (yanlış pozitif boyama). Ayrıca çoğu doku kesitte mevcut olan farklı hücre tiplerinin çeşitliliği, IHC'nin performansını doğrulamak için laboratuvarçı tarafından dahili negatif kontrol alanları olarak kullanılacaktır özellikler. Negatif doku için kullanılabilecek örnek türleri ve kaynakları kontroller Performans Özellikleri bölümünde listelenmiştir.

Negatif doku kontrolünde spesifik boyama (yanlış pozitif boyama) meydana gelirse hasta numuneleriyle elde edilen sonuçlar geçersiz sayılmalıdır.

Spesifik Olmayan Negatif Reaktif Kontrolü:

Spesifik olmayan boyamayı değerlendirmek için her hasta örneğinin bir bölümü ile birincil antikor yerine spesifik olmayan bir negatif reaktif kontrolü kullanın ve antijen bölgesindeki spesifik boyamanın daha iyi yorumlanmasına izin verir. İdeal olarak bir negatif reaktif kontrolü, birincil antikorla aynı şekilde kullanılmak üzere üretilmiş ve hazırlanmış (yani aynı seyreltici kullanılarak aynı konsantrasyona seyreltilmiş) bir antikor içerir ancak Biocare antikoru ile aynı matris/çözelti içinde insan dokularıyla spesifik bir reaktivite sergilemez..

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

114/116

TP v3 (12/15/2021)

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Turkish

BIOCARE
MEDICAL

Tek başına seyreltici, daha önce açıklanan negatif reaktif kontrollerine daha az tercih edilen bir alternatif olarak kullanılabilir. Negatif reaktif kontrolüne yönelik kuluçka süresi, birincil antikorun kine karşılık gelmelidir.

Seri bölmelerde birkaç antikordan oluşan paneller kullanıldığından, bir slaydin negatif boyama alanları, diğer antikorlar için negatif/spesifik olmayan bağlanma arka planı kontrolü görevi görebilir. Endojen enzim aktivitesini veya enzimlerin spesifik olmayan bağlanması spesifik immünoreaktiviteden ayrı etmek için, ilave hasta dokuları sırasıyla substrat-kromojen veya enzim kompleksleri (PAP, avidin-biyotin, streptavidin) ve substrat-kromojen ile özel olarak boyanabilir.

Test Doğrulaması:

Bir antikorun veya boyama sisteminin bir teşhis prosedüründe ilk kullanımından önce kullanıcı, antikoru bilinen pozitif ve negatif dokuları temsil eden bilinen immünohistokimyasal performans özelliklerine sahip bir dizi kurum içi doku üzerinde test ederek antikorun özgüllüğünü doğrulamalıdır. Ürün ekinin bu bölümünde daha önce özetlenen kalite kontrol prosedürlerine ve CAP Sertifikasyon Programının kalite kontrol tavsiyelerine bakın.¹⁰ Immünohistokimya ve/veya NCCLS IHC kılavuzu için¹¹. Bu kalite kontrol prosedürleri her yeni antikor lotu için veya test parametrelerinde her değişiklik olduğunda tekrarlanmalıdır. Performans Özellikleri bölümünde listelenen dokular test doğrulaması için uygundur.

Sorum giderme:

Sağlanan veri sayfasına göre antikora özel protokol önerilerini izleyin. Tipik olmayan sonuçlar ortaya çıkarsa 1-800-542-2002 numaralı telefondan Biocare Teknik Desteğiyle iletişime geçin.

Boyamanın Yorumlanması:

4plus Biyotinlenmiş Keçi Anti-Fare IgG, birincil antikor tarafından lokalize edilen antijen bölgelerinde kahverengi (HRP) veya kırmızı (AP) renkli bir reaksiyon üretir. Hasta sonuçlarının yorumlanmasından önce kontrollerin boyanması yetkili bir patolog tarafından değerlendirilmelidir. Negatif kontroller değerlendirilir ve gözlemlenen herhangi bir lekelenmenin spesifik olmayan etkileşimlerin sonucu olmadığından emin olmak için boyalı slaytlara karşılaşılır.

Pozitif Doku Kontrolü:

Belirtilen antikorla boyanmış pozitif doku kontrolü, tüm reaktiflerin düzgün çalıştığından emin olmak için ilk önce incelenmelidir. Hedef hücrelerin uygun şekilde boyanması (yukarıda belirtildiği gibi) pozitif reaktivitenin göstergesidir. Pozitif doku kontrolleri pozitif boyama göstermezse test numuneleriyle elde edilen sonuçlar geçersiz sayılmalıdır.

Reaksiyon ürününün rengi, kullanılan substrat kromojenlerine bağlı olarak değişebilir. Beklenen renk reaksiyonları için alt tabaka paketindeki ekler bakın. Ayrıca boyama yönteminin varyasyonlarında metakromazi gözlemlenebilir.¹²

Bir karıştır boyama kullanıldığından, kuluçka süresine ve kullanılan karıştır boyamanın gücüne bağlı olarak karıştır boyama, hücre çekirdeklерinin renklenmesine neden olacaktır. Aşırı veya eksik karıştır boyama, sonuçların doğru şekilde yorumlanması tehlikeye atabilir. Önerilen karıştır boyama için protokol(ler)e bakın.

Negatif Doku Kontrolü:

Hedef antijenin birincil antikor tarafından etiketlenmesinin özgüllüğünü doğrulamak için pozitif doku kontrolünden sonra negatif doku kontrolü incelenmelidir. Negatif doku kontrolünde spesifik boyamanın olmaması, hücrelere/hücresel bileşenlere karşı antikor çapraz reaktivitesinin olmadığını doğrular. Negatif dış doku kontrolünde spesifik boyama (yanlış pozitif boyama) meydana gelirse hasta numunesiyle elde edilen sonuçlar geçersiz sayılmalıdır.

Spesifik olmayan boyama, mevcutsa genellikle yaygın bir görünüme sahiptir. Aşırı formalinle fiks edilmiş dokulardan alınan kesitlerde ara sıra bağ dokusunda lekelenme gözlemlenebilir. Boyama sonuçlarının yorumlanması için sağlam hücreleri kullanın. Nekrotik veya dejeneratif hücreler sıklıkla spesifik olmayan bir şekilde boyanır.

Hasta Dokusu:

Belirtilen antikorla boyanmış hasta numunelerini inceleyin son. Pozitif boyama yoğunluğu, negatif reaktif kontrolünün spesifik olmayan arka plan boyaması bağlamında değerlendirilmelidir. Herhangi bir immünohistokimyasal testte olduğu gibi, negatif sonuç, antijenin test edilen hücrelerde/dokuda bulunmadığı anlamına değil, antijenin tespit edilmediği anlamına gelir. Gerekirse yanlış negatif reaksiyonları tanımlamak için bir antikor paneli kullanın.

Belirtilen antikor immünoreaktivitesi ile ilgili spesifik bilgiler için Özeti ve Açıklama, Sınırlamalar ve Performans Özellikleri'ne bakın.

Sınırlamalar:

Genel Sınırlamalar:

1. **İçin/laboratuvar ortamında teşhis (IVD) Kullanımı**
2. Bu ürün yalnızca profesyonel kullanım içindir: Immünohistokimya, uygun reaktiflerin seçiminde özel eğitimden oluşan çok adımlı bir teşhis sürecidir; doku seçimi, fiksasyonu ve işlenmesi; IHC slaytinın hazırlanması; ve boyama sonuçlarının yorumlanması.
3. Sadece doktor reçetesile kullanım içindir. (Yalnızca Rx)
4. Doku boyaması, boyamadan önce dokunun işlenmesine ve işlenmesine bağlıdır. Uygun olmayan sabitleme, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit alma veya diğer doku veya sıvılar kontaminasyon; artefaktlara, antikor sıkışmasına veya yanlış negatif sonuçlara neden olabilir. Tutarlı sonuçlar, sabitleme ve gömme yöntemlerindeki farklılıklara veya doku içindeki doğal düzensizliklere bağlı olabilir.¹³
5. Aşırı veya eksik karşı boyama, sonuçların doğru şekilde yorumlanması tehlikeye atabilir.
6. Herhangi bir pozitif veya negatif boyamanın klinik yorumu, klinik sunum, morfoloji ve diğer histopatolojik kriterler kapsamında değerlendirilmelidir. Herhangi bir pozitif veya negatif boyamanın klinik yorumu, uygun pozitif ve negatif iç ve dış kontrollerin yanı sıra diğer teşhis testlerinin kullanıldığı morfolojik çalışmalarla tamamlanmalıdır. Nihai IHC hazırlığını hazırlamak ve yorumlamak için kullanılan tüm adımları yorumlamak, IHC antikorlarının, reaktiflerinin ve yöntemlerinin doğru kullanmasına așina olan nitelikli bir patologun sorumluluğundadır.
7. Belirli bir uygulama için optimum protokoller farklılık gösterebilir. Bunlar arasında, bunlarla sınırlı olmamak üzere, fiksasyon, ısı geri alma yöntemi, inkübasyon süreleri, antikor seyreltmesi, doku kesiti kalınlığı ve kullanılan tespit kitleri yer alır. Önerilen protokoller ve kullanım koşulları için birincil antikor ve diğer yardımcı reaktif talimatlarına bakın. Veri sayfası önerileri ve protokoller Biocare ürünlerinin özel kullanımına dayanmaktadır. Sonuçta optimal koşulları belirlemek araştırmacının sorumluluğundadır.
8. Bu ürünün akış sitometrisinde kullanılması amaçlanmamıştır. Akış sitometrisi için performans özellikleri belirlenmemiştir.
9. Hepatit B virüsü ile enfekte olmuş ve hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) içeren kişilerden alınan dokular, yaban turpu peroksidazıyla spesifik olmayan boyama sergileyebilir.¹⁴
10. Reaktifler daha önce test edilmemiş dokularda beklenmeyecek reaksiyonlar gösterebilir. Test edilen doku gruplarında bile beklenmeyecek reaksiyonların olasılığı, neoplazmalar veya diğer patolojik dokularda antijen ekspresyonunun biyolojik değişkenliği nedeniyle tamamen ortadan kaldırılmış.¹⁵ 1-800-542-2002 numaralı telefondan veya biocare.net'te sağlanan teknik destek bilgileri aracılığıyla, belgelenmiş beklenmeyecek reaksiyon(lar)la birlikte Biocare'in Teknik Desteğiyle iletişime geçin.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

115/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

4plus Biotinylated Goat Anti-Mouse IgG

Streptavidin detection

901-GM601-122023

Turkish

BIOCARE
MEDICAL

11. Bloklama adımlarında kullanılan ikincil antiserumlarla aynı hayvan kaynağından alınan normal/immün olmayan serumlar, otoantikorlar veya doğal antikorlar nedeniyle yanlış negatif veya yanlış pozitif sonuçlara neden olabilir.
12. Proteinlerin veya substrat reaksiyon ürünlerinin immünonolojik olmayan bağlanması nedeniyle yanlış pozitif sonuçlar görülebilir. Ayrıca kullanılan immün boyanın türüne bağlı olarak yalancı peroksidaz aktivitesi (eritrositler), endojen peroksidaz aktivitesi (sitokrom C) veya endojen biyotin (örn. karaciğer, meme, beyin, böbrek) nedeniyle de kaynaklanabilir.¹³
13. Negatif bir sonuç, incelenen hücrelerde veya dokuda抗igenin bulunmadığı değil,抗igenin tespit edilemediği anlamına gelir.

Ürüne Özel Sınırlamalar:

Ürüne özel ek sınırlama yoktur.

Performans Özellikleri:

Boyama, antikora özel kullanım talimatlarında veya belirtildiği şekilde sağlanan protokoller kullanılarak gerçekleştirildi. Boyamanın duyarlılığı ve özgüllüğü, birincil antikorların geliştirilmesi sırasında değerlendirilen bir dizi normal ve neoplastik doku tipinde değerlendirildi.

Yeniden üretilme:

Biocare'in tespit sistemlerinin ve sistem reaktiflerinin tekrar üretilmeCapability, çeşitli reaktif lotlarının çeşitli operatörler, analistler, reaktif lotları, doku numuneleri ve ekipmanlar kullanılarak uzun bir süre boyunca test edildiği orta düzeyde hassasiyet ölçümlü doğrulanır. Değerlendirilen her tespit reaktifi için elde edilen boyama tutarlıydı ve beklentiği gibi yapıldı.

7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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 Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histoch 1991; 66:194.

Sorun giderme:

1. Hiçbir slaytta lekelenme yok – Uygun pozitif kontrol dokusunun, antikorun ve tespit ürünlerinin kullanıldığı belirlemek için kontrol edin. Balmumunun eksik veya uygunsuz şekilde çıkarılması veya öntedavisisinin yapıp yapılmadığını kontrol edin.
2. Tüm slaytların zayıf boyanması – Uygun pozitif kontrol dokusunun, antikorun ve tespit ürünlerinin kullanıldığını belirlemek için kontrol edin.
3. Tüm slaytların aşırı arka planı – Yüksek seviyelerde endojen biyotin (biyotin bazlı tespit ürünlerini kullanılıyorsa), kromojeni renkli son ürüne dönüştürmen endojen HRP aktivitesi (peroksidaz bloğu kullanın) veya aşırı spesifik olmayan protein etkileşimi (bir protein kullanın) olabilir serum veya kazein bazı bloke etme solüsyonu gibi blokaj,
4. Doku bölümleri inkübasyon sırasında slaytları yıkar – Pozitif yüklü olduklarıdan emin olmak için slaytları kontrol edin.
5. Spesifik boyama çok koyu – Slayda uygun antikor titresinin uygulanıp uygulanmadığını ve ayrıca tüm reaktifler için uygun inkübasyon sürelerini belirlemek için protokolü kontrol edin. Ek olarak, kuluçka adımları tamamlandıktan sonra fazla reaktifleri çıkarmak için protokolün yeterli yıkama adımına sahip olduğundan emin olun.

Referanslar:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

116/116



TP v3 (12/15/2021) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands