

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

English

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Intended Use:

For *in vitro* Diagnostic Use

The MACH 4 Universal AP Polymer Kit is intended for use in either manual or automated Immunohistochemistry (IHC) staining protocols using an alkaline phosphatase (AP) polymer one- or two-step application method. This micro-polymer detection kit is designed for the detection of mouse IgG and IgM, and/or rabbit 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 MACH 4 Universal AP Polymer Kit is designed using a one-step or two-step method for detecting mouse and/or rabbit primary antibodies to form an antibody-enzyme complex. This complex is then visualized using an appropriate substrate/chromogen. In the one-step method a secondary antibody directly linked to the micro-polymer is applied while in the two-step method the secondary antibody is unlabeled, and an additional enzyme-linked polymer labeled reagent is sequentially applied. The two-step method is designed to amplify the detection in cases of low expressing antigens. Covered by one or more of the following US Pat. Nos. 6,686,461; 6,800,728; 7,102,024; 7,173,125; 7,462,689.

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 cover slipped. 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
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

Reconstitution, Mixing, Dilution, Titration:

The micro-polymer 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 and Rabbit IgG heavy and light chains

Supplied As:

MACH 4 Universal AP Probe – UP536

Buffered saline solution, pH 7.2-7.4, containing a protein carrier and less than 0.1% sodium azide preservative. See Safety Data Sheet for additional details.

MACH 4 Universal AP Polymer – MRAP536

Buffered saline solution, pH 7.6-7.8, 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* (optional)

Protein block* (optional)

Primary antibody*

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 further 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}

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

English

BIOCARE
M E D I C A L

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}

Warning and Precautions:

1. Kit reagent(s) contain less than 0.1% sodium azide. Concentrations less than 0.1% are not reportable hazardous materials according to U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard communication and EC Directive 91/155/EC. Sodium azide (NaN_3) used as a preservative is toxic if ingested. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent azide build-up in plumbing. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶
2. Kit reagents contain less than 0.05% ProClin 300 and/or less than 1% ProClin 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.
3. 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.^{7,8}
4. 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.⁹
5. Microbial contamination of reagents may result in an increase in nonspecific staining.
6. Incubation times or temperatures other than those specified may give erroneous results. The user must validate any such change.
7. Do not use reagent after the expiration date printed on the vial.
8. 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.
9. Follow local and/or state authority requirements for method of disposal.
10. The SDS is available upon request and is located at <http://biocare.net>.
11. 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.

This micro-polymer detection kit contains components classified as indicated in the table below in accordance with the Regulation (EC) No. 1272/2008.

Hazard	Code	Hazard Statement
	H317	May cause an allergic skin reaction.
N/A	H402 H412	Harmful to aquatic life. Harmful to aquatic life with long lasting effects.

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 (Optional): 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.
4. Protein Block (Optional): Incubate for 5-10 minutes at room temperature (RT) with Background Punisher.
5. Primary Antibody: Please refer to the respective primary antibody data sheet for incubation time.
6. Probe (mouse antibodies only): Incubate for 5-15 minutes at RT with MACH 4 Universal AP Probe.
7. Polymer: Incubate for 10-20 minutes for mouse antibodies or 30 minutes for rabbit antibodies at RT with MACH 4 MR AP Polymer.
8. Chromogen: Incubate for 5 minutes at RT with Warp Red.
9. 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 only. PBS wash buffers will inhibit alkaline phosphatase staining.
2. Do not use goat serum as a protein block. Do not use Background Eraser or Background Terminator.

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). 2011¹⁰

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

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

English

BIOCARE
M E D I C A L

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 Program¹¹ for Immunohistochemistry and/or the NCCLS IHC guideline¹². 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 MACH 4 Universal AP Polymer Kit produces a red 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.¹³

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.¹⁴
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.¹⁵

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

English

BIOCARE
M E D I C A L

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.¹⁶ 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.¹⁴
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 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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.

7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
15. 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.
16. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

BIOCARE
MEDICAL

Dutch

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Beoogd gebruik:

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik

De MACH 4 universele AP-polymeerkit is bedoeld voor gebruik in handmatige of geautomatiseerde immunohistochemie (IHC)-kleuringsprotocollen met behulp van een alkalische fosfatase (AP)-polymeer één- of tweestaps applicatiemethode. Deze micropolymeer detectiekit is ontworpen voor de detectie van primaire IgG- en IgM-antilichamen van muizen en/of konijnen-IgG die zijn gebonden aan doelantigenen in de met formaline gefixeerde, in paraffine ingebette (FFPE) weefsels tijdens het IHC-kleuringsproces. De klinische interpretatie van elke kleuring of de afwezigheid ervan moet worden aangevuld met morfologische onderzoeken en de juiste controles en moet worden beoordeeld binnen de context van de klinische geschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests door een gekwalificeerde patholoog.

Samenvatting en uitleg:

De MACH 4 Universal AP Polymer Kit is ontworpen met behulp van een eenstaps- of tweestapsmethode voor het detecteren van primaire antilichamen van muizen en/of konijnen om een antilichaam-enzymcomplex te vormen. Dit complex wordt vervolgens gevisualiseerd met behulp van een geschikt substraat/chromogeen. Bij de eenstapsmethode wordt een secundair antilichaam direct gekoppeld aan het micropolymeer aangebracht, terwijl bij de tweestapsmethode het secundaire antilichaam niet-gelabeld is en een extra enzym-gekoppeld polymeer-gelabeld reagens achtereen volgens wordt aangebracht. De tweestapsmethode is ontworpen om de detectie te versterken in gevallen van laag tot expressie brengende antigenen. Gedekt door een of meer van de volgende US Pat. nrs. 6.686.461; 6.800.728; 7.102.024; 7.173.125; 7.462.689.

Principe van de procedure:

Deze micropolymeerdetectiekit kan worden gebruikt bij immunohistochemische tests van met formaline gefixeerde, in paraffine ingebette weefselcoupes. In het algemeen immunohistochemisch (IHC) kleuringstechnieken maken de visualisatie van antigenen mogelijk via de sequentiële toepassing van een specifiek antilichaam tegen het antigen (primair antilichaam), een secundair antilichaam tegen het primaire antilichaam (optionele link antilichaam/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 afgedekt. Resultaten worden geïnterpreteerd met behulp van een lamp microscoop en hulp bij de differentiële diagnose van pathofysiologische processen, die kunnen of mogelijk niet geassocieerd zijn met een bepaald antigen.

Materialen en methoden:

Geleverde reagentia:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

reconstitutie, mengen, verdunnen, titratie:

De reagentia(s) van de micropolymeerdetectiekit(s) zijn geoptimaliseerd en klaar voor gebruik met Biocare-antilichamen en hulpreagentia. Reconstitutie, mengen, verdunnen of titreren is niet nodig.

Bekende toepassingen:

Immunohistochemie (met formaline gefixeerde, in paraffine ingebette weefsels)

Soorten Reactiviteit:

Muis en konijn IgG zware en lichte ketens

Geleverd als:

MACH 4 universele AP-sonde – UP536

Gebufferde zoutoplossing, pH 7,2-7,4, met een eiwitdrager en minder dan 0,1% natriumazideconserveermiddel. Zie veiligheidsinformatieblad voor aanvullende details.

MACH 4 Universeel AP-polymeer - MRAP536

Gebufferde zoutoplossing, pH 7,6-7,8, met een eiwitdrager en minder dan 0,01% ProClin 300 en/of minder dan 0,5% ProClin 950 als conserveermiddel. Zie veiligheidsinformatieblad voor aanvullende details.

Benodigde maar niet meegeleverde materialen en reagentia:

Microscoogglaasjes, positief geladen

Positieve en negatieve weefselcontroles

Woestijnkamer* of vergelijkbaar

xyleenvervanger

Ethanol of

reagensalcohol Onthullingskamer* of vergelijkbaar snelkookpan (optioneel)

Gedeioniseerd of gedestilleerd water

Wasbuffer*

Voorbehandelingsreagentia* (optioneel)

Enzymdigestie* (optioneel)

Peroxidaseblok* (optioneel)

Eiwitblok* (optioneel)

Primair antilichaam*

Negatieve controlereagentia*

Chromogenen*

Hematoxyline* (tegenkleuring)

Blauwmiddel*

Montagemedium*

Dekglas

Lichtmicroscoop (40-400X vergroting)

* Biocare Medical-producten: Raadpleeg de Biocare Medical-website op <http://biocare.net> voor meer informatie over catalogusnummers en bestellen. Bepaalde hierboven vermelde reagentia zijn gebaseerd op een specifieke toepassing en een gebruikt detectiesysteem.

Materialen en methoden:

Geleverde reagentia:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL

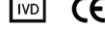
 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

5/114



TP v2 (02/09/2023)

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

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Dutch

BIOCARE
MEDICAL

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, mits onder deze omstandigheden bewaard. Niet gebruiken na de vervaldatum. Opslag onder andere dan de gespecificeerde omstandigheden moet worden geverifieerd. De reagens(s) uit de kit zijn gebruiksklaar en mogen niet worden verduld. De stabiliteit van door de gebruiker verduld reagens is niet vastgesteld door Biocare.

Positieve en negatieve controles moeten gelijktijdig met alle patiëntenstukken worden uitgevoerd. Als onverwachte kleuring wordt waargenomen die niet kan worden verklaard door variaties in laboratoriumprocedures en er wordt een probleem met het antilichaam vermoed, neem dan contact op met de technische ondersteuning van Biocare op 1-800-542-2002 of via de technische ondersteuningsinformatie op biocare.net.

Voorbereiding van het monster:

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

Correct gefixeerde en ingebette weefsels die het gespecificeerde antigenoel tot expressie brengen, moeten op een koude plaats worden bewaard. De Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) van 1988 vereist in 42 CFR §493.1259(b) dat "Het laboratorium gekleurde objectglaasjes ten minste tien jaar vanaf de datum van onderzoek en bewaar proefblokken ten minste twee jaar vanaf de datum van onderzoek."³

Behandeling van weefsels voorafgaand aan kleuring:

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

Waarschuwing en voorzorgsmaatregelen:

- Reagentia(s) bevatten minder dan 0,1% natriumazide. Concentraties van minder dan 0,1% zijn geen te rapporteren gevaarlijke materialen volgens US 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication en EG-richtlijn 91/155/EC. Natriumazide (NaN₃) dat als conservermiddel wordt gebruikt, is giftig bij inslikken. Natriumazide kan reageren met loden en koperen leidingen om zeer explosieve metaalaziden te vormen. Bij afvoer spoelen met grote hoeveelheden water om ophoping van azide in de leidingen te voorkomen. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶
- Kitreagentia bevatten minder dan 0,05% ProClin 300 en/of minder dan 1% ProClin 950. Draag handschoenen en beschermende kleding en neem redelijke voorzorgsmaatregelen bij het hanteren, aangezien ProClin geklassificeerd is als irriterend en huidcontactsensibilisatie kan veroorzaken. Vermijd contact met ogen, huid en slijmvliezen.
- Behandel materialen van menselijke of dierlijke oorsprong als potentieel biologisch gevaarlijk en verwijder dergelijke materialen met de juiste voorzorgsmaatregelen. Volg in geval van blootstelling de gezondheidsrichtlijnen van de verantwoordelijke autoriteiten waar gebruikt.^{7,8}
- Specimens, voor en na fixatie, en alle materialen die eraan worden blootgesteld, moeten worden behandeld alsof ze een infectie kunnen overdragen en moeten met de juiste voorzorgsmaatregelen worden verwijderd. Pipetteer reagentia nooit met de mond en vermijd contact met de huid en slijmvliezen met reagentia en monsters. Als reagentia of monsters in contact komen met gevoelige gebieden, was deze dan met een ruime hoeveelheid water.⁹
- Microbiële verontreiniging van reagentia kan resulteren in een toename van niet-specificke kleuring.

6. Andere incubatietijden of -temperaturen dan gespecificeerd kunnen foutieve resultaten opleveren. De gebruiker moet een dergelijke wijziging valideren.

7. Gebruik het reagens niet meer na de vervaldatum die op de flacon is gedrukt.

8. De reagentia(s) van de micropolymeerdetectiekit zijn geoptimaliseerd en klaar voor gebruik met Biocare-antilichamen en aanvullende reagentia. Raadpleeg de gebruiksaanwijzing voor het primaire antilichaam en andere hulpreagens voor de aanbevolen protocollen en gebruiksvoorwaarden.

9. Volg de lokale en/of landelijke vereisten voor de verwijderingsmethode.

10. Het veiligheidsinformatieblad is op verzoek verkrijgbaar en is te vinden op <http://biocare.net>.

11. Meld alle ernstige incidenten met betrekking tot dit apparaat door contact op te nemen met de lokale Biocare-vertegenwoordiger en de toepasselijke bevoegde autoriteit van de lidstaat of het land waar de gebruiker zich bevindt.

Deze micropolymeerdetectiekit bevat componenten die zijn geklassificeerd zoals aangegeven in onderstaande tabel in overeenstemming met Verordening (EG) nr. 1272/2008.

Gevaar	Code	Gevarenaanduiding
	H317	Kan een allergische huidreactie veroorzaken.
N/A	H402 H412	Schadelijk voor in het water levende organismen. Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen.

Gebruiksaanwijzing:

De reagentia(s) van de micropolymeerdetectiekit zijn geoptimaliseerd en klaar voor gebruik met Biocare-antilichamen en hulpreagentia. Raadpleeg de gebruiksaanwijzing voor het primaire antilichaam en andere hulpreagens voor de aanbevolen protocollen en gebruiksvoorwaarden. Incubatietijden en -temperaturen variëren afhankelijk van het gevolgde specifieke antilichaamprotocol.

Raadpleeg bij gebruik van een geautomatiseerd kleuringsinstrument de bedieningshandleiding van het specifieke instrument en de gebruiksaanwijzing voor de bedrijfsparameters.

Algemene procedurele stappen voor het uitvoeren van IHC:

1. Deparaffinatisatie: deparaffineer objectglaasjes in Slide Brite of xyleen. Hydrateer dia's in een reeks gesorteerde alcoholes tot water.
2. Peroxideblok (optioneel): Blokkeer gedurende 5 minuten met Peroxidized 1.
3. Voorbehandelingsoplossing/protocol: Raadpleeg het respectievelijke primaire antilichaamgegevensblad voor de aanbevolen voorbehandelingsoplossing en het protocol.
4. Eiwitblok (optioneel): Incubeer gedurende 5-10 minuten bij kamertemperatuur (RT) met Background Punisher.
5. Primair antilichaam: Raadpleeg het respectievelijke gegevensblad over het primaire antilichaam voor de incubatietijd.
6. Probe (alleen muizenantilichamen): Incubeer gedurende 5-15 minuten bij RT met MACH 4 Universal AP Probe.
7. Polymeer: Incubeer gedurende 10-20 minuten voor antilichamen van muizen of 30 minuten voor antilichamen van konijnen bij RT met MACH 4 MR AP Polymeer.
8. Chromogeen: Incubeer gedurende 5 minuten bij RT met Warp Red.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Dutch

BIOCARE
MEDICAL

9. Tegenkleuring: Tegenkleuring met hematoxyline. Spoel met gedemineraleerd water. Breng Tacha's Blueing Solution aan gedurende 1 minuut. Spoel met gedemineraleerd water.

Technische opmerkingen:

1. Gebruik TBS alleen voor wasstappen. PBS-wasbuffers zullen alkalische fosfatasekleuring remmen.
2. Gebruik geen geitenserum als eiwitblok. Gebruik geen achtergrondwisscher of achtergrondterminator.

Kwaliteitscontrole:

raadpleeg CLSI-kwaliteitsnormen voor ontwerp en implementatie van immunohistochemie-assays; Goedgekeurde richtlijn-tweede editie (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011¹⁰

Positieve weefselcontrole:

externe positieve controlesmaterialen moeten verse monsters zijn die zo snel mogelijk worden gefixeerd, verwerkt en ingebed op dezelfde manier als de monsters van de patiënt. Positieve weefselcontroles zijn indicatief voor correct gerepareerde weefsels en juiste kleurtechnieken. In elke kleuringsrun moet één positieve externe weefselcontrole voor elke reeks testomstandigheden worden opgenomen.

De weefsels die voor de externe positieve controlesmaterialen worden gebruikt, moeten worden gekozen uit patiëntenonderdelen met goed gekarakteriseerde lage niveaus van de positieve doelactiviteit die zwakke positieve kleuring geeft. Het lage niveau van positiviteit voor externe positieve controles is zo ontworpen dat subtiele veranderingen in de gevoeligheid van het primaire antilichaam door instabiliteit of problemen met de IHC-methodologie worden gedetecteerd. In de handel verkrijgbare objectglaasjes voor weefselcontrole of monsters die op een andere manier zijn verwerkt dan het/de patiëntmonster(s), valideren alleen de werking van het reagens en verifiëren niet de weefselbereiding.

Bekende positieve weefselcontroles mogen alleen worden gebruikt voor het bewaken van de correcte werking van bewerkte weefsels en testreagentia, en niet als hulpmiddel bij het formuleren van een specifieke diagnose van patiëntenmonsters. 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 die van de patiëntmonster(s) om de specificiteit van het IHC-primaire antilichaam voor demonstratie van het doelantigen en om een indicatie te geven van specifieke achtergrondkleuring (vals positieve kleuring). Ook kan de verscheidenheid aan verschillende celtypen die in de meeste weefselcoupes aanwezig zijn kunnen door de laboratoria worden gebruikt als interne negatieve controlelocaties om de prestaties van de IHC te verifiëren specificaties. De soorten en bronnen van monsters die kunnen worden gebruikt voor negatief weefsel bedieningselementen worden vermeld in de sectie Prestatiekenmerken.

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

Gebruik een niet-specifieke negatieve reagenscontrole in plaats van het primaire antilichaam met een sectie van elk patiëntenonderdeel om niet-specificieke kleuring te evalueren en

een betere interpretatie van specifieke kleuring op de antigenplaats mogelijk te maken. Idealiter bevat een negatieve reagenscontrole een geproduceerd en bereid antilichaam (dwz verduld tot dezelfde concentratie met hetzelfde verdunningsmiddel) voor gebruik op dezelfde manier als het primaire antilichaam, maar vertoont het 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 incubatietijd voor de negatieve reagenscontrole moet overeenkomen met die van het primaire antilichaam.

Wanneer panelen van meerdere antilichamen worden gebruikt op seriële secties, kunnen de negatieve kleurende gebieden van één objectglaasje dienen als een negatieve/niet-specificieke bindende achtergrondcontrole voor andere antilichamen. Om endogene enzymactiviteit of niet-specificieke binding van enzymen te onderscheiden van specifieke immunoreactiviteit, kunnen aanvullende 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 kleuringssysteem 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 procedures voor kwaliteitscontrole die eerder zijn beschreven in dit gedeelte van de productbijsluiter en de aanbevelingen voor kwaliteitscontrole van het CAP-certificeringsprogramma¹¹ voor immunohistochemie en/of de NCCLS IHC-richtlijn¹². Deze kwaliteitscontroleprocedures moeten worden herhaald voor elke nieuwe partij antilichamen, of telkens wanneer er een wijziging is in de assayparameters. Weefsels vermeld in de sectie Prestatiekenmerken zijn geschikt voor assayverificatie.

Problemen oplossen:

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

Interpretatie van kleuring:

De MACH 4 Universal AP Polymer Kit produceert een rode kleurreactie op de antigenplaatsen die zijn gelokaliseerd door het primaire antilichaam. Voordat 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 de waargenomen kleuring niet het resultaat is van niet-specificieke interacties.

Positieve weefselcontrole:

De positieve weefselcontrole die met het aangegeven antilichaam is gekleurd, moet eerst worden onderzocht om er zeker van te zijn dat alle reagentia goed werken. 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 bijsluiter van de substraatverpakking voor de verwachte kleurreacties. Verder kan metachromasie worden waargenomen in variaties van de kleuringsmethode.¹³ Wanneer een tegenkleuring wordt gebruikt, zal de tegenkleuring, afhankelijk van de incubatietijd en de kracht van de gebruikte tegenkleuring, resulteren in een verkleuring van de celkernen. Overmatige onvolledige tegenkleuring

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Dutch

BIOCARE
M E D I C A L

kan de juiste interpretatie van de resultaten in gevaar brengen. Raadpleeg protocol(len) voor aanbevolen tegenkleuring.

Negatieve:

De negatieve weefselcontrole moet worden onderzocht na de positieve weefselcontrole 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 (fout-positieve kleuring) optreedt bij de negatieve externe weefselcontrole, moeten de resultaten met het patiëntmonster als ongeldig worden beschouwd.

Niet-specificke kleuring, indien aanwezig, heeft meestal een diffus uiterlijk. Sporadische kleuring van bindweefsel kan ook worden waargenomen in secties van overmatig met formaline gefixeerde weefsels. Gebruik intacte cellen voor interpretatie van kleuringsresultaten. Necrotische of gedegenererde cellen kleuren vaak niet-specificiek.

geduldig weefsel:

Onderzoek patiëntspecimens gekleurd met aangegeven antilichaam laatst. Positieve kleuringsintensiteit 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 antigeen niet is gedetecteerd, niet dat het antigeen afwezig was in de geteste cellen/weefsels. Gebruik indien nodig een panel van antilichamen om vals-negatieve reacties te identificeren.

Raadpleeg Samenvatting en uitleg, Beperkingen en Prestatiekenmerken voor specifieke informatie over aangegeven antilichaamimmunoreactiviteit.

Beperkingen:

Algemene beperkingen:

1. Voor *in vitro* diagnostisch (IVD) gebruik
2. Dit product is uitsluitend voor professioneel gebruik: Immunohistochemie is een meerstaps diagnostisch proces dat bestaat uit gespecialiseerde training in de selectie van de juiste reagentia; weefselselectie, fixatie en verwerking; voorbereiding van de IHC-dia; en interpretatie van de kleuringsresultaten.
3. Alleen voor gebruik op voorschrift van een arts. (Alleen Rx)
4. Weefselkleuring is afhankelijk van de behandeling en verwerking van het weefsel voorafgaand aan de kleuring. Onjuiste fixatie, bevriezing, ontdooiing, wassen, drogen, verhitten, snijden of verontreiniging met andere weefsels of vloeistoffen kan leiden tot artefacten, insluiting van antilichamen of fout-negatieve resultaten. Inconsistente resultaten kunnen te wijten zijn aan variaties in fixatie- en inbeddingsmethoden of aan inherente onregelmatigheden in het weefsel.¹⁴
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 klinische presentatie, morfologie en andere histopathologische criteria. De klinische interpretatie van elke positieve of negatieve kleuring moet worden aangevuld met morfologische onderzoeken met behulp 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, warmteterugwinningsmethode, incubatietijden, antilichaamverdunning,

dikte van weefselcoupes en gebruikte detectiekit. Raadpleeg de gebruiksaanwijzing voor het primaire antilichaam en andere hulpreagens voor de aanbevolen protocollen en gebruiksvoorwaarden. De aanbevelingen en protocollen van het datablad 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. Prestatiekenmerken zijn niet bepaald voor flowcytometrie.
9. Weefsels van personen die zijn geïnfecteerd met het hepatitis B-virus en die hepatitis B-oppervlakteantigeen (HBsAg) bevatten, kunnen niet-specificke kleuring vertonen met mierikwortelperoxidase.¹⁵
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 biologische variabiliteit van antigenexpressie in neoplasmata of andere pathologische weefsels.¹⁶ 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 van dezelfde dierlijke bron als secundaire antisera die in blokkeerstappen worden gebruikt, kunnen fout-negatieve of fout-positieve resultaten veroorzaken als gevolg van auto-antilichamen of natuurlijke antilichamen.
12. Vals-positieve resultaten kunnen optreden als gevolg van niet-immunologische binding van eiwitten of substraatreactieproducten. Ze kunnen ook worden veroorzaakt door pseudoperoxidase-activiteit (erytrocyten), endogene peroxidase-activiteit (cytochrome C) of endogene biotine (bijv. lever, borst, hersenen, nier), afhankelijk van het type immunokleuring dat wordt gebruikt.¹⁴
13. Een negatief resultaat betekent dat het antigeen niet werd gedetecteerd, niet dat het antigeen afwezig was in de onderzochte cellen of weefsels.

Productspecifieke beperkingen:

Geen aanvullende productspecifieke beperkingen.

Prestatiekenmerken:

Kleuring werd uitgevoerd met behulp van protocollen die in de antilichaamspecifieke gebruiksaanwijzing staan of zoals gespecificeerd. De sensitiviteit en specificiteit van kleuring werd geëvalueerd over een reeks normale en neoplastische weefseltypen die werden geëvalueerd 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 precisie waarbij verschillende reagenspartijen gedurende een langere periode werden getest met behulp van verschillende operators, analisten, reagenspartijen, weefselmonsters en apparatuur. De kleuring die werd verkregen voor elk geëvalueerd detectiereagens was consistent en werd uitgevoerd zoals verwacht.

Problemen oplossen:

1. Geen kleuring van objectglaasjes – Controleer of de juiste positieve controleweefsels, antilichamen en detectieproducten zijn gebruikt. Controleer op onvolledige of onjuiste wasverwijdering of voorbehandeling.
2. Zwakke kleuring van alle objectglaasjes – Controleer of de juiste positieve controleweefsels, antilichamen 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),

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Dutch

BIOCARE
M E D I C A L

- of overmatige niet-specifieke eiwitinteractie (gebruik een blokkeren, zoals een op serum of caseïne gebaseerde blokkingsoplossing).
- 4. Weefselcoupes worden tijdens de incubatie van de objectglaasjes afgewassen – 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 antilichaamtiters op het objectglasje is aangebracht, evenals de juiste incubatietijden 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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
15. 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.
16. Herman GE and Elfant EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Bulgarian

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Употреба по предназначение:

За *in vitro* диагностична употреба

Универсалният AP полимерен комплект MACH 4 е предназначен за използване в протоколи за ръчно или автоматизирано имунохистохимично (IHC) оцветяване, като се използва метод на едно- или двуетапно приложение на полимер на алкална фосфатаза (AP). Този комплект за откриване на микрополимер е предназначен за откриване на миши IgG и IgM, и/или заешки IgG първични антитела, свързани с таргетните 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:

MACH 4 Universal AP Polymer Kit е проектиран с помощта на едноетапен или двуетапен метод за откриване на миши и/или заешки първични антитела за образуване на антитяло-ензимен комплекс. След това този комплекс се визуализира с помощта на подходящ субстрат/хромоген. При едноетапния метод се прилага вторично антитяло, директно свързано с микрополимера, докато при двуетапния метод вторичното антитяло е небелязано и последователно се прилага допълнителен ензимно свързан полимерен белязан реагент. Двустепният метод е предназначен да усли отриването в случаи на ниско експресиращи антигени. Обхванат от един или повече от следните US Pat. 6,686,461; 6,800,728; 7,102,024; 7,173,125; 7,462,689.

Принцип на процедурата:

Този комплект за откриване на микрополимер може да се използва при имунохистохимични тестове на фиксирани във формалин, вградени в парафин тъкани 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/сонда), ензимен комплекс и хромогенен субстрат с върхнати стъпки на промиване. Ензимното активиране на хромогена води до видим реакционен продукт на мястото на антигена. След това образецът може да бъде насрещно оцветен и покрит с капак. 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
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536L	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

Разтваряне, смесване, разреждане, титруване:

Реагентът(ите) на комплекта за откриване на микрополимер са оптимизирани и готови 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)

Видова реактивност:

Миши и заешки IgG тежки и леки вериги

Доставя се като:

Универсална AP сонда MACH 4 – UP536

Буфериран физиологичен разтвор, pH 7,2-7,4, съдържащ протеинов носител и по-малко от 0,1% консервант натриев азид. Вижте Информационния лист за безопасност за допълнителни подробности.

MACH 4 Универсален AP полимер – MRAP536

Буфериран физиологичен разтвор, pH 7,6-7,8, 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 материали и реагенти, които не са осигурени:

Предметни стъклца за микроскоп, положително заредени

Положителни и отрицателни тъканни контроли

Пустинна камера* или подобна Сушилна пещ (по избор)

Кислен или заместител на кислен

Етанол или реагентен алкохол

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

Дейонизирана или дестилирана вода

Буфер за промиване*

Реагенти за предварителна обработка* (по избор)

Ензимно смилане* (по избор)

Пероксидазен блок* (по избор)

Протеинов блок* (по избор)

Първично антитяло*

Реагенти за отрицателна контрола*

Хромогени*

Хематоксилин* (противоцветяване)

*

Монтажна среда*

Покривно стъкло

Светлинен микроскоп (40-400X увеличение)

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

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Bulgarian

BIOCARE
MEDICAL

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.

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 лабораторийните процедури и се подозира проблем с антитялото, 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:

Тъкани, фиксиирани във формалин, са подходящи за използване преди вграждане 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 острите на микротома.^{1,2}

Правилно фиксиирани 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 топлинно индуцирано извлечане на епитоп (HIER) съгласно препоръчания протокол по-долу. Доказано е, че рутинното използване на HIER преди ИНС минимизира несъответствието и стандартизира оцветяването.^{4,5}

Предупреждения и предпазни мерки:

- Комплектът реагент(и) съдържа по-малко от 0,1% натриев азид. Концентрации под 0,1% не са опасни материали, които не подлежат на докладване, съгласно US 29 CFR 1910.1200, съобщение за опасност на OSHA и Директива 91/155/ЕС на ЕО. Натриевият азид (NaN₃), използван като консервант, е токсичен при погълщане. Натриевият азид може да реагира с оловни и медни водопроводи, за да образува силно експлозивни метални азиди. При изхвърляне, изплакнете с големи количества вода, за да предотвратите натрупването на азид във водопроводната инсталация. (Центръл за контрол на заболяванията, 1976 г., Национален институт по безопасност и здраве при работа, 1976 г.).⁶
- Комплектът реагенти съдържа по-малко от 0,05% ProClin 300 и/или по-малко от 1% ProClin 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.^{7,8}
- Пробите преди и след фиксиране и всички материали, изложени на тях, трябва да се третират така, сякаш могат да пренесат инфекция, и да се изхвърлят с подходящи предпазни мерки. Никога не пипетирайте реагенти с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реагенти

и преби. Ако реактиви или преби влязат в контакт с чувствителни зони, измийте ги с обилно количество вода.⁹

- 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 потвърди всяка такава промяна.
- Не използвайте реагент след срока на годност, отпечатан върху флакона.
- 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 препоръчителните протоколи и условия за употреба.
- Следвайте изискванията на местните и/или държавните органи за метода на изхвърляне.
- ИЛБ е достъпен при поискване и се намира на <http://biocare.net>.
- Докладвайте за всякакви сериозни инциденти, свързани с това устройство, като се свържете с местния представител на Biocare и съответния компетентен орган на държавата членка или държавата, в която се намира потребителят.

Този комплект за откриване на микрополимер съдържа компоненти, класифицирани както е посочено в таблицата по-долу в съответствие с Регламент (EO) № 1272/2008.

Опасност	Code	Изявление за опасност
	H317	Може да причини алергична кожна реакция.
N/A	H402 H412	Вреден за водните организми. Вреден за водните организми с дълготраен ефект.

Инструкции за употреба:

Реагентите на комплекта за откриване на микрополимер са оптимизирани и готови за употреба с антитела на Biocare и спомагателни реагенти. Обърнете се към инструкциите за първично антитяло и други спомагателни реагенти за употреба за препоръчителните протоколи и условия за употреба. Времената и температурите на инкубация ще варират в зависимост от следния 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 ИНС:

- Депарафинизация: Депарафинизирайте предметните стъклца в Slide Brite или ксилен. Хидратът се пълзга в серия градирани алкохоли до вода.
- Пероксиден блок (по избор): Блокирайте за 5 минути с Peroxidized 1.
- Разтвор/протокол за предварителна обработка: Моля, вижте съответния лист с данни за първично антитяло за препоръчания разтвор и протокол за предварителна обработка.
- Протеинов блок (по избор): Инкубирайте за 5-10 минути при стайна температура (RT) с Background Punisher.
- Първично антитяло: Моля, вижте съответния лист с данни за първично антитяло за времето на инкубация.
- Сонда (само миши антитела): Инкубирайте за 5-15 минути при стайна температура с MACH 4 Universal AP сонда.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Bulgarian

BIOCARE
MEDICAL

7. Полимер: Инкубирайте за 10-20 минути за миши антитела или 30 минути за заешки антитела при RT с MACH 4 MR AP полимер.
8. Хромоген: Инкубирайте за 5 минути при RT с Warp Red.
9. Контраоцветяване: Контраоцветяване с хематоксилин. Изплакнете с дейонизирана вода. Нанесете Tacha's Bluing Solution за 1 минута. Изплакнете с дейонизирана вода.

Технически бележки:

1. Използвайте TBS само за стъпките на измиване. PBS промивните буфери ще инхибират оцветяването с алкална фосфатаза.
2. Не използвайте кози serum като протеинов блок. Не използвайте Background Eraser или Background Terminator.

Контрол на качеството:

Обърнете се към стандартите за качество на CLSI за проектиране и прилагане на имуноистохимични анализи; Одобрено ръководство – второ издание (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA САЩ (www.clsi.org). 2011¹⁰

Положителна тъканна контрола:

Материалите за външна положителна контрола трябва да бъдат пресни пробы, фиксираны, обработени и вградени възможно най-скоро по същия начин, както пробата(ите) на пациента. Положителните тъкани контроли са показателни за правилно подгответи 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 пробы 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 във върховската мрежа предметни стъкла за контрол на тъкани или пробы, 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 пробы от пациенти. Ако положителните тъканни контроли не успеят да покажат положително оцветяване, резултатите с тестовите пробы трябва да се считат за невалидни.

Отрицателна тъканна контрола:

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 пробы, 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 пробите на пациента трябва да се считат за невалидни.

Неспецифична отрицателна контрола с реагент:

Използвайте неспецифична отрицателна контрола с реагент на мястото на първичното антитяло с разрез от всяка прока от пациент, за да оцените неспецифичното оцветяване и да позволите по-добро тълкуване на специфичното оцветяване на мястото на антигена. В идеалния случай отрицателната реактивна контрола съдържа произведено и приготвено антитяло (т.е. разредено до същата концентрация с помощта на същия разредител) за използване 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-малка 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 пациенти могат да бъдат оцветени изключително със субстрат-хромоген или ензимни комплекси (PARP, авидин-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 серия от вътрешни тъкани с известни имуноистохимични характеристики на ефективност, представляващи 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 CAP¹¹ за имуноистохимия и/или насоките на NCCLS IHC¹². 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:

MACH 4 Universal AP Polymer Kit произвежда реакция с червен цвят на 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 тъкани контроли не успеят да покажат положително оцветяване, всички резултати с тестовите пробы трябва да се считат за невалидни.

Цветът на реакционния продукт може да варира в зависимост от използваните субстратни хромогени. Вижте листовките на опаковката

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Bulgarian

BIOCARE
MEDICAL

на субстрата за очакваните цветни реакции. Освен това метахромазията може да се наблюдава при вариации на метода на оцветяване.¹³ Когато се използва насрещно оцветяване, в зависимост от продължителността на инкубацията и силата на използваното противоцветяване, противоцветяването ще доведе до оцветяване на клетчните ядра. Прекомерното или непълно контрастно оцветяване може да компрометира правилното тълкуване на резултатите. Обърнете се към протокола(ите) за препоръченото контраоцветяване.

Отрицателна тъканна контрола:

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

Неспецифичното оцветяване, ако е налице, обикновено има дифузен вид. Спорадично оцветяване на съединителната тъкан може да се наблюдава и в срезове от прекомерно фиксирана формалин тъкан. 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 антитело последно. Положителният интензитет на оцветяване трябва да се оценява в контекста на всяко неспецифично фоново оцветяване на отрицателната контрола с реагент. Както при всеки имунохистохимичен тест, отрицателният резултат означава, че антителът не е открит, а не че антителът 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 *in vitro* диагностика (IVD)
- 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 IHC слайда; и интерпретация на резултатите от оцветяването.
- За употреба само по лекарско предписание. (Само Rx)
- Оцветяването на тъканта зависи от манипулирането и обработката на тъканта 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.¹⁴
- Прекомерното или непълно контраоцветяване може да компрометира правилната интерпретация 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 IHC антитела, реагенти и методи, е да интерпретира всички стъпки, използвани за подготовка и тълкуване на крайния IHC 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 антитело, дебелина на тъканния участък и използван комплект за откриване. Обърнете се към инструкциите за първично антитело и други спомагателни реагенти за употреба за препоръчилите 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 антителен на хепатит B (HBsAg), могат да показват неспецифично оцветяване с пероксидаза от хрян.¹⁵
- 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 антителен в неоплазми или други патологични тъкани.¹⁶ Съвръжете се с техническата поддръжка на Biocare на 1-800-542-2002 или чрез информацията за техническа поддръжка, предоставена на biocare.net, с документирани неочеквани реакции.
- Нормалните/неимунни 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 имуноцветяване.¹⁴
- Отрицателен резултат означава, че антителът не е открит, а не че антителът липсва в изследваните клетки или тъкан.

Специфични за продукта ограничения:

Няма допълнителни специфични за продукта ограничения.

Характеристики на ефективност:

Оцветяването се извършва с помощта на 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 международна прецизност, при което различни партиди реагенти са тествани за продължителен период от време с помощта на различни оператори, анализатори, партиди реагенти, тъканни преби и оборудване. Оцветяването, получено за

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Bulgarian

BIOCARE
M E D I C A L

всеки оценен реагент за откриване, беше последователно и извършено според очакванията.

Отстраняване на неизправности:

1. 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.
2. Слабо оцветяване на всички предметни стъкла – Проверете, за да определите, че са използвани подходящи тъкани за положителна контрола, антитела и продукти за откриване.
3. 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).
4. Тъканните срезове се измиват от предметните стъкла по време на инкубацията – Проверете предметните стъкла, за да се уверите, че са положително заредени.
5. Специфично оцветяване е твърде 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 отстраният излишните реагенти след приключване на стъпките на инкубация.

Литература:

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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.

15. 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.
16. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Croatian

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Namjena:

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu

MACH 4 Universal AP Polymer Kit namijenjen je za upotrebu u protokolima ručnog ili automatiziranog imunohistokemijskog (IHC) bojenja koristeći metodu primjene polimera alkalne fosfataze (AP) u jednom ili dva koraka. Ovaj komplet za detekciju mikropolimera dizajniran je za detekciju mišjih IgG i IgM, i/ili IgG kunića primarnih antitijela vezanih za ciljne antigene u tkivima fiksiranim u formalinu, umetnutim u parafin (FFPE) tijekom IHC procesa 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 pacijentove kliničke povijesti i drugih dijagnostičkih testova.

Sažetak i objašnjenje:

MACH 4 Universal AP Polymer Kit dizajniran je korištenjem metode u jednom ili dva koraka za otkrivanje primarnih antitijela miša i/ili kunića kako bi se formirao kompleks antitijelo-enzim. Ovaj kompleks se zatim vizualizira pomoću odgovarajućeg supstrata/kromogena. U metodi u jednom koraku primjenjuje se sekundarno antitijelo izravno povezano s mikropolimerom, dok je u metodi u dva koraka sekundarno antitijelo neobilježeno, a dodatni reagens označen enzimom vezanim polimerom primjenjuje se uzastopno. Metoda u dva koraka osmišljena je za pojačavanje detekcije u slučajevima niske ekspresije antigena. Pokriveno jednim ili više sljedećih američkih patentima br. br. 6,686,461; 6,800,728; 7,102,024; 7,173,125; 7,462,689.

Načelo postupka:

Ovaj pribor za otkrivanje mikropolimera može se koristiti u imunohistokemijskom testiranju isječaka tkiva fiksiranih u formalinu i 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 produktom reakcije na mjestu antigena. Uzorak se zatim može obojiti i prekriti. Rezultati se tumače pomoću svjetla mikroskop i pomoći u diferencijalnoj dijagnozi patofizioloških procesa, koji mogu ili ne moraju biti povezani s određenim antigenom.

Materijali i metode:

reagensi:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

rekonstitucija, miješanje, razrjeđivanje, titracija:

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

Poznate primjene:

Imunohistokemija (tkiva umetnuta u parafin fiksirana u formalinu)

Reaktivnost vrste:

mišji i zečji IgG teški i laki lanci

Isporučuje se kao:

MACH 4 univerzalna AP sonda – UP536

Puferirana fiziološka otopina, pH 7,2-7,4, koja sadrži proteinski nosač i manje od 0,1% konzervansa natrijevog azida. Pogledajte Sigurnosno-tehnički list za dodatne pojedinosti.

MACH 4 univerzalni AP polimer – MRAP536

Puferirana fiziološka otopina, pH 7,6-7,8, 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

Pozitivna i negativna kontrola tkiva

Pustinjska komora* ili slična Pećnica za sušenje (po izboru)

Ksilén ili zamjena

Etanol ili reagens alkohol

Komora za skidanje maske* ili sličan ekspres lonac (po izboru)

Deionizirana ili destilirana voda

Pufer za ispiranje*

Reagensi za prethodnu obradu* (izborni)

Enzimska probava* (izborni)

Blok peroksidaze* (izborni)

Blok proteina* (izborni)

Primarno antitijelo*

Reagensi negativne kontrole*

Kromogen*

Hematoksilin* (suprotno bojenje)

Reagens

* Medij

za modrenje

svjetlosni mikroskop (40-400X povećanje)

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

Čuvanje i stabilnost:

Cuvati na 2°C do 8°C. Proizvod je stabilan do isteka roka valjanosti otisnutog na naljepnicu 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 spremen za upotrebu i ne smije se razrjeđivati. Biocare nije utvrđio stabilnost korisničkog razrijedjenog reagensa.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Croatian

BIOCARE
MEDICAL

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, обратите se Biocarevoj 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}

Ispravno fiksirana i ugrađena tkiva koja eksprimiraju specificirani 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 zadržati obojena stakalca najmanje deset godina od datuma ispitivanja i čuvati blokove uzoraka najmanje dvije godine od datuma ispitivanja.”³

Obrada tkiva prije bojenja:

Izvedite 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(a) sadrži manje od 0,1% natrijevog azida. Koncentracije manje od 0,1% nisu opasni materijali koji se ne mogu prijaviti prema US 29 CFR 1910.1200, OSHA obavijesti o opasnosti i EC Direktivi 91/155/EC. Natrijev azid (NaN₃) koji se koristi kao konzervans je otrovan ako se proguta. Natrijev azid može reagirati s olovnim i bakrenim vodovodnim instalacijama stvarajući vrlo eksplozivne metalne azide. Nakon odlaganja, isperite velikom količinom vode kako biste spriječili nakupljanje azida u vodovodu. (Centar za kontrolu bolesti, 1976., Nacionalni institut za sigurnost i zdravlje na radu, 1976.).⁶
2. Komplet reagensa sadrži manje od 0,05% ProClin 300 i/ili manje od 1% ProClin 950. Nosite rukavice i zaštitnu odjeću i poduzmite razumne mjere opreza pri rukovanju jer je ProClin klasificiran kao nadražujući i može izazvati preosjetljivost u kontaktu s kožom. Izbjegavajte kontakt s očima, kožom i sluznicom.
3. Rukujte materijalima ljudskog ili životinjskog podrijetla kao potencijalno biološki opasnim i odlažite takve materijale uz odgovarajuće mjere opreza. U slučaju izlaganja, slijedite zdravstvene upute nadležnih tijela gdje se upotrebljava.^{7,8}
4. S uzorcima, prije i nakon fiksacije, i svim materijalima koji su im bili izloženi treba postupati 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.⁹
5. Mikrobra kontaminacija reagensa može rezultirati povećanjem nespecifičnog bojenja.
6. Vremena inkubacije ili temperature koje nisu navedene mogu dati pogrešne rezultate. Korisnik mora potvrditi svaku takvu promjenu.
7. Nemojte koristiti reagens nakon isteka roka valjanosti otisnutog na bočici.
8. 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.
9. Slijedite zahtjeve lokalnih i/ili državnih vlasti za način zbrinjavanja.
10. STL je dostupan na zahtjev i nalazi se na <http://biocare.net>.
11. 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.

Ovaj komplet za otkrivanje mikropolimera sadrži komponente klasificirane kako je navedeno u donjoj tablici u skladu s Uredbom (EZ) br. 1272/2008.

Opasnost	Code	Oznaka opasnosti
	H317	Može izazvati alergijsku reakciju kože.
N/A	H402 H412	Štetno za vodene organizme. Štetno za vodene organizme s dugotrajnim učincima.

Upute za upotrebu:

Reagensi 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. Blokiranje peroksida (izborni): Blokirajte 5 minuta s Peroxidized 1.
3. Otopina/protokol predtretmana: Pogledajte odgovarajući list s podacima o primarnim antitijelima za preporučenu otopinu i protokol predtretmana.
4. Proteinski blok (izborni): Inkubirajte 5-10 minuta na sobnoj temperaturi (RT) s Background Punisher.
5. Primarno protutijelo: Molimo pogledajte odgovarajući list s podacima o primarnim protutijelima za vrijeme inkubacije.
6. Sonda (samo antitijela miša): Inkubirajte 5-15 minuta na sobnoj temperaturi s MACH 4 univerzalnom AP sondom.
7. Polimer: Inkubirajte 10-20 minuta za mišja protutijela ili 30 minuta za zečja protutijela na sobnoj temperaturi s MACH 4 MR AP polimerom.
8. Kromogen: Inkubirajte 5 minuta na sobnoj temperaturi s Warp Red.
9. Kontrabojenje: Kontrabojenje hematoksilinom. Isprati deioniziranom vodom. Nanesite Tachinu Bluing otopinu na 1 minutu. Isprati deioniziranom vodom.

Tehničke napomene:

1. Koristite TBS samo za korake pranja. PBS puferi za ispiranje će inhibirati bojenje alkalnom fosfatazom.
2. Nemojte koristiti kozji serum kao proteinski blok. Nemojte koristiti Background Eraser ili Background Terminator.

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). 2011¹⁰

Pozitivna kontrola tkiva:

Materijali za vanjsku pozitivnu kontrolu trebaju biti svježi uzorci fiksirani, obrađeni i ugrađeni što je prije moguće na isti način kao i uzorci pacijenta. 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.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Croatian

BIOCARE
M E D I C A L

Tkiva koja se koriste za materijale za vanjsku pozitivnu kontrolu trebaju se odabratiz uzoraka pacijenata s dobro karakteriziranim niskim razinama pozitivne 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 formuliranju specifične dijagnoze uzorka pacijenata. Ako pozitivne kontrole tkiva ne pokažu pozitivno bojenje, rezultate testnih uzorka treba smatrati nevažećima.

Negativna kontrola tkiva:

Koristite negativnu kontrolu tkiva fiksiranu, obrađenu i ugrađenu na način identičan uzorcima pacijenta sa svakim bojenjem kako biste potvrdili specifičnost IHC primarnog antitijela za demonstracija 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 odjelu 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 antitijela s dijelom svakog pacijentovog uzorka kako biste procijenili nespecifično bojenje i omogućili bolje tumačenje specifičnog bojenja na mjestu antigaena. Idealno, negativna kontrola reagensa sadrži proizvedeno i pripremljeno protutijelo (tj. razrijeđeno na istu koncentraciju pomoću 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 enzymskim kompleksima (PAP, avidin-biotin, streptavidin) odnosno supstrat-kromogenom.

Provjera analize:

Prije početne upotrebe antitijela ili sustava bojenja u dijagnostičkom postupku, korisnik bi trebao potvrditi specifičnost antitijela testiranjem na nizu domaćih tkiva s poznatim karakteristikama imunohistokemijske učinkovitosti koja predstavljaju poznata pozitivna i negativna tkiva. Pogledajte postupke kontrole kvalitete prethodno navedene u ovom odjelu uputa o proizvodu i preporuke za kontrolu kvalitete CAP programa certifikacije¹¹ za imunohistokemijsku i/ili NCCLS IHC smjernicu¹². Ove postupke kontrole kvalitete treba ponoviti za svaku novu seriju antitijela ili kad god dođe do promjene parametara testa. Tkiva navedena u odjelu 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:

MACH 4 Universal AP Polymer Kit proizvodi reakciju crvene boje na antigenskim mjestima lokaliziranim primarnim antitijelom. 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.¹³ Kada se koristi protubojenje, ovisno o duljini inkubacije i jačini korištenog protubojanja, suprotno bojenje će rezultirati obojenjem staničnih jezgr. Pretjerano ili nepotpuno kontrastno bojenje može ugroziti pravilno tumačenje rezultata. Pogledajte protokol(e) za preporučeno kontrastno bojenje.

Negativna kontrola tkiva:

Negativnu kontrolu tkiva treba ispitati nakon pozitivne kontrole tkiva kako bi se potvrdila specifičnost označavanja ciljnog antigaena primarnim antitijelom. 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:

Pogledajte 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. Za *u in vitro* dijagnostici (IVD)
2. Ovaj proizvod je samo za profesionalnu upotrebu: Imunohistokemija je dijagnostički proces u više koraka koji se sastoji od specijalizirane obuke u odabiru odgovarajućih reagensa; selekcija, fiksacija i obrada tkiva; priprema IHC stakalca; i interpretacija rezultata bojenja.

17/114



TP v2 (02/09/2023)

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Croatian

BIOCARE
M E D I C A L

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.¹⁴
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 upotrebljom 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, debljinu 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 upotrebni 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 peroksidazom hrena.¹⁵
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 antigena u novotvorinama, odnosno drugim patološkim tkivima.¹⁶ Obratite se Biocare tehničkoj podršci na 1-800-542-2002, ili putem informacija o tehničkoj podršci na biocare.net, s dokumentiranim neočekivanom reakcijom(ama).
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. Oni također mogu biti uzrokovani aktivnošću pseudo peroksidaze (eritrociti), endogenom aktivnošću peroksidaze (citokrom C) ili endogenim biotinom (npr. jetra, dojka, mozik, bubreg) ovisno o vrsti korištenog imunološkog bojenja.¹⁴
13. Negativan rezultat znači da antigen nije detektiran, a ne da antigen nije bio prisutan u ispitivanim stanicama ili tkivu.

Ograničenja specifična za proizvod:

Nema dodatnih ograničenja za specifičan proizvod.

Izvedbene karakteristike:

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 za otkrivanje 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, uzoraka 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 stakalaca – Provjerite jesu li korištena odgovarajuća pozitivna kontrola tkiva, antitijela i proizvoda za otkrivanje.
3. Prevrelaka pozadina svih stakalaca – Mogu postojati visoke razine endogenog biotina (ako se koriste proizvodi za detekciju na bazi biotina), endogena HRP aktivnost koja pretvara kromogen u obojeni krajnji 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.

Literatura:

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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
15. 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.
16. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Czech

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Zamýšlené použití:

Pro *in vitro* diagnostické použití

Sada MACH 4 Universal AP Polymer Kit je určena pro použití v manuálních nebo automatických imunohistochemických (IHC) protokolech barvení pomocí jedno- nebo dvoustupňové aplikací polymeru alkalické fosfatázy (AP). Tato mikropolymerová detekční souprava je navržena pro detekci myších IgG a IgM a/nebo králičích primárních protilátek IgG navázaných na cílové antigeny ve formaliném fixovaných tkáních zalytých v parafínu (FFPE) během procesu barvení IHC. Klinická interpretace jakéhokoli zabarvení 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:

Sada MACH 4 Universal AP Polymer Kit je navržena pomocí jednokrokové nebo dvoukrokové metody pro detekci myších a/nebo králičích primárních protilátek za vzniku komplexu protilátko-enzym. Tento komplex je poté vizualizován pomocí vhodného substrátu/chromogenu. V jednokrokové metodě se aplikuje sekundární protilátku přímo navázanou na mikropolymer, zatímco ve dvoukrokové metodě je sekundární protilátku neznačená a následně se aplikuje další činidlo značené s enzymem navázaným polymerem. Dvoustupňová metoda je navržena pro zesílení detekce v případech málo exprimujících antigenů. Pokryté jedním nebo více z následujících US pat. č. 6,686,461; 6,800,728; 7,102,024; 7,173,125; 7,462,689.

Princip postupu:

Tuto mikropolymerovou detekční soupravu lze použít při imunohistochemickém testování tkáňových řezů fixovaných ve formalinu a zalytých 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 protilátku (volitelná vazba protilátko/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 kryt nasunut. Výsledky jsou interpretovány pomocí světla mikroskop a pomůcka při diferenciální diagnostice patofyziologických procesů, které mohou popř nemusí být spojen s konkrétním antigenem.

Materiály a metody:

činidla:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

Rekonstituce, míchání, ředění, titrace:

Činidla soupravy pro detekci mikropolymerů jsou optimalizována a připravena k použití s protilátkami Biocare a pomocnými činidly. Není nutná žádná rekonstituce, míchání, ředění nebo titrace.

Známé aplikace:

Imunohistochemie (tkáně zalité v parafínu fixované ve formalíně)

Druhová reaktivita:

Myší a králičí IgG těžké a lehké řetězce

Dodáváno jako:

MACH 4 Universal AP Probe – UP536

Puťovaný fyziologický roztok, pH 7,2-7,4, obsahující proteinový nosič a méně než 0,1 % konzervačního prostředku azidu sodného. Další podrobnosti viz Bezpečnostní list.

MACH 4 Universal AP Polymer – MRAP536

Puťovaný fyziologický roztok, pH 7,6-7,8, 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.

Potřebný materiál a činidla, která nejsou součástí dodávky:

Mikroskopická sklíčka, kladně nabité

Pozitivní a negativní tkáňové kontroly

Pouštní komora* nebo podobná Sušící pec (volitelná)

Náhrada xylenu nebo xylenu

Ethanol nebo alkohol s reagenciami

Decloaking Chamber* nebo podobný tlakový hrnec (volitelně)

Deionizovaná nebo destilovaná voda

Promývací pufr*

Činidla pro předúpravu* (volitelně)

Enzymové štěpení* (volitelně)

Peroxidázový blok* (volitelně)

Proteinový blok* (volitelně)

Primární protilátká*

Negativní kontrolní činidla*

Chromogeny*

Hematoxylin* (kontrabarva)

Bluing činidlo*

Montážní médium*

Krycí

světelný mikroskop (40-400x zvětšení)

* Biocare Medical Products: Další 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 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 nařízeného činidla nebyla společností Biocare stanovena.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Czech

BIOCARE
MEDICAL

Positivní 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 protílátkou, 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 formalinu jsou vhodné pro použití před zalitím parafínem. Kostní tkáně by měly být před zpracováním tkáně odvápněny, aby se usnadnilo řezání tkáně a zabránilo se poškození čepelí mikrotomu.^{1,2}

Správně fixované a zapuštěné tkáně exprimující specifikovaný cílový antigen by měly být skladovány na chladném místě. Zákon o zlepšování klinických laboratoří (CLIA) z roku 1988 vyžaduje v 42 CFR §493.1259(b), že „Laboratoř 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 teplem indukované vyhledávání epitopu (HIER) podle doporučeného protokolu níže. Ukázalo se, že rutinní použití HIER před IHC minimalizuje nekonzistenci a standardizuje barvení.^{4,5}

Varování a bezpečnostní opatření:

- Činidla soupravy obsahují méně než 0,1 % azidu sodného. Koncentrace nižší než 0,1 % nejsou podle US 29 CFR 1910.1200, sdělení OSHA Hazard a směrnice EC 91/155/EC nebezpečnými materiály, které nelze hlásit. Azid sodný (NaN) používaný jako konzervační prostředek je při pozití toxicický. Azid sodný může reagovat s olověnem a měděným potrubím za vzniku vysoko výbušných azidů kovů. Po likvidaci vypláchněte velkým množstvím vody, abyste zabránili usazování azidů v potrubí. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶
- Činidla soupravy obsahují méně než 0,05 % ProClin 300 a/nebo méně než 1 % ProClin 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, kůži a sliznicemi.
- 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.^{7,8}
- Se vzorky před a po fixaci a se všemi materiály, které jim byly vystaveny, je třeba zacházet tak, jako by mohly přenášet infekci, a likvidovat je s náležitými opatřeními. Nikdy nepipetujte reagencie ústy a vynáhněte se kontaktu kůže a sliznic s reagenciemi a vzorky. Pokud se činidla nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody.⁹
- Mikrobiální kontaminace reagencí může vést ke zvýšení nespecifického zbarvení.
- Jiné než specifikované inkubační doby nebo teploty mohou vést k chybným výsledkům. Uživatel musí každou takovou změnu potvrdit.
- Nepoužívejte činidlo po uplynutí doby použitelnosti vytiskněné na lahvičce.
- Činidla mikropolymerové detekční soupravy jsou optimalizována a připravena k použití s protílatkami Biocare a pomocnými činidly. Doporučené protokoly a podmínky použití naleznete v pokynech k použití primární protílátky a dalších pomocných činidel.
- Dodržujte požadavky místních a/nebo státních úřadů na způsob likvidace.
- Bezpečnostní list je k dispozici na vyžádání a je umístěn na <http://biocare.net>.
- Oznamte jakékoli vážné incidenty související s tímto zařízením kontaktováním místního zástupce společnosti Biocare a příslušného úřadu českého státu nebo země, kde se uživatel nachází.

Tato mikropolymerová detekční souprava obsahuje složky klasifikované tak, jak je uvedeno v tabulce níže v souladu s Nařízením (ES) č. 1272/2008.

Nebezpečí	Code	Prohlášení o nebezpečnosti
	H317	Může vyvolat alergickou kožní reakci.
N/A	H402 H412	Škodlivý pro vodní život. Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky.

Návod k použití:

Reagencie mikropolymerové detekční soupravy jsou optimalizovány a připraveny k použití s protílatkami Biocare a pomocnými reagenciemi. Doporučené protokoly a podmínky použití naleznete v pokynech k použití primární protílátky a dalších pomocných činidel. Inkubační doba a teploty se budou lišit v závislosti na specifickém protokolu protílátek.

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:

- Deparafinizace: Deparafinizujte sklíčka pomocí Slide Brite nebo xylenu. Hydratujte sklíčka v sérii odstupňovaných alkoholů do vody.
- Peroxidový blok (volitelně): Blokujte 5 minut pomocí Peroxidized 1.
- Roztok/protokol pro předběžnou úpravu: Doporučený roztok a protokol pro předúpravu naleznete v příslušném datovém listu primární protílátky.
- Proteinový blok (volitelné): Inkubujte po dobu 5-10 minut při pokojové teplotě (RT) pomocí Background Punisher.
- Primární protílátka: Inkubační dobu naleznete v příslušném datovém listu primární protílátky.
- Sonda (pouze myší protílátky): Inkubujte 5-15 minut při teplotě místořídkosti s MACH 4 Universal AP Probe.
- Polymer: Inkubujte 10-20 minut pro myší protílátky nebo 30 minut pro králičí protílátky při teplotě místořídkosti s MACH 4 MR AP polymerem.
- Chromogen: Inkubujte 5 minut při teplotě místořídkosti s Warp Red.
- Kontrabarva: Kontrabarva hematoxylinem. Opláchněte deionizovanou vodou. Aplikujte Tacha's Blueing Solution na 1 minutu. Opláchněte deionizovanou vodou.

Technické poznámky:

- Používejte TBS pouze pro mycí kroky. Promývací pufry PBS budou inhibovat barvení alkalickou fosfatázou.
- Nepoužívejte koží sérum jako proteinový blok. Nepoužívejte Background Eraser nebo Background Terminator.

Kontrola kvality:

Viz standarty kvality CLSI pro návrh a implementaci imunohistochemických testů; Schválená směrnice – druhé vydání (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011¹⁰

Pozitivní tkáňová kontrola:

Materiály pro externí pozitivní kontrolu by měly být čerstvé vzorky fixované, zpracované a zalité co nejdříve stejným způsobem jako vzorek(y) pacienta. Pozitivní tkáňové kontroly ukazují na správně připravené tkáně 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 dobrě 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

Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

20/114



TP v2 (02/09/2023)

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

EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Czech

BIOCARE
MEDICAL

změn citlivosti primárních protilátek z nestability nebo problémů s IHC metodikou. Komerčně dostupná tkáňová kontrolní sklička 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 při každém cyklu barvení, abyste ověřili specificitu primární protilátky IHC pro prokázání cílového antigenu a poskytnutí indikace specifického zbarvení pozadí (falešně pozitivní zbarvení). Také může být rozmanitost různých typů buněk přítomných ve většině tkáňových řezů být používány laboratoři jako interní negativní kontrolní místa k ověření výkonu IHC Specifikace. Typy a zdroje vzorků, které lze použít pro negativní tkáně ovládací prvky jsou uvedeny v části Výkonové charakteristiky.

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

Nespecifická negativní reagenční kontrola:

Použijte nespecifickou negativní reagenční kontrolu místo primární protilátky s řezem každého vzorku pacienta, abyste vyhodnotili nespecifické zbarvení a umožnili lepší interpretaci specifického zbarvení v místě antigenu. V ideálním případě obsahuje negativní reagenční kontrola protilátku vyrobenou a připravenou (tj. naředěnou na stejnou koncentraci za použití stejného ředitla) pro použití stejným způsobem jako primární protilátku, ale nevykazuje žádnou specifickou reaktivitu s lidskými tkáněmi ve stejné matrici/roztoku jako protilátku Biocare. Samotné ředitlo 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 zbarvené oblasti jednoho sklička 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 zbarveny 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 CAP¹¹ pro imunohistochemii a/nebo směrnice NCCLS IHC¹². Tyto postupy kontroly kvality by se měly opakovat pro každou novou šarži protilátek nebo kdykoli dojde ke změně parametrů testu. Tkáně uvedené v části Výkonostní charakteristiky jsou vhodné pro ověření testu.

Odstraňování problémů:

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

Interpretace barvení:

Sada MACH 4 Universal AP Polymer Kit vytváří červenou barevnou reakci v místech antigenu lokalizovaných primární protilátkou. Před interpretací výsledků pacienta musí barvení kontrol vyhodnotit kvalifikovaný patolog. Negativní kontroly se vyhodnotí a porovnají s zbarvenými skličkami, aby se zajistilo, že jakékoli pozorované zbarvení není výsledkem nespecifických interakcí.

Pozitivní tkáňová kontrola:

Pozitivní tkáňová kontrola zbarvená indikovanou protilátkou by měla být nejprve vyšetřena, aby se zjistilo, že všechna činnila 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 najeznete v příbalových informacích substrátu. Dále může být ve variantách způsobu barvení pozorována metachromacie.¹³

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 specifita značení cílového antigenu primární protilátkou. Absence specifického zbarvení v negativní tkáňové kontrole potvrzuje nedostatek zkřížené reaktivity protilátek s buňkami/buněčnými složkami. Pokud se u negativní externí tkáňové kontroly objeví specifické zbarvení (falešně pozitivní zbarvení), 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 formalínem. Pro interpretaci výsledků barvení použijte neporušené buňky. Nekrotické nebo degenerované buňky se často barví nespecificky.

Pacientská tkání:

Prohlédněte si vzorky pacientů zbarvené indikovanou protilátkou poslední. Intenzita pozitivního zbarvení by měla být posouzena v kontextu jakéhokoli nespecifického zbarvení pozadí negativní kontroly reagencí. 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 najeznete v části Souhrn a vysvětlení, omezení a výkonostní charakteristiky.

Omezení:

Obecná omezení:

1. Pro *in vitro* (IVD)
2. Tento produkt je určen pouze pro profesionální použití: Imunohistochemie je vícekrokový diagnostický proces, který se skládá

21/114



TP v2 (02/09/2023)

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Czech

BIOCARE
M E D I C A L

ze specializovaného školení ve výběru vhodných činidel; výběr tkáně, fixace a zpracování; 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 falešné negativní výsledky. Nekonzistentní výsledky mohou být způsobeny odchylkami v metodách fixace a zalévání nebo přirozenými nepravidelnostmi v tkáni.¹⁴
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, činidel a metod, aby interpretoval všechny kroky použité k přípravě a interpretaci konečného IHC přípravku.
7. Optimální protokoly pro konkretní aplikaci se mohou lišit. Mezi ně patří mimo jiné fixace, metoda získávání tepla, inkubační doby, ředění protilátek, tloušťka řezu tkáně a použitá detekční souprava. Doporučené protokoly a podmínky použití najdete v pokynech k použití primární protilátky a dalších pomocných činidel. 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.¹⁵
10. Reagencie mohou vykazovat neočekávané reakce v dříve netestovaných tkáních. Možnost neočekávaných reakcí i u testovaných skupin tkání nelze zcela eliminovat z důvodu biologické variability exprese antigenu v novotvarech nebo jiných patologických tkáních.¹⁶ 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 stejného 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 imunobarviva.¹⁴
13. Negativní výsledek znamená, že antigen nebyl detekován, nikoli že antigen ve vyšetřovaných buňkách nebo tkáni chyběl.

Specifická omezení produktu:

Žádná další specifická omezení produktu.

Výkonnostní charakteristiky:

Barvení bylo provedeno pomocí protokolů poskytnutých v návodu k použití specifickém 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 šárzy reagencí testovány po delší dobu pomocí různých operátorů, analytiků, šárzy reagencí, vzorků tkání a vybavení. Barvení získané pro každé hodnocené detekční činidlo bylo konzistentní a provedlo se podle očekávání.

Odstaňování problémů:

1. Žádné zabarvení sklíček – Zkontrolujte, zda byla použita vhodná tkáň pro pozitivní kontrolu, protilátku a detekční produkty. Zkontrolujte neúplné nebo nesprávné odstranění vosku nebo předupravu.
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 sklíčku 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.

Literatura:

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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
15. 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.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

22/114



TP v2 (02/09/2023)

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

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

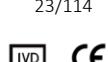
Czech

BIOCARE
M E D I C A L

16. 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

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



CE

TP v2 (02/09/2023)

 EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

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

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Danish

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Tiltænkt brug:

Til *in vitro* diagnostisk brug

MACH 4 Universal AP Polymer Kit er beregnet til brug i enten manuel eller automatiseret immunhistokemi (IHC) farvningsprotokoller ved brug af en alkalisk fosfatase (AP) polymer et- eller to-trins påføringsmetode. Dette mikropolymerdetektionskit er designet til påvisning af muse-IgG- og IgM- og/eller kanin-IgG-primære antistoffer bundet til målantigener i det formalinfikserede, paraffinindlejrede (FFPE) væv under IHC-farvningsprocessen. Den kliniske fortolkning af enhver farvning eller dens fravaer bør suppleres med morfologiske undersøgelser og korrekte kontroller og bør evalueres i sammenhæng med patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests af en kvalificeret patolog.

Sammenfatning og forklaring:

MACH 4 Universal AP Polymer Kit er designet ved hjælp af en et-trins eller to-trins metode til påvisning af primære antistoffer fra mus og/eller kaniner til dannelsen af et antistof-enzymkompleks. Dette kompleks visualiseres derefter under anvendelse af et passende substrat/kromogen. I et-trinsmetoden påføres et sekundært antistof direkte forbundet med mikropolymeren, mens det sekundære antistof i totrinsmetoden er umærket, og et yderligere enzymbundet polymermæret reagens påføres sekventielt. Totrinsmetoden er designet til at amplificere påvisningen i tilfælde af lavt udtrykkende antigener. Omfattet af et eller flere af følgende US Pat. nr. 6.686.461; 6.800.728; 7.102.024; 7.173.125; 7.462.689.

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 specifikt 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 dækslet glides. 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
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

rekonstitution, blanding, fortynding, titrering:

Mikropolymerdetektionsreagenserne er optimeret og klar til brug med Biocare-antistoffer og hjælperæagenser. Ingen rekonstitution, blanding, fortynding eller titrering er påkrævet.

Kendte anvendelser:

Immunhistokemi (formalinfixeret paraffin-indlejret væv)

Artsreakтивitet:

Mus og kanin IgG tunge og lette kæder

Leveres som:

MACH 4 Universal AP-sonde – UP536

Bufret saltvandsoplosning, pH 7,2-7,4, indeholdende en proteinbærer og mindre end 0,1 % natriumazidkonserveringsmiddel. Se sikkerhedsdatabladet for yderligere detaljer.

MACH 4 Universal AP Polymer – MRAP536

Bufret saltvandsoplosning, pH 7,6-7,8, 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 materialer og reagenser, men medfølger ikke:

Objektglas, positivt ladede

Positive og negative vævskontroller

Desert Chamber* eller lignende Tørreovn (valgfrit)

Xylen eller

Ethanol eller reagens alkohol

Decloaking Chamber* eller lignende trykkoger (valgfrit)

Deioniseret eller destilleret vand

Vaskebuffer*

Forbehandlingsreagenser* (valgfrit)

Enzymfordøjelse* (valgfrit)

Peroxidaseblok* (valgfrit)

Proteinblok* (valgfrit)

Primært antistof*

Negative kontrolreagenser*

Kromogener*

* (modfarvning)

Blåningsreagens*

Monteringsmedium*

Dækglaslysmikroskop

Hæmatoxylin(40-400X forstørrelse)

* Biocare Medical Products: Se Biocare Medicals websted på <http://biocare.net> for yderligere information 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 hætteglasletiketten, 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 brugerfortyndet reagens er ikke blevet fastslået af Biocare.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Danish

BIOCARE
MEDICAL

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 vævsskæring og forhindre beskadigelse af mikrotomblade.^{1,2}

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 anbefalet protokol nedenfor. Den rutinemæssige brug af HIER før IHC har vist sig at minimere inkonsistens og standardisere farvning.^{4,5}

Advarsel og forholdsregler:

- Kit-reagens(er) indeholder mindre end 0,1 % natriumazid. Koncentrationer mindre end 0,1 % er ikke rapporterbare farlige materialer i henhold til US 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication og EC-direktiv 91/155/EC. Natriumazid (NaN₃) brugt som konserveringsmiddel er giftigt, hvis det indtages. Natriumazid kan reagere med bly- og kobberrør og danne højeksplosive metalazider. Efter bortskaftelse skyldes med store mængder vand for at forhindre ophobning af azid i rørledninger. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶.
- Kit-reagenser indeholder mindre end 0,05 % ProClin 300 og/eller mindre end 1 % ProClin 950. Bær handsker og beskyttelsestøj og tag rimelige forholdsregler ved håndtering, da ProClin er klassificeret som irriterende og kan forårsage sensibilisering ved hudkontakt. Undgå kontakt med øjne, hud og slimhinder.
- Håndter materialer af menneskelig eller animalsk oprindelse som potentielt biofarlige og bortskaft sådanne materialer med passende forholdsregler. I tilfælde af eksponering, følg sundhedsdirektiverne fra de ansvarlige myndigheder, hvor det anvendes.^{7,8}
- 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 bortskaftes med passende forholdsregler. Pipettér aldrig reagenser gennem munnen, 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.⁹
- Mikrobiel kontaminering af reagenser kan resultere i en stigning i uspecifik farvning.
- Andre inkubationstider eller temperaturer end de specifiserede kan give fejlagtige resultater. Bruger skal validere enhver sådan ændring.
- Brug ikke reagens efter den udløbsdato, der er trykt på hætteglasset.
- Mikropolymerdetektionsreagenserne er optimeret og klar til brug med Biocare-antistoffer og hjælpereagenser. Se instruktionerne til det primære antistof og andre hjælpereagenser til brug for anbefaede protokoller og betingelser for brug.
- Følg lokale og/eller statslige myndigheders krav til bortskaftesmetode.
- SDS er tilgængeligt efter anmodning og findes 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.

Dette mikropolymerdetektionskit indeholder komponenter, der er klassificeret som angivet i tabellen nedenfor i overensstemmelse med forordning (EF) nr. 1272/2008.

Fare	Code	Faresætning
	H317	Kan forårsage en allergisk hudreaktion.
N/A	H402 H412	Skadelig for vandlevende organismer. Skadelig for vandlevende organismer med langvarige virknings.

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 anbefaede protokoller og betingelser for brug. Inkubationstider og temperaturer vil variere afhængigt af den specifikke antistofprotokol, der følges.

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

Generelle proceduretrin for udførelse af IHC:

- Afparaffinering: Afparaffinér objektglas i Slide Brite eller xylen. Hydrat objektglas i en række graderede alkoholer til vand.
- Peroxidzblok (valgfrit): Bloker i 5 minutter med Peroxidized 1.
- Forbehandlingsoplosning/-protokol: Se venligst det respektive primære antistofdatablad for anbefalet forbehandlingsoplosning og protokol.
- Proteinblok (valgfrit): Inkuber i 5-10 minutter ved stuetemperatur (RT) med Background Punisher.
- Primært antistof: Se venligst det respektive primære antistofdatablad for inkubationstid.
- Probe (kun museantistoffer): Inkuber i 5-15 minutter ved stuetemperatur med MACH 4 Universal AP Probe.
- Polymer: Inkuber i 10-20 minutter for museantistoffer eller 30 minutter for kaninantistoffer ved stuetemperatur med MACH 4 MR AP Polymer.
- Chromogen: Inkuber i 5 minutter ved stuetemperatur med Warp Red.
- Modfarvning: Modfarvning med hæmatoxilin. Skyl med deioniseret vand. Påfør Tacha's Blueing Solution i 1 minut. Skyl med deioniseret vand.

Tekniske noter:

- Brug kun TBS til vasketrin. PBS vaskebuffere vil hæmme alkalisk fosfatasefarvning.
- Brug ikke gedeserum som proteinblok. Brug ikke Background Eraser eller Background Terminator.

Kvalitetskontrol:

Se CLSI kvalitetsstandarder for design og implementering af immunhistokemi analyser; Godkendt guideline-anden udgave (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011¹⁰

Positiv vævskontrol:

Ekskert positivt kontrolmateriale skal være friske prøver fikseret, bearbejdet og indlejet så hurtigt som muligt på samme måde som patientprøven/patienterne. Positive vævskontroller er tegn på korrekt forberedt væv og korrekte farvningsteknikker. En positiv ekskert vævskontrol for hvert sæt af testbetingelser bør inkluderes i hver farvningeskørel.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Danish

BIOCARE
M E D I C A L

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, der er fikseret, behandlet og indlejret på en måde, der er identisk med patientprøven/patienterne med hver farvningskørsel for at verificere specificiteten af det primære IHC-antistof for demonstration af målantigenet og for at give en indikation af specifik baggrundsfarvning (falsk positiv farvning). Det kan også de mange forskellige celletyper, der findes i de fleste vævssnit 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 for 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. fortynget til samme koncentration ved hjælp af samme fortyndingsmiddel) til 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 henholdsvis substrat-chromogen eller enzymkompleks (PAP, avidin-biotin, streptavidin) og substrat-chromogen.

Assayverifikation:

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 i CAP Certification Program¹¹ for Immunohistochemistry og/eller NCCLS IHC guideline¹². 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.

Fejfinding:

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:

MACH 4 Universal AP Polymer Kit producerer en rød 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 indlægssedler for forventede farvereaktioner. Yderligere kan metakromasi observeres i variationer af farvningssmetoden.¹³

Når der 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 farvningssresultater. Nekrotiske eller degenererede celler farves ofte uspecifikt.

Patientvæv:

Undersøg patientprøver farvet med angivet antistof sidst. Positiv farvningssintensitet 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 fraværende 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:

- Til *in vitro* diagnostisk (IVD) brug

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Danish

BIOCARE
MEDICAL

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 farvningresultaterne.
3. Kun til brug efter lægerecept. (Kun Rx)
4. Vævsfarvning er afhængig af håndtering og behandling af vævet før farvning. Forkert fiksering, frysning, optørring, 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 indlejningsmetoder eller iboende uregelmæssigheder i vævet.¹⁴
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 fortrigt 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, antistoffortynding, vævssnittkyrkelse og det anvendte detektionskit. Se instruktionerne til det primære antistof og andre hjælpereagenser til brug for anbefalte 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.¹⁵
10. Reagenser kan vise uventede reaktioner i tidlige ikke-testede væv. Muligheden for uventede reaktioner selv i testede vævsggrupper kan ikke fuldstændigt elimineres på grund af biologisk variabilitet af antigenekspression i neoplasmmer eller andre patologiske væv.¹⁶ Kontakt Biocares tekniske support på 1-800-542-2002 eller via de tekniske supportoplysninger, der er angivet på biocare.net, med dokumenterede uventede reaktioner.
11. Normal/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.¹⁴
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.

Ydeevnekarakteristika:

Farvning blev udført ved hjælp af protokoller, der er angivet i den antistofspecifikke brugsanvisning 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 mellemprecision, 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.

Fejfinding:

1. Ingen farvning af objektglas – Kontroller for at fastslå, om der er brugt passende positivt kontrolvæv, antistof og detektionsprodukter. Tjek for ufuldstændig 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 endogent 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 blokeringsspløsning).
4. Vævssektioner 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.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Danish

BIOCARE
M E D I C A L

15. 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.
16. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Estonian

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Kasutusotstarve:

In vitro diagnostikaks kasutamiseks

MACH 4 universaalne AP polümeerikomplekt on ette nähtud kasutamiseks kas kätsiti või automatiseritud immunohistokeemia (IHC) värvimisprotokollides, kasutades leeliselise fosfataasi (AP) polümeeri ühe- või kaheetapilise pealekandmisse meetodit. See mikropolümeeride tuvastamise komplekt on möeldud hiire IgG ja IgM ja/või küüliku IgG primaarsete antikehade tuvastamiseks, mis on seotud sihtmärkantigeenidega formaliniga fikseeritud, parafiniga manustatud (FFPE) kudedes IHC värvimisprotsessi ajal. 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:

MACH 4 universaalne AP polümeerikomplekt on loodud ühe- või kaheetapilise meetodi abil hiire ja/või küüliku primaarsete antikehade tuvastamiseks, et moodustada antikeha-ensüümi kompleks. Seejärel visualiseeritakse see kompleks sobiva substrandi/kromogeeni abil. Üheetapilise meetodi puhul rakendatakse mikropolümeeriga otsest seotud sekundaarset antikeha, kaheetapilise meetodi puhul aga sekundaarne antikeha märgistamata ja järvestikku rakendatakse täiendavat ensüümiga seotud polümeeriga märgistatud reaktiivi. Kaheetapiline meetod on möeldud tuvastamise võimendamiseks madala ekspressoonioga antigenide korral. Kaetud ühe või mitme järgmiste USA patentidega. nr 6 686 461; 6 800 728; 7,102,024; 7,173,125; 7 462 689.

Menetluse põhimõte:

seda mikropolümeeride tuvastamise komplekti võib kasutada formaliniga fikseeritud parafiniga manustatud koelökide immunohistokeemia testimisel. Üldiselt immunohistokeemiline (IHC) värvimistehnikad võimaldavad visualiseerida antigenide, kasutades järvestikku a antigeni vastane spetsiifiline antikeha (primaarne antikeha), primaarse antikeha sekundaarne antikeha (valikuline linkantikeha/sond), ensüümikompleks ja kromogeenne substraat, millesse on paigutatud pesemisetapid. Kromogeeni ensüümaatiline aktiveerimine annab antigeni kohas nähtava reaktsiooniprodukti. Seejärel võib proovi värvida ja kaane libistada. Tulemusi tõlgendatakse valguse abil mikroskoop ja abi patofüsioloogiliste protsesside diferentsiaaldiagnostikas, mis võivad või ei pruugi olla seotud konkreetse antigeniga.

Materjalid ja meetodid:

Kaasasolevad reaktiivid:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL
	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
M4U536G20	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

Iahustamine, segamine, lahjendamine, tiitrimine:

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

Tuntud rakendused:

Immunohistokeemia (formaliiniga fikseeritud parafiiiniga kaetud koed)

Liigid Reaktsioonivõime:

Hiire ja Küüliku IgG rasked ja kerged ahelad

Tarnitakse järgmiselt:

MACH 4 universaalne AP-sond – UP536

Puhverdatud soolalahus, pH 7,2–7,4, mis sisaldb aroteeni kandjat ja vähem kui 0,1% naatriumasiidi säilitusainet. Lisateabe saamiseks vaadake ohutuskaarti.

MACH 4 universaalne AP polümeer – MRAP536

Puhverdatud soolalahus, pH 7,6–7,8, mis sisaldb säilitusainena alla 0,01% ProClin 300 ja/või alla 0,5% ProClin 950. Lisateabe saamiseks vaadake ohutuskaarti.

Vajalikud materjalid ja reaktiivid, mida pole kaasas:

positiivse laenguga mikroskoobi slaidid

Positiivsed ja negatiivsed

sarnane Kuivatusahi (valikuline)

Ksüleeni või ksüleeni asendaja

Etanol või reagendi alkohol

Decloaking Chamber* või sarnane kürkeeduk (valikuline)

Deioniseeritud või destilleeritud vesi

Pesupuhver*

Eeltöötlusreaktiivid* (valikuline)

Ensüümi seedimine* (valikuline)

Peroksidaasi plökk* (valikuline)

* (valikuline)

Primaarne antikeha*

Negatiivsed kontrollreagendid*

Kromogeenid*

Hematoksüliin* (vastuvärv)

Sinine reaktiiv*

Paigalduskeskond*

Katteklasi

valgus mikroskoop (40–400-kordne suurendus)

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

Säilitamine ja stabilisus:

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

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection

901-M4U536-080123

Estonian

BIOCARE
MEDICAL

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

Proovi ettevalmistamine:

Formaliinis fikseeritud koed sobivad kasutamiseks enne parafiini manustamist. Luukuded tuleb enne kudeede töötlemist katlakivi eemaldada, et hõlbustada kudeede lõikamist ja vältida mikrotoomi labade kahjustamist.^{1,2}

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

Kudeede töötlemine enne värvimist:

Tehke kuumuse poolt põhjustatud epitooopide otsimine (HIER) vastavalt allorevalt soovitatud protokollile. On näidatud, et HIER-i rutuinne kasutamine enne IHC-d vähendab ebakösalid ja standardiseerib värvimist.^{4,5}

Hoiatus ja ettevaatusabinööd:

1. Komplekti reaktiiv(id) sisaldavad vähem kui 0,1% naatriumasiidi. Alla 0,1% kontsentratsioonid ei ole USA 29 CFR 1910.1200, OSHA ohuteate ja EÜ direktiivi 91/155/EÜ kohaselt ohtlikud materjalid.naatriumasiidi (NaN₃). Säilitusainena kasutatav Naatriumasiidi võib reageerida plii ja vase torustikuga, moodustades väga plahvatusohtlike metalliasiide. Utiliseerimisel loputage suure koguse veega, et vältida asiidi kogunemist torustikku. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶
2. Komplekti reaktiivid sisaldavad vähem kui 0,05% ProClin 300 ja/või vähem kui 1% ProClin 950. Kandke kindaid ja kaitserietust ning võtke käsitsemisel kasutusele mõistlikud ettevaatusabinööd, kuna ProClin on klassifitseeritud äritavaks ja võib põhjustada nahakontakti ülitundlikkust. Vältida kokkupuudet silmade, naha ja limaskestadega.
3. Käsitsege inim- või loomset päriloot materjale kui potentsiaalselt bioloogiliselt ohtlikke materjale ja kõrvaldage need materjalid asjakohaste ettevaatusabinöödega. Kokkupuute korral järgige kasutamise korral vastutavate asutuste tervisejuhiseid.^{7,8}
4. Proove enne ja pärast fikseerimist ning kõiki nendega kokkupuutuvaid materjale tuleb käsitseda nii, nagu need oleksid võimalised nakkust edasi kandma, ning kõrvaldada asjakohaste ettevaatusabinöödega. Ärge kunagi pipeteerige reaktiive suu kaudu ning vältige reaktiivid ja proovidage kokkupuudet naha ja limaskestadega. Kui reaktiivid või proovid puutuvad kokku tundlike piirkondadega, peske neid rohke veega.⁹
5. Reaktiivid mikroobne saastumine võib põhjustada mittespetsiifilise värvimise suurenemist.
6. Määratletust erinevad inkubatsioonijad või temperatuurid võivad anda ekslikke tulemusi. Kasutaja peab kindlasse muudatusest kinnitama.
7. Ärge kasutage reaktiivi pärast vialile trükitud kölblikkusaega.
8. 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 lisareaktiividre kasutusjuhiseid.
9. Järgige kõrvaldamismeetodi osas kohalike ja/või riigiasutuste nõudeid.
10. Ohutuskaart on saadaval nõudmisel ja asub aadressil <http://biocare.net>.
11. Teatage kõigist selle seadmega seotud tööstest vahejuhtumitest, võttes ühendust kohaliku Biocare'i esindaja ja selle liikmesriigi või riigi pädeva asutusega, kus kasutaja asub.

See mikropolümeeride tuvastamise komplekt sisaldab komponente, mis on klassifitseeritud allorevas tabelis näidatud viisil vastavalt määrule (EÜ) nr 1272/2008.

Oht	Code	Ohuavaldis
	H317	Võib põhjustada allergilist nahareaktsiooni.
N/A	H402 H412	Kahjulik vee-elustikule. Kahjulik veeorganismidele, pikaajaline toime.

Kasutusjuhised:

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 lisareaktiividre kasutusjuhiseid. Inkubatsioonijad ja temperatuurid varieeruvad sõltuvalt järgitavast spetsiifilisest antikehade protokollist.

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

Üldised protseduuriapid IHC teostamiseks:

1. Deparafineeri objektiklaasid Slide Brite'is või ksüleenis. Hüdraatiseerige slaidid sorteeritud alkoholide seerias vette.
2. Peroksiidplokk (valikuline): blokeerige 5 minutit Peroxidized 1-ga.
3. Eeltöötluslahus/-protokoll: soovitatud eeltöötluslahuse ja -protokolli leiate vastava primaarse antikeha andmelehelt.
4. Protein Block (valikuline): inkubeerige 5-10 minutit toatemperatuuril (RT) Background Punisheriga.
5. Primaarne antikeha: inkubatsioonija kohta vaadake vastavat primaarsel antikeha andmelehte.
6. Sond (ainult hiire antikehad): inkubeerige 5-15 minutit toatemperatuuril MACH 4 Universal AP Probe'iga.
7. Polümeer: inkubeerige 10-20 minutit hiire antikehade jaoks või 30 minutit küliku antikehade jaoks toatemperatuuril MACH 4 MR AP polümeeriga.
8. Kromogeen: inkubeerige 5 minutit toatemperatuuril Warp Rediga.
9. Vastuvärv: hematoksüliiniga vastuvärv. Loputage deioniseeritud veega. Kandke 1 minutiks Tacha sinistamislahust. Loputage deioniseeritud veega.

Tehnilised märkused:

1. Kasutage TBS-i ainult pesemiseks. PBS pesupuhvid inhibeerivad leeliselise fosfataasi värvimist.
2. Ärge kasutage kitse seerumit valgublokina. Ärge kasutage Background Eraserit või Background Terminatorit.

Kvaliteedikontroll:

vaadake CLSI kvaliteedistandardeid immunohistokeemiliste analüüside kavandamiseks ja rakendamiseks; Heaksidetud juhiste teine väljaanne (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011¹⁰

Positiivne koekontroll:

välised positiivsed kontrollmaterjalid peaksid olema värsked proovid, mis on fikseeritud, töödeldud ja sisestatud võimalikult kiiresti samamoodi nagu patsiendi proov(id). Positiivsed koekontrollid näitavad õigesti ettevalmistatud kudesid ja õigeid värvimistehnikaid. Igasse värvimistsüklisse tuleks lisada üks positiivne väline koekontroll iga katsetingimustele komplekti kohta.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

30/114



TP v2 (02/09/2023) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection

901-M4U536-080123

Estonian

BIOCARE
MEDICAL

Väliste positiivsete kontrollmaterjalide jaoks kasutataavad koed tuleks valida patsiendi proovidest, millel on hästi iseloomustatud madal positiivse sihtaktiivsuse tase, mis annab nõrga positiivse värvumise. Väliste positiivsete kontrollide madal positiivsuse tase on loodud selleks, et tagada ebastabiilsusest või IHC metodikaga seotud probleemidest tingitud peente muutuste tuvastamine primaarse antikeha tundlikkuses. Kaubanduslikult saadavad koekontrolli objektiklaasid või patsiendi proovidest erinevalt töödeldud proovid kinnitavad ainult reaktiivi toimivust ega kontrolli koe ettevalmistamist.

Teadolevaid positiivseid koekontrolle tuleks kasutada ainult töödeldud kude ja testreaktiivide õige toimimise jälgimiseks, mitte abivahendina patsiendi proovide spetsiifilise diagnoosi koostamisel. Kui positiivsed koekontrollid ei näita positiivset värvumist, tuleks analüüsivate proovide tulemused lugeda kehtetuks.

Negatiivne koekontroll:

Kasutage iga värvimistküli puuhul negatiivset koekontrolli, mis on fikseeritud, töödeldud ja sisestatud patsiendi proovi(de)ga identsel viisil, et kontrollida IHC primaarse antikeha spetsiifilisust. Sihtantigeni demonstrerimine ja spetsiifilise taustavärvimise indikaator (valepositiivne värvimine). Samuti võivad enamikus koeosades esinevad erinevad rakutüübidi labori poolt kasutada sisemiste negatiivsete kontrollikohtadena, et kontrollida IHC toimivust spetsifikatsioonid. Negatiivse koe jaoks kasutatavate proovide tüübidi ja allikad juhtelemendid on loetletud jaotises Toimivusnäitajad.

Kui negatiivse koekontrolli puuhul ilmneb spetsiifiline värvamine (valepositiivne värvamine), tuleb patsiendi proovide tulemusi lugeda kehtetuks.

Mittespetsiifilise negatiivse reaktiivi kontroll:

Kasutage primaarse antikeha asemel mittespetsiifilist negatiivset reagendi kontrolli koos iga patsiendi proovi osaga, et hinnata mittespetsiifilist värvumist ja võimaldada spetsiifilise värvumise paremat tölgendamist antigeni saidil. Ideaalis sisaldab negatiivne reaktiivi kontroll antikeha, mis on toodetud ja valmistatud (st lahjendatud sama kontsentratsioonini, kasutades sama lahjendit) kasutamiseks samal viisil kui esmane antikeha, kuid sellel ei ole spetsiifilist reaktsioonivõimet inimese kudedeaga samas maatriksis/lahuses kui Biocare'i antikeha. Ainuksi lahjendit võib kasutada vähem soovitava alternativina eelnevalt kirjeldatud negatiivsete reaktiivide kontrollidele. Negatiivse reaktiivi kontrolli inkubatsiooniperiood peaks vastama primaarse antikeha inkubatsiooniperioodile.

Kui seerialõikudel 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, streptavidiin) ja substraat-kromogeeniga.

Analüüs kontrollimine:

Enne antikeha või värvimissüsteemi esmest kasutamist diagnostilises protseduuris peaks kasutaja kontrollima antikeha spetsiifilist, testides seda ettevõttesiseste kudedega, millel on teadolevad immunohistokeemilised omadused, mis esindavad teadolevaid positiivseid ja negatiivseid kudesid. Vaadake eelnevalt tootelehe selles jaotises kirjeldatud kvaliteedikontrolli protseduure ja CAP sertifitseerimisprogrammi¹¹ immunohistokeemia ja/või NCCLS IHC juhist¹². Neid kvaliteedikontrolli protseduure tuleks korrrata iga uue antikehapatii puuhul või alati, kui analüüsiparametrid muutuvad. Katske kontrollimiseks sobivad koed, mis on loetletud jaotises Performance Characteristics.

Veaotsing:

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

Värvimise tölgendamine:

MACH 4 universalne AP polümeerikomplekt tekib primaarse antikeha poolt lokaliseeritud antigenikohtades punase värvuse reaktsiooni. Enne patsiendi tulemuste tölgendamist peab kvalitseeritud patoloog kontrollide värvimist hindama. Negatiivseid kontrolli hinnatakse ja võrreldakse värvitud objektiklaasidega, et tagada, et tähdatud värvamine ei ole mittespetsiifiliste interaktsioonide tagajärg.

Positiivne koekontroll:

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

Reaktsiooniprodukti värvus võib varieeruda sõltuvalt kasutatud substraadi kromogeenedest. Oodatavate värvireaktsioonide kohta vaadake aluspinna pakendi infolehti. Lisaks võib metakromaasiat tähdada värvimismeetodi variatsioonides.¹³

Vastuvärvi kasutamisel, olenevalt kasutatud vastuvärvi inkubatsiooni pikkusest ja tugevusest, põhjustab vastuvärvimine raku tuumade värvuse. Liigne või mittetäielik vastuvärvimine võib kahjustada tulemuste õiget tölgendamist. Soovitatud vastuvärvimise kohta vaadake protokoli/protokollis.

Negatiivne koekontroll:

Tuleks uurida pärast positiivset koekontrolli, et kontrollida sihtantigeni märgistamise spetsiifilist primaarse antikehaga. Spetsiifilise värvumise puudumine negatiivses koekontrollis kinnitab antikehade ristreaktiivsuse puudumist rakkude/rakukomponentide suhtes. Kui negatiivse väliskoe kontrolli korral ilmneb spetsiifiline värvamine (valepositiivne värvamine), tuleb patsiendi proovi tulemusi lugeda kehtetuks.

Mittespetsiifiline värvamine, kui see on olemas, on tavaiselt hajusa välimusega. Sidekoe juhuslikku värvimist võib tähdada ka liigset formaliniga fikseeritud kudede lõikudes. Värvimistulemuste tölgendamiseks kasutage terveid rakkide. Nekrootilised või degenererunud rakkud 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, tähendab negatiivne tulemus seda, et antigeni ei tuvastatud, mitte seda, et antigen 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. In vitro diagnostikaks (IVD) kasutamiseks
2. See toode on ainult professionaalseks kasutamiseks: Immunohistokeemia on mitmeastmeline diagnostiline protsess, mis

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

BIOCARE
M E D I C A L

Estonian

- koosneb erikoolitusest sobivate reaktiivide valimisel; kudedede valik, fikseerimine ja töötlemine; IHC slaidi ettevalmistamine; ja värvimistulemuste tõlgendamine.
3. Kasutamiseks ainult arsti retsepti alusel. (Ainult Rx)
 4. Kudedede värvimine sõltub koe käsitsemisest ja töötlemisest enne värvimist. Ebaõige fikseerimine, külmutamine, sulatamine, pesemine, kuivatamine, kuumutamine, lõikamine või saastumine teiste kudedede või vedelikega võib põhjustada artefakte, antikehade kinnijäämist või valenegatiivsete tulemusi. Ebajärjekindlad tulemused võivad olla tingitud fikseerimis- ja kinnitamismeetodite erinevustest või koe omastest ebakorrapärasustest.¹⁴
 5. Liigne või mittetäielik vastuvärvimine võib kahjustada tulemuste õiget tõlgendamist.
 6. Iga positiivse või negatiivse värvumise klinilist tõlgendust tuleks hinnata klinilise pildi, morfoloogia ja muude histopatoloogiliste kriteeriumide kontekstis. Positiivse või negatiivse värvumise klinilist tõlgendamist tuleks täiendada morfoloogiliste uuringutega, milles kasutatakse nõuetekohast positiivset ja negatiivset sise- ja väliskontrolli ning muid diagnostilisi teste. Kvalifitseeritud patoloog, kes tunneb IHC antikehade, reaktiivide ja meetodite õiget kasutamist, vastab kõigi IHC löpliku paraparaadi ettevalmistamiseks ja tõlgendamiseks kasutatud etappide tõlgendamise eest.
 7. Konkreetse rakenduse optimaalsed protokolid võivad erineda. Nende hulka kuuluvad (kuid mitte ainult) fikseerimine, kuumuse taastamise meetod, inkubatsioonijad, antikehade lajhendamine, koelöike paksus ja kasutatud tuvastamiskomplekt. Soovitatavate protokollide ja kasutustingimuste kohta vaadake esmase antikeha ja teiste lisareaktiivide kasutusjuhiseid. Andmelehe soovitused ja protokolid põhinevad ainult Biocare toodete kasutamisel. Lõppkokkuvõttes vastutab uurija optimaalse tundimuste kindlaksmääramise eest.
 8. See toode ei ole ette nähtud kasutamiseks voolutsütoomeetrias. Voolutsütoomeetria jõudlusnäitajaid ei ole määratud.
 9. B-hepatiidi viirusega nakatunud ja B-hepatiidi pinnaantigeeni (HBsAg) sisaldavate inimestele kudedel võib ilmneda määraröika peroksüdaasiga mittespetsiifiline värvamine.¹⁵
 10. Reaktiivid võivad avaldada ootamatuid reaktsioone varem testimata kudedes. Ootamatute reaktsioonide võimalust isegi testitud koerühmades ei saa täielikult välistada antigeeni ekspressiooni bioloogilise varieeruvuse tõttu kasvajates või muudes patoloogilistes kudedes.¹⁶ 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/mitteimmuunsed seerumid, mis pärinevad samast loomsetest allikast kui blokeerimisetappides kasutatavad sekundaarsed antiseerumid, võivad autoantikehade või looduslike antikehade tõttu põhjustada valenegatiivseid või valepositiivseid tulemusi.
 12. Valepositiivseid tulemusi võib näha valkude või substraadi reaktsioniproduktide mitteimmunooolgilise seondumise tõttu. Need võivad olla põhjustatud ka pseudoperoksidaasi aktiivsusest (erütrotsüüdid), endogeense peroksidaasi aktiivsusest (tsütokroom C) või endogeensem biotiinist (nt maks, rind, aju, neer), olenevalt kasutatud immunovärvit tüübist.¹⁴
 13. Negatiivne tulemus tähendab, et antigeeni ei tuvastatud, mitte seda, et uuritud rakkudes või koes antigeen puudus.

:
täiendavaid tootespetsiifilisi piiranguid pole.

Toimivuskarakteristikud:

värvimine viidi läbi, kasutades protokolle, mis on toodud antikehaspetsiifilistes kasutusjuhistes või vastavalt täpsustatule. Värvimise tundlikkust ja spetsiifilisust hinnati mitmesugustesse normaalseste ja neoplastiliste koetüüpide puhul, mida hinnati primaarsete antikehade 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 järgjepidev ja viidi läbi otuspäraselt.

Veaotsing:

1. objektiklaasid ei värvunud – Kontrollige, kas on kasutatud sobivat positiivset kontrollkudet, antikeha ja tuvastamisprodukte. Kontrollige, kas vaha eemaldamine või eeltöötlemine on puudulik 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 plokki), või võib esineda liigne mittespetsiifiline valgu interaktsioon (kasutage valku). blokk, nagu seerumi- või kaseinipõhine blokeeriv lahust.
4. Koeosad pesevad slaididel inkubeerimise ajal maha – Kontrollige slaidi, et veenduda, et need on positiivselt laetud.
5. Spetsiifiline värvamine on liiga tume – kontrollige protokolli, et teha kindlaks, kas objektiklaasile on rakendatud õige antikehade tüter, samuti kõigi reaktiivide õiged inkubatsioonijad. Lisaks veenduge, et protokolls on piisavalt pesemisetappe, et eemaldada pärast inkubatsioonietappide lõppu liigsed reaktiivid.

Kasutatud kirjandus:

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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Estonian

BIOCARE
M E D I C A L

15. 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.
16. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Finnish

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Käyttötarkoitus:

In vitro diagnostiseen käyttöön

MACH 4 Universal AP Polymer Kit on tarkoitettu käytettäväksi joko manuaalisissa tai automatisoiduissa immunohistokemian (IHC) väärjäskäytännöissä, joissa käytetään alkalisen fosfataasi (AP) polymeerin yksi- tai kaksivaiheista levitysmenetelmää. Tämä mikropolymeerien havaitsemistarja on suunniteltu hiiren IgG:n ja IgM:n ja/tai kanin IgG:n primääristen vasta-aineiden havaitsemiseen, jotka ovat sitoutuneet kohdeantigeeneihin formaliniilla kiinnitettyissä, paraftiiniin upotetuissa (FFPE) kudoksissa IHC-väärjäysprosessin aikana. Mahdollisen väärjäytymisen tai sen puuttumisen kliinistä tulkiintaa tulisi täydentää morfoloogisilla tutkimuksilla ja asianmukaisilla kontrollilla, ja pätevän patologin tulee arvioida potilaan kliinisen historian ja muiden diagnostisten testien yhteydessä.

Yhteenveto ja selitys:

MACH 4 Universal AP Polymer Kit on suunniteltu käytämällä yksi- tai kaksivaiheista menetelmää hiiren ja/tai kanin primääristen vasta-aineiden havaitsemiseksi vasta-aine-entsyymikompleksin muodostamiseksi. Tämä kompleksi visualisoidaan sitten käytämällä sopivaa substraitta/kromogeenia. Yksivaiheessa menetelmässä levitetään sekundääristä vasta-ainetta, joka on liitetty suoraan mikropolymeeriin, kun taas kaksivaiheessa menetelmässä sekundäärinen vasta-aine on leimaamaton, ja entsyymisodksella polymeerileimattua reagenssia lisätään peräkkäin. Kaksivaiheinen menetelmä on suunniteltu vahvistamaan havaitsemista tapauksissa, joissa抗igeenit ilmentävät vähän. Kattaa yhden tai useamman seuraavista US Pat. nro 6,686,461; 6,800,728; 7,102,024; 7,173,125; 7,462,689.

Menettelyn periaate:

Tätä mikropolymeerien havaitsemistarjaa voidaan käyttää formaliniilla kiinnitettyjen, paraftiiniin upotettujen kudosleikkideiden immunohistokemian testaamiseen. Yleensä immunohistokemiallinen (IHC) väärjäystekniikat mahdollistavat antigenien visualisoinnin soveltamalla peräkkäin a spesifinen vasta-aine antigenille (primaarinen vasta-aine), sekundaarinen vasta-aine primaariselle vasta-aineelle (valinnainen linkkivasta-aine/koetin), entsyymikompleksi ja kromogeeninen substratti, jossa on pesuvaiheet. Kromogeenin entsyymiaattinen aktivaatio johtaa näkyvään reaktiotuotteeseen antigenikohdassa. Näyte voidaan sitten vastavärjätä ja kanssi liu'uttaa. Tulokset tulkitaan valon avulla mikroskooppi ja apu patofysiologisten prosessien erotusdiagoosissa, 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
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

Liuottaminen, sekoitus, laimennus, titraus:

Mikropolymeerien tunnistussarjan reagenssi(t) on optimoitu ja valmis käytettäväksi Biocare-vasta-aineiden ja apureagenssien kanssa. Käyttöövalmiuksi saattamista, sekoittamista, laimentamista tai titrausta ei vaadita.

Tunnetut sovellukset:

Immunohistokemia (formaliini-kiinnitetyt paraftiiniin upotetut kudokset)

Laji Reaktiivisuus:

Hiiren ja Kanin IgG:n raskaat ja kevyet ketjut

Toimitetaan nimellä:

MACH 4 Universal AP Probe – UP536

Puskuroitu suolaliuos, pH 7,2-7,4, sisältää aproteiinikantajaa ja alle 0,1 % natriumatsidia. Katso lisätietoja käyttöturvallisuuksiedotteesta.

MACH 4 Universal AP Polymer – MRAP536

Puskuroitu suolaliuos, pH 7,6-7,8, sisältää aproteiinikantajaa ja alle 0,01 % ProClin 300 ja/tai alle 0,5 % ProClin 950 säilöntääaineena. Katso lisätietoja käyttöturvallisuuksiedotteesta.

Tarvittavat materiaalit ja reagenssit, mutta niitä ei toimiteta:

mikroskoopin objektilisat, positiivisesti varautuneet

Positiiviset ja negatiiviset kudoskontrollit

Desert Chamber* tai vastaava Kuivausuuni (valinnainen)

Ksyleeni tai ksyleenin korvice

Etanol tai reagenssialkoholi

Decloaking Chamber* tai vastaava painekattila (valinnainen)

Deionisoitu tai tislaattu vesi

Pesupuskuri*

Esikäsitteilyreagenssit* (valinnainen)

Entsyymihajotus* (valinnainen)

Peroksidaasiblokki* (valinnainen)

Proteiiniblokki* (valinnainen)

Ensisijainen vasta-aine*

Negatiiviset kontrollireagenssit*

Kromogeeniit*

* (vastavärjäys)

Sinimisreagenssi*

Kiinnytsaine*

Peitelasivalo

Mikroskooppi (40-400X suurennus)

* Biocare Medical -tuotteet: Katso Biocare Medical -sivustolta <http://biocare.net> lisätietoja luettelonumeroista ja tilauksesta. Tietyt edellä luetellut reagenssit perustuvat tiettyyn sovellukseen ja käytettyyn tunnistusjärjestelmään.

Varastointi ja stabiilisuus:

Säilytä 2°C - 8°C. Tuote on stabiili injektiopullon etikettiin painettuun viimeiseen käyttöpäivään asti, kun sitä säilytetään näissä olosuhteissa. Älä käytä viimeisen käyttöpäivän jälkeen. Varastointi muissa kuin määritellyissä olosuhteissa on tarkistettava. Sarjan reagenssi(t) ovat käyttöövalmita, eikä

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

34/114



TP v2 (02/09/2023)

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

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Finnish

BIOCARE
MEDICAL

niitä saa laimentaa. Biocare ei ole vahvistanut käyttäjän laimennetun reagenssin stabiilisuutta.

Positiiviset ja negatiiviset kontrollit tulee suorittaa samanaikaisesti kaikkien potilasnäytteiden kanssa. Jos havaitaan odottamaton väärjäytymistä, jota ei voida selittää laboratoriomenetelmien vaihtelulla, ja epäillään vastaaineengelmaa, ota yhteystä Biocaren tekniseen tukeen numeroon 1-800-542-2002 tai biocare.net-sivustolla olevien teknisen tuen tietojen kautta.

Näytteen valmistelu:

Formaliiniin kiinnitetyt kudokset soveltuват käytettäväksi ennen parafiiniin upottamista. Luukudokset tulee poistaa kalkki ennen kudosten käsiteltäy kudoksen leikkaamisen helpottamiseksi ja mikrotomin terien vaurioitumisen estämiseksi.^{1,2}

Asianmukaisesti kiinnitetyt ja upotetut kudokset, jotka ilmentävät määritettyä antigenekohdetta, tulee säilyttää viileässä paikassa. Vuoden 1988 Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) -lain 42 CFR §493.1259(b) edellyttää, että "Laboratorion on säilytettävä väärjäyttyt objektilisit vähintään kymmenen vuotta niiden päivämäärästä lukien. tutkia ja säilyttää näyttekappaleet vähintään kaksi vuotta tutkimuspäivästä."³

Kudosten käsitteily ennen väärjäystä:

Suorita lämmön aiheuttama epitoppihaku (HIER) alla suositellun protokollan mukaisesti. HIER:n rutiininomaisen käytön ennen IHC:tä on osoitettu minimoivan epäjohdonmukaisuuden ja standardoivan väärjäytymistä.^{4,5}

Varoitus ja varotoimet:

1. Sarjan reagenssi(t) sisältäävät alle 0,1 % natriumatsidia. Alle 0,1 %:n pitoisuudet eivät ole raportoitavia vaarallisia aineita US 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard communicationin ja EY-direktiivin 91/155/EC mukaisesti.natriumatsidi (NaN₃) on myrkyllistä nieltyynä. Natriumatsidi voi reagoida lyijy- ja kupariputkiston kanssa muodostuen erittäin räjähtäviä metalliatseleja. Hävittämisen yhteydessä huuhtele runsaalla vedellä, jotta putkistoihin ei kerry atsidia. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976).
2. Kitin reagenssit sisältäävät alle 0,05 % ProClin 300:aa ja/tai alle 1 % ProClin 950:tä. Käytä käsineitä ja suojaavatetusta ja noudata kohtullisia varotoimia käsittelyessäsi, koska ProClin on luokiteltu ärsyttäväksi ja saattaa aiheuttaa ihokosketuksen herkistymistä. Vältä joutumista silmiin, iholle ja limakalvoille.
3. Käsittele ihmisi- tai eläinperäisiä materiaaleja mahdollisesti biologisesti vaarallisina ja hävitä tällaiset materiaalit asianmukaisin varotoimin. Noudata altistumistapauksessa vastaanvien viranomaisten antamia terveysmääryksiä.^{7,8}
4. Näytteitä ennen kiinnitystä ja sen jälkeen sekä kaikkia niille altistettuja materiaaleja tulee käsittää ikään kuin ne voisivat siirtää infektiota ja hävittää 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 runsalla vedellä.⁹
5. Reagenssien mikrobikontaminaatio voi johtaa epäspesifisen väärjäytymisen lisääntymiseen.
6. Muut kuin ilmoitetut inkubointijat tai lämpötilat voivat antaa virheellisiä tuloksia. Käyttäjän on vahvistettava kaikki tällaiset muutokset.
7. Älä käytä reagenssia pulloon painetun viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.
8. Mikropolymeerien havaitsemistarjan 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.
9. Noudata paikallisten ja/tai valtion viranomaisten vaatimuksia hävitysmenetelmistä.
10. Käyttöturvallisuustiedote on saatavilla pyynnöstä, ja se sijaitsee osoitteessa <http://biocare.net>.

11. Ilmoita kaikista tähän laitteeseen liittyvistä vakavista tapahtumista ottamalla yhteystä paikalliseen Biocaren edustajaan ja sen jäsenvaltion tai maan toimivaltaiseen viranomaiseen, jossa käyttäjä sijaitsee.

Tämä mikropolymeerien tunnistussarja sisältää komponentteja, jotka on luokiteltu alla olevan taulukon mukaisesti asetuksen (EY) N:o 1272/2008 mukaisesti.

Vaara	Code	Vaaralauseke
	H317	Saattaa aiheuttaa allergisen ihoreaktion.
N/A	H402 H412	Haitallista vesielölle. Haitallista vesielölle, pitkääkaisia haittavaikutuksia.

Käyttöohjeet:

Mikropolymeerien 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-aineprotokollan mukaan.

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

Yleiset menettelyvaiheet IHC:n suorittamiseksi:

1. Paraffinointi: Poista paraffinointi objektilisit Slide Brite- tai ksyleenissä. Hydratoidu liukulevy sarjassa luokiteltua alkoholeja veteen.
2. Peroksidiblokkki (valinnainen): Lopeta 5 minuutin ajan Peroxidized 1:llä.
3. Esikäsitteilyliuos/protokolla: Katso suositeltu esikäsitteilyliuos ja protokolla kunkin ensisijaisen vasta-aineen tietolehdestä.
4. Proteiinilohko (valinnainen): Inkuboi 5-10 minuuttia huoneenlämpötilassa (RT) Background Punisherilla.
5. Primaarinen vasta-aine: Katso inkubaatioaika vastaavasta primäärvasta-aineesta.
6. Koitin (vain hiiren vasta-aineet): Inkuboi 5-15 minuuttia huoneenlämpötilassa MACH 4 Universal AP -koettimen kanssa.
7. Polymeeri: Inkuboi 10-20 minuuttia hiiren vasta-aineita tai 30 minuuttia kanin vasta-aineita huoneenlämpötilassa MACH 4 MR AP -polymeerin kanssa.
8. Kromogeeni: Inkuboi 5 minuuttia huoneenlämpötilassa Warp Redin kanssa.
9. Vastavärjäys: Vastavärjäys hematoksiiliinillä. Huuhtele deionisoidulla vedellä. Levitä Tacha's Bluing -liuosta 1 minuutin ajan. Huuhtele deionisoidulla vedellä.

Tekniset huomautukset:

1. Käytä TBS:ää vain pesuaineisiin. PBS-pesupuskurit estävät alkalisen fosfataasin väärjäytymistä.
2. Älä käytä vuohen seerumia proteiininesteenä. Älä käytä Background Eraseria tai Background Terminator -ohjelmaa.

Laadunvalvonta:

Katso CLSI-laatustandardit immunohistokemiallisten määritysten suunnittelua ja toteutusta varten; Hyväksyty Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011.¹⁰

Positiivisten kudosten kontrolli:

Ulkoisten positiivisten kontrollimateriaalien tulee olla tuoreita näytteitä, jotka on kiinnitetty, käsitetty ja upotettu mahdollisimman pian samalla tavalla kuin potilasnäytteet. Positiiviset kudoskontrollit osoittavat oikein valmistettuja kudosia ja asianmukaisia väärjäystekniikoita. Yksi positiivinen ulkoinen

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Finnish

BIOCARE
MEDICAL

kudoskontrolli jokaista testioloosuhteita kohden tulisi sisällyttää jokaiseen värjäysajoon.

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

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

Negatiivinen kudoskontrolli:

Käytä negatiivista kudoskontrollia, joka on kiinnitetty, käsitelty ja upotettu identtisellä tavalla kuin potilasnäyte(t) jokaisessa värjäysajossa varmistaksesi IHC:n primaarisen vasta-aineen spesifisyyden. Kohdeantigeenin osoittamiseen ja spesifisen taustavärjäytymisen osoittamiseen (väärä positiivinen värjäys). Myös useimmat eri solutyyppit, joita esiintyy useimmissa kudosleikkisissä, voivat laboratorio käyttää niitä sisäisänä negatiivisina kontrollipaikkoina IHC:n suorituskyvyn tarkistamiseen tekniset tiedot. Näytetyypit ja -lähteet, joita voidaan käyttää negatiiviseen kudokseen säätimet on lueteltu Suorituskykyominaisuudet-osiosta.

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

Epäspesifinen negatiivinen reagenssikontrolli:

Käytä epäspesifistä negatiivista reagenssikontrollia primaarisen vasta-aineen sijasta kunkin potilasnäytteen leikkeen kanssa arvioidaksesi epäspesifistä värjäytymistä ja mahdollistaaksesi spesifisen värjäytymisen paremman tulkinnan antigeenikohdassa. Ihannetapauksessa negatiivinen reagenssikontrolli sisältää vasta-aineen, joka on tuottettu 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/liuoksessa kuin Biocare-vasta-aine. Pelkkää laimennusainetta voidaan käyttää vähemmän toivottavana vaihtoehtona aiemmin kuvatuille negatiivisille reagenssikontolleille. Negatiivisen reagenssikontrollin inkubaatioajan tulee vastata primaarisen vasta-aineen inkubaatioaikaan.

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

Määritysten varmistus:

Ennen vasta-aineen tai värjäysjärjestelmän ensimmäistä käyttöä diagnostisessa toimenpiteessä käyttäjän tulee varmistaa vasta-aineen spesifisyyks testaamalla se sarjalla talon sisäisiä kudosia, joilla on tunnetut immunohistokemialliset suorituskykyominaisuudet ja jotka edustavat

tunnettuja positiivisia ja negatiivisia kudosia. Katso laadunvalvontamenettelyt, jotka on kuvattu aiemmin tässä tuoteselosten osassa, ja CAP-sertifiointiohjelman¹¹ Immunohistochemistry ja/tai NCCLS IHC -ohjeen¹². Nämä laadunvalvontatoimenpiteet on toistettava jokaiselle uudelle vasta-aineerälle tai aina, kun määritysparametreissa tapahtuu muutoksia. Suorituskykyominaisuudet-osiolla luetellut kudokset soveltuват määritysten todentamiseen.

Vianetsintä:

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

Värjäyksen tulkinta:

MACH 4 Universal AP Polymer Kit tuottaa punaisen värireaktion primaarisen vasta-aineen paikantamissa antigenikohdissa. Ennen potilastulosten tulkintaan pätevän patologin on arvioitava kontrollien värjäyksen. Negatiiviset kontrollit arvioidaan ja niitä verrataan värjättyihin objektilaseihin sen varmistamiseksi, että havaittu värjäytyminen ei ole seurausta epäspesifisistä vuorovaikutuksista.

Positiivinen kudoskontrolli:

Osoitettuilla vasta-aineilla 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, testinäytteellä saatuja tuloksia on pidettävä virheellisinä.

Reaktiotuotteen väri voi vaihdella riippuen käytetyistä substraatti-kromogeeneista. Katso odotetut värireaktiot alustan pakkausllestestä. Lisäksi metakromiaa voidaan havaita värjäysmenetelmän muunnelmissa.¹³

Kun käytetään vastavärjäystä, riippuen käytetyn vastavärjäyksen inkubaation pituudesta ja tehosta, vastavärjäys johtaa soluytimien värjäämiseen. Liallinen tai epätäydellinen vastavärjäys voi vaarantaa tulosten oikean tulkinnan. Katso suositellut vastavärjäyskäytännöt.

Negatiivinen:

Negatiivinen kudoskontrolli tulee tutkia positiivisen kudoskontrollin jälkeen primaarisen vasta-aineen kohdeantigeenin leiman spesifisyyden 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 formalinista kiinnitetyistä kudosista. Käytä ehjää soluja värjäystulosten tulkitsimiseen. Nekroottiset tai rappeutuneet solut värjäyvät usein epäspesifisesti.

Potilaan kudos:

Tutki potilasnäytteet, jotka on värjätty osoitetulla vasta-aineella kestävä. Positiivinen värjäytymisintensiteetti tulee arvioida negatiivisen reagenssikontrollin 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 tunnistaa kudosia värät negatiiviset reaktiot.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Finnish

BIOCARE
M E D I C A L

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

Rajoitukset:

Yleiset rajoitukset:

1. In vitro -diagnostiikkaan (IVD)
2. Tämä tuote on tarkoitettu vain ammattikäyttöön: Immunohistokemia on monivaiheinen diagnostinen prosessi, joka koostuu erityiskoulutuksesta sopivien reagenssien valinnassa; kudosten valinta, kiinnitys ja käsittely; IHC-levyn valmistus; ja värväystulosten tulkinta.
3. Vain lääkärin määräyksestä käytettäväksi. (Vain Rx)
4. Kudosväryys riippuu kudoksen käsittelystä ja käsittelystä ennen värväystä. Väärä kiinnitys, jäädyttäminen, sulattaminen, pesu, kuivaus, kuumennus, leikkaus tai kontaminaatio muilla kudoksilla tai nesteillä voi aiheuttaa artefakteja, vasta-aineiden vangitsemista tai väärää negatiivisia tuloksia. Epäjohdonmukaiset tulokset voivat johtua vaihtelista kiinnitys- ja upotusmenetelmässä tai kudoksen sisäisistä epäsäännöllisyksistä.¹⁴
5. Liiallinen tai epätäydellinen vastaväryys voi vaarantaa tulosten oikean tulkinnan.
6. Kaikkien positiivisten tai negatiivisten värväytmien kliininen tulkinta on arvioitava kliinisen esityksen, morfologian ja muiden histopatologisten kriteerien yhteydessä. Positiivisen tai negatiivisen värväytmisen kliinistä tulkiintaa tulisi täydentää morfologilla tutkimuksilla, joissa käytetään asianmukaisia positiivisia ja negatiivisia sisäisiä ja ulkoisia kontroleja sekä muita diagnostisia testejä. Pätevän patologin, joka tuntee IHC-vasta-aineiden, reagenssien ja menetelmien oikean käytön, vastuulla on tulkita kaikki vaiheet, joita käytetään lopullisen IHC-valmisteen valmistelussa ja tulkinnassa.
7. Optimaaliset protokollat tietylle sovellukselle voivat vaihdella. Näitä ovat muun muassa kiinnitys, lämmön talteenottomenetelmä, inkubaatiojat, vasta-ainelaimennus, kudosleikkeen paksuus ja käytetty havaitsemispakkauks. Katso suositellut protokollat ja käyttöolosuhteet ensisijaisen vasta-aineiden ja muiden apureagenssien käyttöohjeista. Käyttöturvallisuustiedotteen suositukset ja protokollat perustuvat Biocare-tuotteiden yksinomaiseen käyttöön. Viime käessä on tutkijan vastuulla määritää optimaaliset olosuhteet.
8. Tätä tuotetta ei ole tarkoitettu käytettäväksi virtaussytometriassa. Virtaussytometrian suorituskykyominaisuksia ei ole määritetty.
9. Hepatiitti B -viruksella infektoituneiden henkilöiden kudoksissa, jotka sisältävät hepatiitti B -pinta-antigeeniä (HBsAg), voi esiintyä epäspesifistä piparjuuriperoksidaasin värväytmistä.¹⁵
10. Reagenssit voivat aiheuttaa odottamattomia reaktioita aiemmin testaamattomissa kudoksissa. Odottamattomien reaktioiden mahdollisuutta ei edes testatuissa kudosryhmissä voida täysin eliminoida antigeenin ilmentymisen biologisen vaihtelon vuoksi kasvaimissa tai muissa patologisissa kudoksissa.¹⁶ 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 eläinläheteestä kuin estovaiheissa käytetty sekundaariset antiseerumit voivat aiheuttaa väärää negatiivisia tai väärää positiivisia tuloksia autovasta-aineista tai luonnonlisista vasta-aineista johtuen.
12. Väärää positiivisia tuloksia voidaan nähdä johtuen proteiinien tai substraattireaktiotuotteiden ei-immunologisesta sitoutumisesta. Ne voivat johtua myös pseudoperoksidaasiaktiivisuudesta (erytrosyytit), endogeenisesta peroksidaasiaktivisuudesta (sytokromi C) tai endogeenisesta biotinista (esim. maksa, rinta, aivot, munuaiset) riippuen käytetyn immunovärjäyksen typistä.¹⁴
13. Negatiivinen tulos tarkoittaa, että antigeeni ei havaittu, ei sitä, että antigeeni puuttui tutkituista soluista tai kudoksesta.

Tuotekohtaiset rajoitukset:

Ei muita tuotekohtaisia rajoituksia.

Suorituskykyominaisuudet:

Väryys suoritettiin käytämällä protokolia, jotka on annettu vasta-ainekohtaisissa käyttöohjeissa tai kuten on määritelty. Värjäytymisen herkkyyssä ja spesifisyyss arvioitiin useissa normaaleissa ja neoplastisissa kudostypeissä, jotka arvioitiin primaaristen vasta-aineiden kehittymisen aikana.

Toistettavuus:

Biocaren tunnistusjärjestelmien ja järjestelmäreagenssien toistettavuus varmistetaan keskimääräisellä tarkkuudella, jossa eri reagenssierät testattiin pitkän ajanjakson ajan käytämällä erilaisia toimijoita, analyytikoita, reagenssierää, kudosnäytteitä ja laitteita. Jokaiselle arvioidulle detektioreagenssille saatu väryys oli johdonmukainen ja suoritettiin odotetulla tavalla.

Vianetsintä:

1. Objektilasit ei värväytyneet – Tarkista, että on käytetty asianmukaista positiivista kontrollikudosta, vasta-ainetta ja havaitsemistuotteita. Tarkista, ettei vahanpoisto tai esikäsittely ole täydellinen tai virheellinen.
2. Kaikkien objektilasien heikko väryys – Tarkista, että on käytetty asianmukaista positiivista kontrollikudosta, vasta-ainetta ja havaitsemistuotteita.
3. Kaikkien objektilasien liiallinen tausta – Endogeenistä biotinia (jos käytää biotiinipohjaisia tunnistustuotteita), endogeenistä HRP-aktiivisuutta, joka muuttaa kromogenen väriä sekä epäspesifistä proteiinivuorovaikutusta (käytä proteiinia) esto, kuten seerumi- tai kaseiniipohjainen estoliuus).
4. Kudososat pesevät objektilasit pois inkubaation aikana – Tarkista objektilasit varmistaaksesi, että ne ovat positiivisesti varautuneita.
5. Erityinen väryys liian tumma – Tarkista protokolla määrittääksesi, onko objektilasien käytetty oikea vasta-ainetiitteri, sekä oikeat inkubaatioajat kaikille reagenssille. 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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Finnish

BIOCARE
M E D I C A L

12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. *Lab Med* 1983; 14:767.
15. 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.
16. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Greek

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Προβλεπόμενη χρήση:

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση

Το MACH 4 Universal AP Polymer Kit προορίζεται για χρήση είτε σε χειροκίνητα είτε σε αυτοματοποιημένα πρωτόκολλα χρώσης ανοσοϊστοχημείας (IHC) χρησιμοποιώντας μια μέθοδο εφαρμογής ενός ή δύο σταδίων πολυμερούς αλκαλικής φωσφατάσης (AP). Αυτό το κιτ ανήνευσης μικρο-πολυμερούς έχει σχεδιαστεί για την ανήνευση πρωτογενών αντισωμάτων IgG και IgM ποντικού και/ή IgG κουνελιού που είναι συνδεδεμένα σε αντιγόνα-στόχους στους ιστούς που είναι σταθεροποιημένοι με φορμαλίνη, ενσωματωμένοι 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 εξήγηση:

Το MACH 4 Universal AP Polymer Kit έχει σχεδιαστεί χρησιμοποιώντας μια μέθοδο ενός ή δύο σταδίων για την ανήνευση πρωτογενών αντισωμάτων ποντικού και/ή κουνελιού για το σχηματισμό ενός συμπλέγματος αντισώματος-ενζύμου. Αυτό το σύμπλεγμα στη συνέχεια οπτικοποιείται χρησιμοποιώντας ένα κατάλληλο υπόστρωμα/χρωμογόνο. Στη μέθοδο ενός σταδίου εφαρμόζεται ένα δευτερεύον αντίσωμα απευθείας συνδεδεμένο με το μικρο-πολυμερές ενώ στη μέθοδο δύο σταδίων το δευτερεύον αντίσωμα είναι μη επιστηματένο και ένα επιπρόσθετο συνδεδεμένο με ένζυμο σημασμένο με πολυμερές αντιδραστήριο εφαρμόζεται διαδοχικά. Η μέθοδος δύο σταδίων έχει σχεδιαστεί για να ενισχύει την ανήνευση σε περιπτώσεις αντιγόνων χαμηλής έκφρασης. Καλύπτεται από ένα ή περισσότερα από τα ακόλουθα διπλώματα ευεργετεχνίας ΗΠΑ. No. 6,686,461; 6,800,728; 7,102,024; 7,173,125; 7,462,689.

Αρχή Διαδικασίας:

Αυτό το κιτ ανήνευσης μικροπολυμερών μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ανοσοϊστοχημεία τημμάτων ιστού που έχουν στερεωθεί με φορμαλίνη, ενσωματωμένα σε παραφίνη. Γενικά, η ανοσοϊστοχημική (IHC) οι τεχνικές χρώσης επιτρέπουν την οπτικοποίηση των αντιγόνων μέσω της διαδοχικής εφαρμογής τους οι ειδικό αντίσωμα στο αντιγόνο (πρωτεύον αντίσωμα), ένα δευτερεύον αντίσωμα στο πρωτεύον αντίσωμα (προαιρετικό αντίσωμα σύνδεσης/ανιχνευτής), ένα σύμπλεγμα ενζύμων και ένα χρωμογόνο υπόστρωμα με παρεμβαλλόμενα στάδια έκπλυσης. Η ενζυματική ενεργοποίηση του χρωμογόνου έχει ως αποτέλεσμα ένα ορατό προϊόν αντιδραστης στη θέση του αντιγόνου. Στη συνέχεια, το δείγμα μπορεί να αντιχρωματιστεί και να γλιστρήσει το κάλυμμα. Τα αποτελέσματα ερμηνεύονται χρησιμοποιώντας ένα φως μικροσκόπιο και βοήθεια στη διαφορική διάγνωση παθοφυσιολογικών διεργασιών, που μπορεί ή μπορεί να μην σχετίζεται με ένα συγκεκριμένο αντιγόνο.

Υλικά και Μέθοδοι:

Παρεχόμενα αντιδραστήρια:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

Ανασύσταση, Ανάμιξη, Αραιώση, Τιτλοδότηση:

Τα αντιδραστήρια του κιτ ανήνευσης μικρο-πολυμερών είναι βελτιστοποιημένα και έτοιμα για χρήση με αντισώματα Biocare και βοηθητικά αντιδραστήρια. Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμιξη, αραιώση ή τιτλοδότηση.

Γνωστές Εφαρμογές:

Ανοσοϊστοχημεία (ιστοί ενσωματωμένοι σε παραφίνη σταθεροποιημένοι με φορμαλίνη)

Είδος Δραστικότητα:

Βαριές και ελαφριές αλυσίδες IgG ποντικού και κουνελιού

Παρέχονται ως:

MACH 4 Universal AP Probe – UP536

Ρυθμισμένο αλατούχο διάλυμα, pH 7,2-7,4, που περιέχει φορέα απρωτεΐνης και λιγότερο από 0,1% συντρητικό αζήδιο του νατρίου. Δείτε το Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας για πρόσθετες λεπτομέρειες.

MACH 4 Universal AP Polymer – MRAP536

Ρυθμισμένο αλατούχο διάλυμα, pH 7,6-7,8, που περιέχει φορέα απρωτεΐνης και λιγότερο από 0,01% ProClin 300 και/ή λιγότερο από 0,5% ProClin 950 ως συντρητικό. Δείτε το Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας για πρόσθετες λεπτομέρειες.

Υλικά και αντιδραστήρια που χρειάζονται αλλά δεν παρέχονται:

αντικείμενοφόροι πλάκες μικροσκοπίου, θετικά φορτισμένοι

Θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες ιστού

Desert Chamber* ή παρόμοιος φούρνος ξήρανσης (προαιρετικό)

Υποκατάστατο ξυλείνιο ή ξυλείνιο

Αιθανόλη ή αλκοόλη αντιδραστηρίου

Θάλαμος απομάκρυνσης* ή παρόμοιος χύτρα ταχύτητας (προαιρετικό)

Απονισμένο ή αποσταγμένο νερό

Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης*

Αντιδραστήρια προεπεξεργασίας* (προαιρετικό)

Πέψη ενζύμου* (προαιρετικό)

μπλοκ υπεροξειδάσης* (προαιρετικό)

μπλοκ πρωτεΐνων* (προαιρετικό)

Πρωτεύον αντίσωμα*

Αντιδραστήρια αρνητικού ελέγχου*

Χρωμογόνα*

Αιματοξυλίνη* (αντιχρωματισμός)

Μπλε αντιδραστήριο*

Μέσο

τοποθέτησης

φωτός μικροσκοπίου (μεγέθυνση 40-400X)

* Ιατρικά προϊόντα Biocare: Ανατρέξτε στον ιστότοπο της Biocare Medical που βρίσκεται στη διεύθυνση <http://biocare.net> για περισσότερες

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Greek

BIOCARE
MEDICAL

πληροφορίες σχετικά με τους αριθμούς καταλόγων και τις παραγγελίες.
Ορισμένα αντιδραστήρια που αναφέρονται παραπάνω βασίζονται σε συγκεκριμένη εφαρμογή και σύστημα ανίχνευσης που χρησιμοποιείται.

Αποθήκευση και σταθερότητα:

Φυλάσσετε σε θερμοκρασία 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 οποιεδήποτε συνθήκες εκτός από αυτές που καθορίζονται πρέπει να επαληθεύεται. Τα αντιδραστήρια του κιτ 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 παρατηθεί απροσδόκητη χρώση που δεν μπορεί να εξηγηθεί από διαφορές στις εργαστηριακές διαδικασίες και υπάρχει υποψία για πρόβλημα με το αντίσωμα, 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 ενωμάτωση παραφίνης. Οι οστικοί ιστοί θα πρέπει να απαριθμούνται 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 ενωμάτωμένοι 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(b) ότι «Το εργαστήριο πρέπει να διατηρεί λεκιασμένες αντικειμενοφόρους πλάκες τουλάχιστον δέκα χρόνια από την ημερομηνία έξταση και διατήρηση των τρημάτων δειγμάτων τουλάχιστον δύο χρόνια από την ημερομηνία έξτασης.»³

Θεραπεία ιστών πριν από τη χρώση:

Εκτελέστε Ανάκτηση Επιτόπου Προκαλούμενη από Θερμότητα (HIER) σύμφωνα με το παρακάτω συνιστώμενο πρωτόκολλο. 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 0,1% αζίδιο του νατρίου. Οι συγκεντρώσεις μικρότερες από 0,1% δεν είναι επικίνδυνα υλικά που μπορούν να αναφερθούν σύμφωνα με το US 29 CFR 1910.1200, την ανακοίνωση κινδύνου OSHA και την Οδηγία 91/155/ΕC της ΕΚ. Το αζίδιο του νατρίου (NaN) που χρησιμοποιείται ως συντριπτικό είναι τοξικό εάν καταποθετεί. Ο τοξικό του νατρίου μπορεί να αντιδράσει με τις υδραυλικές εγκαταστάσεις μολύβδου και χαλκού για να σχηματίσει εξαιρετικά εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Μετά την απόρριψη, ξεπλύνετε με μεγάλες ποσότητες νερού για να αποτρέψετε τη συσσώρευση αζίδων στις υδραυλικές εγκαταστάσεις. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶

2. Τα αντιδραστήρια του κιτ περιέχουν λιγότερο από 0,05% ProClin 300 και/ή λιγότερο από 1% ProClin 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.

3. 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.^{7,8}

4. Τα δείγματα, πριν και μετά τη στερέωση, και όλα τα υλικά που εκτίθενται σε αυτά 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.⁹

5. Η μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της μη ειδικής χρώσης.

6. Χρόνοι επώασης ή θερμοκρασίες διαφορετικές από αυτές που καθορίζονται μπορεί να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Ο χρήστης πρέπει να επικυρώσει οποιαδήποτε τέτοια αλλαγή.

7. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο φιαλίδιο.

8. 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.

9. Ακολουθήστε τις απαιτήσεις των τοπικών ή/και κρατικών αρχών για τη μέθοδο απόρριψη.

10. Το SDS είναι διαθέσιμο κατόπιν αιτήματος και βρίσκεται στη διεύθυνση <http://biocare.net>.

Αυτό το κιτ ανίχνευσης μικροπολυμερών περιέχει συστατικά ταξινομημένα όπως υποδεικνύεται στον παρακάτω πίνακα σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΚ) Αρ. 1272/2008.

Κίνδυνος	Code	Δήλωση κινδύνου
	H317	Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση.
N/A	H402 H412	Επιβλαβές για την υδρόβια ζωή. Επιβλαβές για την υδρόβια ζωή με μακροχρόνιες επιπτώσεις.

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 και οι θερμοκρασίες επώασης θα ποικίλουν ανάλογα με το συγκεκριμένο πρωτόκολλο αντισωμάτων που ακολουθείται.

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. Αποπαραφίνη: Αποπαραφίνοντος διαφανεών σε Slide Brite ή ξυλόλιο. Η ενυδάτωση ολισθαίνει σε μια σειρά από διαβαθμισμένες αλκοόλες σε νερό.

2. Μπλοκ υπεροξειδίου (προαιρετικό): Αποκλεισμός για 5 λεπτά με Peroxidased 1.

3. Διάλυμα/Πρωτόκολλο προεπεξεργασίας: Ανατρέξτε στο αντίστοιχο φύλλο δεδομένων πρωτογενούς αντισώματος για το προτεινόμενο διάλυμα και πρωτόκολλο προεπεξεργασίας.

4. Μπλοκ πρωτεΐνης (προαιρετικό): Επωάστε για 5-10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (RT) με Background Punisher.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Greek

BIOCARE
MEDICAL

5. Πρωτεύον αντίσωμα: Ανατρέξτε στο αντίστοιχο φύλλο δεδομένων πρωτογενούς αντισώματος για το χρόνο επώασης.
6. Ανίχνευτής (μόνο αντισώματα ποντικού): Επωάστε για 5-15 λεπτά σε RT με MACH 4 Universal AP Probe.
7. Πολυμερές: Επωάστε για 10-20 λεπτά για αντισώματα ποντικού ή 30 λεπτά για αντισώματα κουνελιού σε RT με πολυμερές MACH 4 MR AP.
8. Χρωμογόνο: Επωάστε για 5 λεπτά σε ΘΔ με Warp Red.
9. Αντίχρηση: Αντίχρηση με αιματοξύληνη. Ξεπλύνετε με αποιονισμένο νερό. Εφαρμόστε Tacha's Blueing Solution για 1 λεπτό. Ξεπλύνετε με αποιονισμένο νερό.

Τεχνικές σημειώσεις:

1. Χρησιμοποιήστε TBS μόνο για βήματα πλύσης. Τα ρυθμιστικά διαλύματα πλύσης PBS θα αναστείλουν τη χρώση της αλκαλικής φωσφατάσης.
2. Μη χρησιμοποιείτε ορό κατοίκας ως μπλοκ πρωτεΐνης. Μην χρησιμοποιείτε το Background Eraser ή Background Terminator.

Ποιοτικός έλεγχος:

Ανατρέξτε στα πρότυπα ποιότητας CLSI για το σχεδιασμό και την εφαρμογή των δοκιμασιών ανοσοϊστοχημείας. Εγκεκριμένη Οδηγία-Δεύτερη έκδοση (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA ΗΠΑ (www.clsi.org). 2011¹⁰

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(a) δείγμα(a) ασθενούς. Οι θετικοί έλεγχοι ιστών είναι ενδεικτικοί των σωτά 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 δινεί ασθενή θετική χρώση. Το χαμηλό επίπεδο θετικότητας για εξωτερικούς θετικούς ελέγχους έχει σχεδιαστεί έτσι ώστε να διασφαλίζει την ανίχνευση ανεπαίσθητων αλλαγών στην ευαίσθησία 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 διάγνωσης ασθενών. Εάν οι θετικοί μάρτυρες ιστού δεν καταφέρουν να επιδείξουν θετική χρώση, τα αποτελέσματα με τα δείγματα δοκιμής θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

Αρνητικός μάρτυρας ιστού:

Χρησιμοποιήστε ένα αρνητικό μάρτυρα ιστού σταθεροποιημένο, επεξεργασμένο και ενσωματωμένο με τρόπο πανομοιότυπο με το(τα) δείγμα(a) ασθενούς με κάθε διαδικασία χρώσης για να επαληθεύσετε την ειδικότητα του πρωτογενούς αντισώματος IHC για επίδειξη του αντιγόνου στόχου και για παροχή ένδειξης ειδικής χρώσης υποβάθρου (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 επαληθεύση της απόδοσης του IHC Προδιαγραφές. 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 μάρτυρας αρνητικού αντιδραστηρίου:

Χρησιμοποιήστε έναν μη ειδικό μάρτυρα αρνητικού αντιδραστηρίου στη θέση του πρωτογενούς αντισώματος με μια τομή κάθε δείγματος ασθενούς για να αξιολογήσετε τη μη ειδική χρώση και

να επιτρέψετε την καλύτερη ερμηνεία της ειδικής χρώσης στη θέση του αντιγόνου. Στην ιδιαίτερη περίπτωση, ένας αρνητικός μάρτυρας αντιδραστηρίου περιέχει ένα αντίσωμα που παράγεται και παρασκεύαζεται (δηλαδή αραιωμένο στην ίδια συγκέντρωση χρησιμοποιώντας το ίδιο αραιωτικό) για χρήση με τον ίδιο τρόπο όπως το πρωτεύον αντισώμα, αλλά δεν παρουσιάζει ειδική αντιδραστικότητα με ανθρώπινους ιστούς στην ίδια μήτρα/διάλυμα με το αντίσωμα Biocare. Το αραιωτικό μόνο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως λιγότερο επιθυμητή εναλλακτική λύση στα προηγουμένων περιγραφέντα αρνητικά αντιδραστηρία ελέγχου. Η περίοδος επώασης για τον αρνητικό μάρτυρα αντιδραστηρίου πρέπει να αντιστοιχεί σε αυτή του πρωτογενούς αντισώματος.

Όταν χρησιμοποιούνται πάνει πολλών αντισωμάτων σε σειριακές τομές, οι αρνητικά χρωματισμένες περιοχές μιας αντικειμενοφόρου πλάκας μπορεί να χρησιμεύσουν ως έλεγχος υποβάθρου 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, αβδίνη-βιοτίνη, στρεπταβίδινη) 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 εξωτερικών ιστών με γνωστά ανοσοϊστοχημικά χαρακτηριστικά απόδοσης που αντιπροσωπεύουν γνωστούς θετικούς και αρνητικούς ιστούς. Ανατρέξτε στις διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου που περιγράφονται προηγουμένως σε αυτήν την ενότητα του ένθετου προϊόντος και στις συστάσεις ποιοτικού ελέγχου του Προγράμματος πιστοποίησης CAP¹¹ για την ανοσοϊστοχημεία ή/και στην κατευθυντήρια γραμμή NCCLS IHC¹². 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 επαληθεύση της ανάλυσης.

Αντιμετώπιση προβλημάτων:

Ακολουθήστε τις συστάσεις του ειδικού πρωτοκόλλου αντισώματος 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 MACH 4 Universal AP Polymer Kit παράγει μια αντιδραση κόκκινου χρώματος στις θέσεις αντιγόνου που εντοπίζονται από το πρωτεύον αντισώμα. Πριν από την ερμηνεία των αποτελέσμάτων των ασθενών, η χρώση των μαρτύρων πρέπει να αξιολογηθεί από εξειδικευμένο παθολόγο. Οι αρνητικοί μάρτυρες αξιολογούνται και συγκρίνονται με βαρμένες 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 ενδεικυνθόμενο αντισώμα θα πρέπει να εξεταστεί πρώτα για διαπιστωθεί ότι όλα τα αντιδραστήρια λειτουργούν σωστά. Η κατάλληλη χρώση των κυττάρων-στόχων (όπως υποδεικνύεται 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.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Greek

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.¹³ Όταν χρησιμοποιείται αντιχρώση, ανάλογα με το μήκος επώασης και την ισχύ της αντιχρώσης που χρησιμοποιείται, η αντιχρώση θα οδηγήσει σε χρωματισμό των πυρήνων των κυττάρων. Η υπερβολική ή ατελής αντιχρώση μπορεί να θέσει σε κίνδυνο τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Ανατρέξτε στο(a) πρωτόκολλο(a) για προτεινόμενη αντιχρώση.

Αρνητικός μάρτυρας ιστού:

Ο αρνητικός μάρτυρας ιστού θα πρέπει να εξετάζεται μετά τον θετικό έλεγχο ιστού για να επαληθευτεί η ειδικότητα της επισήμανσης 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:

Εξέταστε δείγματα ασθενών που έχουν χρωματιστεί με ενδεικυόμενο αντίσωμα τελευταίος. 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 απουσιάζε στα κύτταρα/ιστό που προσδιορίστηκαν. Εάν είναι 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 ενδεικυόμενη ανοσοαντιδραστικότητα αντισωμάτων.

Περιορισμοί:

Γενικοί Περιορισμοί:

- Για *in vitro* διαγνωστικής (IVD)
- Αυτό το προϊόν προορίζεται μόνο για επαγγελματική χρήση: Η ανοσοϊστοχημεία είναι μια διαγνωστική διαδικασία πολλαπλών σταδίων που αποτελείται από εξειδικευμένη εκπαίδευση στην επιλογή των κατάλληλων αντιδραστηρίων, επιλογή, στερέωση και επεξεργασία ιστού, προετοιμασία της διαφάνειας IHC, και ερμηνεία των αποτελεσμάτων χρώσης.
- Για χρήση μόνο με συνταγή γιατρού. (Μόνο Rx)
- Η χρώση των ιστών εξαρτάται από τον χειρισμό και την επεξεργασία του ιστού πριν από τη χρώση. Η ακατάλληλη στερέωση, κατάψυξη, απόψυξη, πλύσιμο, στέγνωμα, θέρμανση, κοπή ή μόλυνση με άλλους ιστούς ή υγρά μπορεί να προκαλέσει τεχνονοργήματα, παγίδευση αντισωμάτων ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Τα ασυνεπή αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται σε παραλλαγές στις μεθόδους στερέωσης και ενσωμάτωσης ή σε εγγενείς ανωμαλίες εντός του ιστού.¹⁴
- Η υπερβολική ή ατελής αντιχρώση μπορεί να θέσει σε κίνδυνο τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων.
- Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε θετικής ή αρνητικής χρώσης θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο της κλινικής εικόνας, της μορφολογίας και

BIOCARE
M E D I C A L

άλλων ιστοπαθολογικών κριτηρίων. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε θετικής ή αρνητικής χρώσης θα πρέπει να συμπληρώνεται από μορφολογικές μελέτες με χρήση κατάλληλων θετικών και αρνητικών ειωθερικών και εξωθερικών μαρτύρων καθώς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων. Η ερμηνεία όλων των βιημάτων 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.

- 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 τμήματος ιστού και το κίτ 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.
- Αυτό το προϊόν δεν προορίζεται για χρήση στην κυτταρομετρία ροής. Τα χαρακτηριστικά απόδοσης δεν έχουν προσδιοριστεί για την κυτταρομετρία ροής.
- Οι ιστοί από άτομα μολυσμένα με τον ίο της ηπατίτιδας B και που περιέχουν επιφανειακό αντιγόνο ηπατίτιδας B (HBsAg) μπορεί να εμφανίσουν μη ειδική χρώση με υπεροξειδάση χρέουν.¹⁵
- 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.¹⁶ 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.
- Φυσιολογικοί/μη-άνοσοι οροί από την ίδια ζωική πηγή με τους δευτερογενείς αντιορούς που χρησιμοποιούνται στα βήματα αποκλεισμού μπορεί να προκαλέσουν ψευδώς αρνητικά ή ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω αυτοαντισωμάτων ή φυσικών αντισωμάτων.
- Εσφαλμένα θετικά αποτέλεσμα μπορεί να παρατηρηθούν λόγω μη ανοσολογικής δέσμευσης πρωτεΐνων ή προϊόντων αντιδρασης υποστρώματος. Μπορεί επίσης να προκληθούν από δραστηριότητα ψευδο-υπεροξειδάσης (ερυθροκύτταρα), ενδογενή δραστηριότητα υπεροξειδάσης (κυτόχρωμα C) ή ενδογενή βιοτίνη (π.χ. ήπαρ, μαστός, εγκέφαλος, νεφρός) ανάλογα με τον τύπο της ανοσοχρήσης που χρησιμοποιείται.¹⁴
- Ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το αντιγόνο δεν ανιχνεύτηκε, όχι ότι το αντιγόνο απουσιάζε στα κύτταρα ή στον ιστό που εξετάστηκαν.

Ειδικοί περιορισμοί προϊόντος:

Δεν υπάρχουν πρόσθετοι περιορισμοί για το συγκεκριμένο προϊόν.

Χαρακτηριστικά απόδοσης:

Η χρώση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση πρωτοκόλλων που παρέχονται στις ειδικές οδηγίες χρήσης αντισώματος ή όπως καθορίζεται. Η ευαίσθησία και η ειδικότητα της χρώσης αξιολογήθηκαν σε ένα εύρος τύπων φυσιολογικών και νεοπλασματικών ιστών που αξιολογήθηκαν κατά την ανάπτυξη πρωτογενών αντισωμάτων.

Αναπαραγωγή:

Η αναπαραγωγή προϊόντα των συστημάτων ανίχνευσης 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 εξόπλισμό. Η χρώση που

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Greek

BIOCARE
M E D I C A L

λήφθηκε για κάθε αντιδραστήριο ανίχνευσης που αξιολογήθηκε ήταν συνεπής και εκτελέστηκε όπως αναμενόταν.

Αντιμετώπιση προβλημάτων:

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

Παραπομπές:

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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.

15. 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.
16. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Hungarian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Felhasználás:

In vitro diagnosztikai használatra

A MACH 4 univerzális AP polimer készlet manuális vagy automatizált immunhisztokémiai (IHC) festési protokollokhoz készült, alkalikus foszfatáz (AP) polimer egy- vagy kétrétegű felhordási módszerrel. Ezt a mikropolimer-detektáló készletet az egér IgG és IgM és/vagy a nyúl IgG primer antitestek kimutatására terveztek, amelyek a formalinnal fixált, paraffinba ágyazott (FFPE) szövetekben a céltantígenekhez kötődnek az IHC festési folyamat során. Bárminyi festődés vagy annak hiánya klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegészíteni, és a beteg klinikai anamnézisének és egyéb diagnosztikai vizsgálatainak összefüggésében kell értékelnie egy szakképzett patológusnak.

Összefoglalás és magyarázat:

A MACH 4 univerzális AP polimer készletet egy- vagy kétrétegű módszerrel terveztek egér és/vagy nyúl elsőleges antitestéinek kimutatására antitest-enzim komplex létrehozása céljából. Ezt a komplexet azután megfelelő szubsztrát/kromogén segítségével vizualizáljuk. Az egylépéses módszernél a mikropolimerhez közvetlenül kapcsolt másodlagos antitestet alkalmazunk, míg a kétrétegű módszernél a másodlagos antitestet jelölünk, és egy további, enzimhez kötött polimerrel jelölt reagenst alkalmazunk egymás után. A kétrétegű módszert arra terveztek, hogy az alacsony expressziójú antigének esetében felerősítse a kimutatást. A következő US Pat. 6,686,461; 6,800,728; 7,102,024; 7,173,125; 7,462,689.

Az eljárás elve:

Ez a mikropolimer-detektáló készlet formalinnal fixált, paraffinba ágyazott szövetsmetszetek immunhisztokémiai vizsgálatához használható. Általában az immunhisztokémiai (IHC) A festési technikák lehetővé teszik az antigének láthatóvá tételét az a specifikus antitest az antigén ellen (elsőleges antitest), egy másodlagos antitest az elsőleges 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 a fedél elcsúsztatható. Az eredményeket fény segítségével értelmezzük mikroszkóppal és segítséget nyújt a körélettani folyamatok differenciál-diagnosztikában, amely lehet, ill nem kapcsolódhat egy adott antigénhez.

Anyagok és módszerek:

Mellékelt reagensek:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

Feloldás, Keverés, Hígítás, Titrálás:

A mikropolimer-detektáló készlet reagense(i) optimalizáltak, és használatra készek a Biocare antitestekkel és kiegészítő reagensekkel. Nincs szükség feloldásra, keverésre, hígításra vagy titrálásra.

Ismert alkalmazások:

Immunhisztokémia (formalinban rögzített paraffinba ágyazott szövetek)

Faj Reaktivitás:

Egér és Nyúl IgG nehéz és könnyű láncai

Szállítás:

MACH 4 univerzális AP szonda – UP536

Pufferolt sóoldat, pH 7,2-7,4, aprotein hordozót és kevesebb, mint 0,1% nátrium-azid tartósítószert tartalmaz. További részletekért lásd a biztonsági adatlapot.

MACH 4 univerzális AP polimer – MRAP536

Pufferolt sóoldat, pH 7,6-7,8, amely aprotein hordozót és kevesebb mint 0,01% ProClin 300-at és/vagy kevesebb, mint 0,5% ProClin 950-et tartalmaz tartósítószerként. További részletekért lásd a biztonsági adatlapot.

Szükséges, de nem mellékelt anyagok és reagensek:

Mikroszkóp tárgylemezek, pozitív töltésű

Pozitív és negatív szövetkontrollok

Sivatagi kamra* vagy hasonló Szárító sütő (opcionális)

Xilol vagy xilol helyettesítője

Etanol vagy reagens alkohol

Decloaking kamra* vagy hasonló nyomástartó főzőlap (opcionális)

Ionmentesített vagy desztillált víz

Mosópuffer*

Előkezelő reagensek* (opcionális)

Enzimes emésztés* (opcionális)

Peroxidáz blokk* (opcionális)

Protein blokk* (opcionális)

Elsőleges antitest*

Negatív kontrollreagensek*

Kromogének*

* (ellenfesték)

Kék reagens*

Rögzítő közeg*

Fedőüveg

fény mikroszkóp (40-400-szoros nagyítás)

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

Tárolás és stabilitás:

2°C és 8°C között tárolandó. A termék az injekciós üveg címkején 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.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Hungarian

BIOCARE
M E D I C A L

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, lépjen 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 beágyazás előtti használatra. A csontszövegeteket a szövetfeldolgozás előtt vízköteleníteni kell a szövetvágás megkönyítése és a mikrotom pengéi károsodásának elkerülése érdekében.^{1,2}

A megfelelően rögzített és beágyazott, a meghatározott antigén célpontot expresszáló szöveteket hűvös helyen kell tárolni. Az 1988. évi Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) 42. cikkében a CFR 493.1259(b) bekezdése előírja, hogy „A laboratóriumnak legalább tíz évig meg kell őriznie a megfestett tárgylemezeket megvizsgálja és megőrzi a mintatömbököt a vizsgálat időpontjától számított legalább két évig.”³

Szövetek kezelése festés előtt:

Végezze el a hő hatására indukált epitóp-visszakeresést (HIER) az alábbi javasolt protokoll szerint. Kimutatták, hogy a HIER rutinszerű használata az IHC előtt minimálisra csökkenti az inkonziszenciát és szabványosítja a festődést.^{4,5}

Figyelmeztetés és óvintézkedések:

1. A kit reagens(ek) kevesebb, mint 0,1% nátrium-azidot tartalmaznak. A 0,1%-nál kisebb koncentrációk nem jelentendő veszélyes anyagok az US 29 CFR 1910.1200, az OSHA Hazard Communication és a 91/155/EC EK irányelv szerint.nátrium-azid (Na₂CO₃) lenyelve mérgező. A nátrium-azid reakcióba léphet az ólom- és rézvezetékkel, és erősen robbanásveszélyes fém-azidotokat képezhet. Ártalmatlantánáskor öblítse le nagy mennyiségű vízzel, hogy megakadályozza az azidotok felhalmozódását a vízvezetékekben. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶
2. A kit reagensek kevesebb mint 0,05% ProClin 300-at és/vagy kevesebb, mint 1% ProClin 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 túlérzékenységet okozhat. Kerülje a szembe, bőre és nyálkahártyákkal való érintkezést.
3. Az emberi vagy állati eredetű anyagokat potenciálisan biológiaileg veszélyesekként kezelje, és megfelelő óvintézkedésekkel ártalmatlánítsa az ilyen anyagokat. Expozició esetén kövesse az illetékes hatóságok egészségügyi irányelvét.^{7,8}
4. A mintákat a rögzítés előtt és után, valamint az ezeknek kitett anyagokat úgy kell kezelní, mintha képesek lennének fertőzést továbbítani, és megfelelő óvintézkedésekkel kell ártalmatlantani. Soha ne pipettázzon reagenseket szájon át, és kerülje a bőrrel és a nyálkahártyákkal való érintkezést a reagensekkel és a mintákkal. Ha a reagens vagy a minták érzékeny területekkel érintkeznek, mossa le bő vízzel.⁹
5. A reagensek mikrobiális szennyeződése a nem specifikus festődés növekedését eredményezheti.
6. A megadottól eltérő inkubációs idők vagy hőmérsékletek hibás eredményeket adhatnak. A használónak minden ilyen változtatást érvényesítene kell.
7. Ne használja fel a reagenst az injektációs üvegre nyomtatott lejáratú idő után.
8. 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 protokollokhöz és használati feltételekhez.
9. Kövesse a helyi és/vagy állami hatóságok előírásait az ártalmatlantás módjára vonatkozóan.
10. Az SDS kérésre elérhető, és a <http://biocare.net> címen.

11. Jelentse az eszközzel kapcsolatos minden súlyos eseményt a Biocare helyi képviselőjével és a felhasználó tartózkodási helye szerinti tagállam vagy ország illetékes hatóságával.

Ez a mikropolimer-érzékelő készlet az alábbi táblázat szerint osztályozott összetevőket tartalmaz az 1272/2008/EK rendelettel összhangban.

Veszély	Code	Veszélyességi nyilatkozat
	H317	Allergiás bőrreakciót válthat ki.
N/A	H402 H412	Ártalmas a vízi élővilágra. Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.

Használati utasítás:

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 protokollokhöz és használati feltételekhez. Az inkubációs idők és hőmérsékletek a követett specifikus antitest protokoltól függően változnak.

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

Az IHC végrehajtásának általános lépései:

1. Paraffinmentesítés: Paraffinmentesítse a tárgylemezeket Slide Brite-ben vagy xilolban. A lemezeket osztályozott alkoholok sorozatában hidratálja vízzel.
2. Peroxid blokk (opcionális): Blokkolja 5 percig Peroxidáz 1-gyel.
3. Előkezelési oldat/protokoll: Kérjük, olvassa el a megfelelő elsődleges antitest adatlaphját az ajánlott előkezelési oldathoz és protokollhoz.
4. Protein Block (opcionális): Inkubálja 5-10 percig szobahőmérsékleten (RT) a Background Punisher segítségével.
5. Primer antitest: Kérjük, olvassa el a megfelelő elsődleges antitest adatlaphját az inkubációs idővel kapcsolatban.
6. Próba (csak egér antitestek): Inkubálja 5-15 percig szobahőmérsékleten MACH 4 Universal AP Probe-val.
7. Polímer: Inkubálja 10-20 percig egér antitestek vagy 30 percig nyúl antitestek esetén szobahőmérsékleten MACH 4 MR AP polimerrrel.
8. Kromogén: Inkubálja 5 percig szobahőmérsékleten Warp Red-el.
9. Ellenfestés: Ellenfestés hematoxilinnel. Öblítse le ioncserélő vízzel. Alkalmazza a Tacha's Blueing Solution-t 1 percig. Öblítse le ioncserélő vízzel.

Műszaki megjegyzések:

1. A TBS-t csak a mosási lépésekhez használja. A PBS mosóbufferek gátolják az alkalikus foszfátaz festődést.
2. Ne használjon kecskeszérumot fehérjeblokkként. Ne használjon Background Eraser vagy Background Terminator.

Minőségellenőrzés:

Lásd a CLSI minőségi szabványokat az immunhisztokémiai vizsgálatok tervezésére és végrehajtására vonatkozóan; Jóváhagyott útmutató – Második kiadás (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011¹⁰

Pozitív szövetkontroll: A

külső pozitív kontroll anyagoknak friss mintáknak kell lenniük, amelyeket rögzítettek, feldolgoztak és a lehető leghamarabb beágyaztak, ugyanúgy, mint a páciens mintáit. A pozitív szövetkontroll a megfelelően előkészített

Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

45/114



TP v2 (02/09/2023)

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

EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Hungarian

BIOCARE
M E D I C A L

sövegetet és a megfelelő festési technikákat jelzi. minden egyes vizsgálati körülmenyhez egy pozitív külső szövetkontrollt kell bevonni minden festési futtatásba.

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

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

Negatív szövetkontroll:

Használjon negatív szöveti kontrollt, amelyet a beteg mintáival azonos módon rögzítettek, feldolgoztak és beágyaztak minden festési futtatáshoz, hogy ellenőrizze az IHC elsődleges antitest specifitását a célantigén kimutatása, valamint a specifikus háttérfestődés jelzése (téves pozitív festés). Ezenkívül a legtöbb szövetszetben jelenlévő különféle sejtípusok sokfélesége képes a laboratórium belső negatív kontrollhelyként használja az IHC teljesítményének ellenőrzésére specifikációk. A negatív szövegetekhez használható minták típusai és forrásai A vezérőelemek a Teljesítményjellemzők részben találhatók.

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

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 tegye 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 hígított ugyanazzal a hígítószerrrel) felhasználásra, ugyanúgy, mint az elsődleges antitest, de nem mutat specifikus reaktivitást az emberi szövegettel ugyanabban a mátrixban/oldatban, mint a Biocare antitest. A korábban leírt negatív reagens kontrollok kevésbé kívánatos alternatívájaként a hígító önmagában is használható. A negatív reagens kontroll inkubációs időszakának meg kell egyeznie az elsődleges antitest inkubációs időszakával.

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

Vizsgálat ellenőrzése:

Mielőtt egy antitestet vagy festőrendszeret diagnosztikai eljárásban használna, a felhasználónak ellenőriznie kell az antitest specifitását úgy, hogy számos, ismert immunhisztokémiai teljesítményjellemzőkkel rendelkező, ismert pozitív és negatív szövegetet képviselő házon belüli szöveten teszeli. Tekintse meg a termékismertető és szakaszában korábban felvázolt minőség-ellenőrzési eljárásokat, valamint a CAP Immunhisztokémiai Tanúsítási

Program¹¹ és/vagy az NCCLS IHC-irányelvét¹². Ezeket a minőség-ellenőrzési eljárásokat meg kell ismételni minden új antitest-tételnél, vagy amikor a vizsgálati paraméterek megváltoznak. A Teljesítményjellemzők részben felsorolt szöveget alkalmasak a teszt ellenőrzésére.

Hibaelhárítás:

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

A festés értelmezése:

A MACH 4 Universal AP Polymer Kit vörös színreakciót vált ki az elsődleges antitest által lokalizált antigén helyeken. A betegek eredményeinél értelmezés előtt a kontrollok festését szakképzett patológusnak kell értékelnie. A negatív kontrollokat értékeljük és összehasonlítjuk a festett tárgylemezekkel, hogy megbizonyosodjunk arról, hogy a megfigyelt festődés nem nem specifikus kölcsönhatás eredménye.

Positív szövetkontroll:

A jelzett antitesttel megfestett pozitív szöveti kontrollt először meg kell vizsgálni, hogy megbizonyosodjunk arról, hogy minden reagens megfelelően működik. A célfelületek megfelelő festése (amint azt fentebb jelezünk) 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 várható színreakciókért láasd az aljzat csomagolását. Ezenkívül a festési módszer változataiban metakromázia figyelhető meg.¹³

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

Negatív szöveti kontroll:

A negatív szöveti kontrollt a pozitív szöveti kontroll után meg kell vizsgálni, hogy ellenőrizzük a célantigén 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 festési eredmények értelmezéséhez. A nekrotikus vagy degenerált sejtek gyakran nem specifikusan festődnak.

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 tesztnál, 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 reakciók azonosításához.

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

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Hungarian

BIOCARE
MEDICAL

Korlátozások:

Általános korlátozások:

1. In vitro diagnosztikai (IVD) használatra
2. Ez a termék csak professzionális használatra készült: Az immunhisztokémia egy többlepcsős 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 orvosi rendelvényre használható. (Csak Rx)
4. A szövetfestés a szövet festés előtti kezelésétől és feldolgozásától függ. A nem megfelelő rögzítés, fagyaszta, felolvastás, mosás, szárítás, 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.¹⁴
5. A túlzott vagy hiányos ellenfestés veszélyeztetheti az eredmények megfelelő értelmezését.
6. Bármely 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 kontrollerek, valamint egyéb diagnosztikai tesztek alkalmazó morfológiai vizsgálatokkal kell kiegészíteni. Az IHC antitestek, reagensek és módszerek megfelelő használatát ismerő szakképzett patológus feladata, hogy értelmeze a végös IHC-készítmény elkészítéséhez és értelmezéséhez használt összes lépést.
7. Egy adott alkalmazáshoz az optimális protokollok változhatnak. Ezek közé tartozik többek között a rögzítés, a hővízzsanyerési módszer, az inkubációs idők, az antitestelhígítás, a szövetmetszet vastagsága és a használt kimutatási készlet. Tekintse meg az elsődleges antitest és más kiegészítő reagens használati útmutatóját az ajánlott protokollokhoz és használati feltételekhez. Az adatlap ajánlásai és protokolljai a Biocare termékek kizárálagos felhasználásán alapulnak. Végső soron a vizsgáló feladata az optimális feltételek meghatározása.
8. Ezt a terméket nem áramlási citometriában való használatra terveztek. 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 festődést mutathatnak.¹⁵
10. A reagensek váratlan reakciókat válthatnak ki korábban nem tesztelt szövetekben. A nem várt reakciók lehetősége még a vizsgált szövetcsoportokban sem zárható ki teljesen az antigénesspresszió biológiai variabilitása miatt daganatokban vagy más patológiai szövetekben.¹⁶ Forduljon a Biocare műszaki ügyfélszolgálatához az 1-800-542-2002 telefonszámon vagy a biocare.net oldalon található műszaki támogatási információkon keresztül dokumentált váratlan reakciókkal.
11. A blokkoló lépésekben használt másodlagos antiszérumokkal azonos állati forrásból származó normál/nem immunszérumban álnegatív vagy álpozitív eredményeket okozhat az autoantitestek vagy természetes antitestek miatt.
12. A fehérék vagy szubsztrát reakciótermékek nem immunológiai kötődése miatt álpozitív eredményeket lehet látni. A pszeudo-peroxidáz aktivitás (eritrociták), az endogén peroxidáz aktivitás (citokróm C) vagy az endogén biotin (pl. máj, emlő, agy, vese) is okozhatja a használt immunfestés típusától függően.¹⁴
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.

Teljesítményjellemzők: A

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

Reprodukálhatóság:

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

Hibaelhárítás:

1. Egy tárgylemez sem festődött – Ellenőrizze, hogy megfelelő pozitív kontrollszövetet, antitestet és kimutatási termékeket használt-e. Ellenőrizze a hiányos vagy nem megfelelő viaszeltávolítást vagy előkezelést.
2. Az összes tárgylemez gyengén festődött – Ellenőrizze, hogy megfelelő pozitív kontrollszövetet, 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) blokkol, például szérum- vagy kazein alapú blokkoló oldat).
4. A szövetmetszetek lemosák a tárgylemezeket az inkubáció során – Ellenőrizze a lemezeket, hogy megbízonyosodjon arról, hogy pozitív töltsések.
5. A specifikus festés túl sötét – Ellenőrizze a protokollt, hogy megállapítsa, megfelelő antitestet 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.

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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
12. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

47/114



TP v2 (02/09/2023)

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

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Hungarian

BIOCARE
M E D I C A L

- guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
- 13. 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.
 - 14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. *Lab Med* 1983; 14:767.
 - 15. 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.
 - 16. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Italian

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Uso previsto:
per *in vitro* uso diagnostico

Il MACH 4 Universal AP Polymer Kit è destinato all'uso in protocolli di colorazione immunoistochimica (IHC) manuale o automatizzata utilizzando un metodo di applicazione a uno o due passaggi del polimero della fosfatasi alcalina (AP). Questo kit di rilevamento di micropolimeri è progettato per il rilevamento di anticorpi primari IgG e IgM di topo e/o IgG di coniglio legati ad 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 dovrebbe essere integrata da studi morfologici e controlli adeguati e dovrebbe essere valutata nel contesto della storia clinica del paziente e di altri test diagnostici da un patologo qualificato.

Riepilogo e spiegazione:

Il MACH 4 Universal AP Polymer Kit è progettato utilizzando un metodo a una o due fasi per rilevare anticorpi primari di topo e/o coniglio per formare un complesso anticorpo-enzima. Questo complesso viene quindi visualizzato utilizzando un substrato/cromogeno appropriato. Nel metodo a una fase viene applicato un anticorpo secondario direttamente legato al micropolimero, mentre nel metodo a due fasi l'anticorpo secondario non è marcato e viene applicato in sequenza un ulteriore reagente marcato con un polimero legato all'enzima. Il metodo in due fasi è progettato per amplificare il rilevamento in caso di antigeni a bassa espressione. Coperto da uno o più dei seguenti brevetti statunitensi n. nn. 6.686.461; 6.800.728; 7.102.024; 7.173.125; 7.462.689.

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) tecniche di colorazione consentono la visualizzazione degli antigeni tramite l'applicazione sequenziale di un anticorpo specifico contro l'antigene (anticorpo primario), un anticorpo secondario contro l'anticorpo primario (collegamento opzionale anticorpo/sonda), un complesso enzimatico e un substrato cromogenico con fasi di lavaggio interposte. L'attivazione enzimatica del cromogeno si traduce in un prodotto di reazione visibile nel sito dell'antigene. Il campione può quindi essere controcolorato e coperto. I risultati vengono interpretati utilizzando una luce microscopio e aiuto nella diagnosi differenziale dei processi fisiopatologici, 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
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

Ricostituzione, miscelazione, diluizione, titolazione:

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

Applicazioni note:

Immunoistochimica (tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina)

Reattività della specie:

Catene pesanti e leggere IgG di topo e coniglio

Fornito come:

Sonda AP universale MACH 4 – UP536

Soluzione salina tamponata, pH 7,2-7,4, contenente un trasportatore di aproteine e meno dello 0,1% di conservante di sodio azide. Vedere la scheda di dati di sicurezza per ulteriori dettagli.

Polimero AP universale MACH 4 – MRAP536

Soluzione salina tamponata, pH 7,6-7,8, contenente un trasportatore di aproteine e meno dello 0,01% di ProClin 300 e/o meno dello 0,5% di ProClin 950 come conservante. Vedere la scheda di dati di sicurezza per ulteriori dettagli.

Materiali e reagenti necessari ma non forniti:

microscopio, caricati

positivamente Controlli tessuto positivi e negativi

Camera desertica* o simile Forno di essiccazione (opzionale)

Xilene o sostituto dello xilene

Etanolo o alcol reagente

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

Acqua deionizzata o distillata

Tampone di lavaggio*

Reagenti di pretrattamento* (opzionale)

Digestione enzimatica* (opzionale)

Blocco perossidasi* (opzionale)

Blocco proteico* (opzionale)

Anticorpo primario*

Reagenti di controllo negativo*

Cromogeni*

Ematossilina* (colorazione di contrasto)

Reagente di brunitura*

Mezzo di montaggio*

Copriobiettivo

Microscopio (ingrandimento 40-400X)

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

Conservazione e stabilità:

Conservare 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. Lo stoccaggio in condizioni diverse da

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Italian

BIOCARE
MEDICAL

quelle specificate deve essere verificato. 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 eseguiti simultaneamente 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 l'assistenza tecnica di Biocare al numero 1-800-542-2002 o tramite le informazioni di supporto tecnico fornite su biocare.net.

Preparazione dei campioni:

i tessuti fissati in formalina sono adatti per l'uso prima dell'inclusione in paraffina. I tessuti ossei devono essere decalcificati prima della lavorazione dei tessuti per facilitare il taglio dei tessuti e prevenire danni alle lame del microtomo.^{4,2}

I tessuti correttamente fissati e incorporati che esprimono il target dell'antigene 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 esaminare e conservare i blocchi di campioni per almeno due anni dalla data dell'esame."³

Trattamento dei tessuti prima della colorazione:

eseguire il recupero dell'epitopo indotto dal calore (HIER) in base al 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 dello 0,1% di sodio azide. Concentrazioni inferiori allo 0,1% non sono materiali pericolosi segnalabili secondo US 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard communication e Direttiva CE 91/155/CE. La sodio azide (NaN₃) usata come conservante è tossica se ingerita. La sodio azide può reagire con le tubature in piombo e rame formando azidi metallici altamente esplosive. Al momento dello smaltimento, sciacquare con grandi quantità d'acqua per evitare l'accumulo di azide nelle tubature. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976).
2. I reagenti del kit contengono meno dello 0,05% di ProClin 300 e/o meno dell'1% di ProClin 950. Indossare guanti e indumenti protettivi e adottare ragionevoli precauzioni 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.
3. Maneggiare i materiali di origine umana o animale come potenzialmente a rischio biologico e smaltire tali materiali con le dovute precauzioni. In caso di esposizione, seguire le direttive sanitarie delle autorità competenti ove utilizzato.^{7,8}
4. 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 campioni entrano in contatto con aree sensibili, lavare con abbondante acqua.⁹
5. La contaminazione microbica dei reagenti può comportare un aumento della colorazione aspecifica.
6. Tempi o temperature di incubazione diversi da quelli specificati possono dare risultati errati. L'utente deve convalidare tali modifiche.
7. Non utilizzare il reagente dopo la data di scadenza stampata sulla fiala.
8. 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 di altri reagenti ausiliari per i protocolli e le condizioni d'uso consigliati.
9. Seguire i requisiti delle autorità locali e/o statali per il metodo di smaltimento.

10. La SDS è disponibile su richiesta e si trova all'indirizzo <http://biocare.net>.
11. Segnalare eventuali incidenti gravi relativi a questo dispositivo contattando il rappresentante Biocare locale e l'autorità competente applicabile dello Stato membro o del paese in cui si trova l'utente.

Questo kit di rilevamento di micropolimeri contiene componenti classificati come indicato nella tabella seguente in conformità al Regolamento (CE) n. 1272/2008.

Rischio	Code	Dichiarazione di pericolo
	H317	Può causare una reazione allergica cutanea.
N/A	H402 H412	Nocivo per la vita aquatica. Nocivo per la vita aquatica con effetti di lunga durata.

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 di altri reagenti ausiliari per i protocolli e le condizioni d'uso consigliati. I tempi e le temperature di incubazione variano a seconda del protocollo anticorpale specifico 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: deparaffinazione dei vetrini in Slide Brite o xilene. Idratate i vetrini in una serie di alcoli graduati all'acqua.
2. Blocco del perossido (facoltativo): bloccare per 5 minuti con Peroxidized 1.
3. Soluzione/protocollo di pretrattamento: fare riferimento alla rispettiva scheda tecnica dell'anticorpo primario per la soluzione e il protocollo di pretrattamento consigliati.
4. Protein Block (opzionale): incubare per 5-10 minuti a temperatura ambiente (TA) con Background Punisher.
5. Anticorpo primario: fare riferimento alla rispettiva scheda tecnica dell'anticorpo primario per il tempo di incubazione.
6. Sonda (solo anticorpi murini): incubare per 5-15 minuti a temperatura ambiente con MACH 4 Universal AP Probe.
7. Polimero: incubare per 10-20 minuti per gli anticorpi di topo o 30 minuti per gli anticorpi di coniglio a temperatura ambiente con MACH 4 MR AP Polymer.
8. Cromogeno: incubare per 5 minuti a temperatura ambiente con Warp Red.
9. Controcolorazione: controcolorazione con ematossilina. Risciacquare con acqua deionizzata. Applicare la soluzione azzurrante di Tacha per 1 minuto. Risciacquare con acqua deionizzata.

Note tecniche:

1. Utilizzare TBS solo per le fasi di lavaggio. I tamponi di lavaggio PBS inibiscono la colorazione della fosfatasi alcalina.
2. Non utilizzare il siero di capra come blocco proteico. Non utilizzare Background Eraser o Background Terminator.

Controllo di qualità:

Fare riferimento a Standard di qualità CLSI per la progettazione e l'implementazione di saggi di immunoistochimica; Linea guida approvata-Seconda edizione (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011¹⁰

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Italian

BIOCARE
M E D I C A L

Controllo positivo del tessuto:

i materiali del controllo positivo esterno devono essere campioni freschi fissati, processati e inclusi il prima possibile allo stesso modo dei campioni del paziente. I controlli positivi dei tessuti sono indicativi di tessuti preparati correttamente e tecniche di colorazione adeguate. In ogni sessione di colorazione deve essere incluso un controllo positivo del tessuto esterno per ogni serie di condizioni del 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 fornisce una colorazione positiva debole. Il basso livello di positività per i controlli positivi esterni è concepito in modo da garantire il rilevamento di sottili variazioni nella sensibilità dell'anticorpo primario dovute a instabilità o problemi con la metodologia IHC. Vetrini o campioni di controllo dei tessuti disponibili in commercio trattati in modo diverso dai campioni del paziente convalidano solo le prestazioni del reagente e non verificano la preparazione del tessuto.

I controlli dei tessuti positivi noti devono essere utilizzati solo per monitorare il corretto funzionamento dei tessuti processati 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 dimostrano una colorazione positiva, i risultati con i campioni del test devono essere considerati non validi.

Controllo negativo del tessuto:

utilizzare un controllo negativo del tessuto fissato, processato e incorporato in modo identico ai campioni del paziente con ciascuna corsa di colorazione per verificare la specificità dell'anticorpo primario IHC per dimostrazione dell'antigene target e per 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 dal laboratorio 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 del tessuto negativo, i risultati con i campioni dei pazienti devono essere considerati non validi.

Controllo 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. Idealmente, un controllo reagente negativo contiene un anticorpo prodotto e preparato (ovvero diluito alla stessa concentrazione utilizzando lo stesso diluente) per l'uso allo stesso modo dell'anticorpo primario ma non presenta 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 del reagente negativo precedentemente descritti. Il periodo di incubazione per il controllo negativo del reagente deve corrispondere a quello dell'anticorpo primario.

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

Verifica del dosaggio:

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 immunoistochimiche 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 CAP¹¹ per l'immunoistochimica e/o della linea guida NCCLS IHC¹². Queste procedure di controllo della qualità devono essere ripetute per ogni nuovo lotto di anticorpo o ogni volta che si verifica un cambiamento nei parametri del test. I tessuti elencati nella sezione Caratteristiche prestazionali sono adatti per la verifica del dosaggio.

Risoluzione dei problemi:

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

Interpretazione della colorazione:

il MACH 4 Universal AP Polymer Kit produce una reazione di colore rosso nei siti dell'antigene 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 per primo per accertarsi che tutti i reagenti funzionino correttamente. La colorazione appropriata delle cellule bersaglio (come indicato sopra) è indicativa di una reattività positiva. Se i controlli positivi del tessuto non dimostrano una colorazione positiva, qualsiasi risultato con i campioni del test deve essere considerato non valido.

Il colore del prodotto di reazione può variare a seconda dei cromogeni del substrato utilizzati. Fare riferimento agli inserti della confezione del substrato per le reazioni cromatiche previste. Inoltre, la metacromasia può essere osservata nelle variazioni del metodo di colorazione.¹³ Quando si utilizza un colorante di contrasto, a seconda della durata dell'incubazione e della potenza del colorante di contrasto utilizzato, il colorante di contrasto risulterà in una colorazione dei nuclei cellulari. Una controcromasia eccessiva o incompleta può compromettere la corretta interpretazione dei risultati. Fare riferimento ai protocolli per la colorazione di contrasto consigliata.

Controllo del tessuto negativo:

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

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

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Italian

BIOCARE
M E D I C A L

Tessuto del paziente:

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

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

Limitazioni: Limitazioni

generali:

1. Per *in vitro* (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 e lavorazione dei tessuti; preparazione del vetrino IHC; e interpretazione dei risultati della colorazione.
3. Da utilizzare solo su prescrizione medica. (Solo Rx)
4. La colorazione del tessuto dipende dalla manipolazione e dall'elaborazione del tessuto prima della colorazione. La fissazione, il congelamento, lo scongelamento, il lavaggio, l'asciugatura, il riscaldamento, il sezionamento o la 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.¹⁴
5. Una controcicolorazione eccessiva o incompleta può compromettere la corretta interpretazione dei risultati.
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 dovrebbe essere integrata da studi morfologici che utilizzino controlli interni ed esterni positivi e negativi appropriati, nonché altri test diagnostici. È responsabilità di un patologo qualificato che abbia familiarità con l'uso corretto di anticorpi, reagenti e metodi IHC per 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 dell'anticorpo, spessore della sezione di tessuto e kit di rilevamento utilizzato. Fare riferimento alle istruzioni per l'uso dell'anticorpo primario e di altri reagenti ausiliari per i protocolli e le condizioni d'uso consigliati. Le raccomandazioni ei protocolli della scheda tecnica si basano sull'uso esclusivo dei prodotti Biocare. In definitiva, è responsabilità dell'investigatore determinare le condizioni ottimali.
8. Questo prodotto non è destinato all'uso in 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 perossidasi di rafano.¹⁵
10. I reagenti possono mostrare reazioni impreviste in tessuti precedentemente non testati. La possibilità di reazioni impreviste 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.¹⁶ 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 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. Risultati falsi positivi possono essere osservati a causa del legame non immunologico delle proteine o dei prodotti di reazione del substrato. Possono anche essere causati dall'attività della pseudo perossidasi (eritrociti), dall'attività della perossidasi endogena (citocromo C) o dalla biotina endogena (p. es., fegato, mammella, cervello, rene) a seconda del tipo di immunocolorante utilizzato.¹⁴
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 prestazionali:

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 in 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 di sistema di 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 attrezzature. 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 appropriato, anticorpi e prodotti di rilevamento. Verificare la rimozione incompleta o impropria della cera o il pretrattamento.
2. Colorazione debole di tutti i vetrini – Verificare che siano stati utilizzati tessuto di controllo positivo appropriato, anticorpi e prodotti di rilevamento.
3. Fondo eccessivo di tutti i vetrini – Potrebbero esserci livelli elevati di biotina endogena (se si utilizzano prodotti di rilevamento a base di biotina), attività HRP endogena che converte il cromogeno in prodotto finale colorato (utilizzare il blocco della perossidasi) o 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 si lavano via 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 abbia passaggi di lavaggio sufficienti per rimuovere i reagenti in eccesso dopo il completamento delle 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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

52/114



TP v2 (02/09/2023)

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

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Italian

BIOCARE
M E D I C A L

7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. *Lab Med* 1983; 14:767.
15. 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.
16. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Latvian

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Paredzētais lietojums:

In vitro diagnostikai

MACH 4 universālais AP polimēru komplekts ir paredzēts lietošanai manuālos vai automatiķos imūnhistokīmijas (IHC) krāsošanas protokolos, izmantojot sārmainās fosfatāzes (AP) polimēru vienas vai divu solu uzklāšanas metodi. Šis mikropolimēru noteikšanas komplekts ir paredzēts peles IgG un IgM un/vai trušu IgG primāro antivielu noteikšanai, kas saistītas ar mērķa antigeniem formalinā fiksētos, parafinā iestrādātos (FFPE) audos IHC krāsošanas procesa laikā. Jebkuras iekrāsošanās vai tās neesamības kliniskā interpretācija 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:

MACH 4 universālais AP polimēru komplekts ir izstrādāts, izmantojot vienpakāpju vai divpakāpju metodi, lai noteiku peļu un/vai trušu primārās antivielas, veidojot antivielu-enzīmu kompleksu. Pēc tam šo kompleksu vizualizē, izmantojot atbilstošu substrātu/hromogēnu. Vienpakāpju metodē tiek uzklāta sekundārā antivieļa, kas ir tieši saistīta ar mikropolimēru, savukārt divpakāpju metodē sekundārā antivieļa tiek nemarķēta, un secīgi tiek uzklāts papildu ar enzīmu saistīts polimēru ieziņmēts reaģents. Divpakāpju metode ir paredzēta, lai pastiprinātu noteikšanu zemas ekspresijas antigenū gadījumos. Iekļauts ar vienu vai vairākiem šādiem ASV patentiem. Nr.6 468 461; 6 800 728; 7 102 024; 7 173 125; 7 462 689.

Procedūras princips:

Šo mikropolimēru noteikšanas komplektu var izmantot formalinā fiksētu, parafinā iestrādātu audu sekciju imūnhistokīmiskajā testēšanā. Kopumā imūnhistokīmiskā (IHC) krāsošanas metodes lauj vizualizēt antigenus, secīgi pielietojot a specifiska antivieļa pret antigenu (primārā antivieļa), sekundārā antivieļa pret primārā antivieļu (neobligāta saite antivieļa/zonde), enzīmu komplekss un hromogēns substrāts ar starplikām mazgāšanas soļiem. Hrogēna fermentatīvā aktivizēšana rada redzamu reakcijas produktu antigenā vietā. Pēc tam paraugu var iekrāsot un noslēdēt vāku. Rezultāti tiek interpretēti, izmantojot gaismu mikroskopu un palīglīdzekļu patofizioloģisko procesu diferenciāldiagnozē, kas var vai var nebūt saistīts ar noteiktu antigenu.

Materiāli un metodes:

Sniegtie reaģenti:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

Šķidināšana, sajaukšana, atšķaidīšana, titrēšana:

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

Zināmais pielietojums:

imūnhistokīmija (formalīnā fiksēti parafinā iestrādāti audi)

Sugas Reaktivitāte:

Peļu un trušu IgG smagās un vieglās kēdes

Piegādāts kā:

MACH 4 universālā AP zonde – UP536

Buferēts sāls šķidums, pH 7,2-7,4, kas satur aroteīna nesēju un mazāk nekā 0,1% nātrija azida konservantu. Papildinformāciju skatiet drošības datu lapā.

MACH 4 universāls AP polimērs – MRAP536

Buferēts sāls šķidums, pH 7,6-7,8, kas satur aroteīna nesēju un mazāk nekā 0,01% ProClin 300 un/vai mazāk nekā 0,5% ProClin 950 kā konservantu. Papildinformāciju skatiet drošības datu lapā.

Materiāli un reaģenti, kas nepieciešami, bet nav iekļauti komplektācijā:

mikroskopa priekšmetstiklini, pozitīvi lādēti

Pozitīvā un negatīvā audu kontrole

Tuksneša kamera* vai līdzīga žāvēšanas krāsns (pēc izvēles)

Ksilola vai ksilola aizstājējs

Etanols vai reaģenta spirits

Decloaking kamera* vai līdzīga spiediena katls (pēc izvēles)

Dejonizēts vai destilēts ūdens

Mazgāšanas buferis*

Priekšapstrādes reaģenti* (pēc izvēles)

Fermentu sagremošana* (pēc izvēles)

Peroksidāzes bloks* (pēc izvēles)

Proteīna bloks* (pēc izvēles)

Primārā antivieļa*

Negatīvie kontroles reaģenti*

*

Hematoksilīns* (pretkrāsojums)

Zilošanas reaģents*

Montāžas vide*

Seststikla

Gaismas mikroskops (40-400x palielinājums)

* Biocare Medical Products: skatiet Biocare Medical tīmekļa vietni, kas atrodas <http://biocare.net>, lai iegūtu papildinformāciju par kataloga numuriem un pasūtīšanu. Daži iepriekš uzskaņoti reaģenti ir balstīti uz ipašu 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 uzdrīkāts uz flakona etiketes. Nelietot pēc derīguma termiņa beigām. Uzglabāšana citos apstākļos, izņemot norādītos, ir jāpārbauda. Komplekta reaģenti(-i) ir gatavi(-i) lietošanai, un tos nedrīkst atšķaidīt. Biocare nav noteikusi lietotāja atšķaidītā reaģenta stabilitāti.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

54/114



TP v2 (02/09/2023)

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

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Latvian

BIOCARE
MEDICAL

Positīvās un negatīvās kontroles jāveic vienlaikus ar visiem pacienta paraugiem. Ja tiek novērota neparedzēta iekrāsošanās, ko nevar izskaidrot ar atšķirībām laboratorijas procedūrās, un ir aizdomas par problēmu ar antivielu, sazinieties ar Biocare tehnisko atbalstu pa tālruni 1-800-542-2002 vai izmantojot tehniskā atbalsta informāciju, kas sniegtā vietnē biocare.net.

Paraugu sagatavošana:

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

Pareizi fiksēti un iestrādāti audi, kas ekspresē norādīto antīgēnu mērķi, jāuzglabā vēsā vietā. 1988. gada Klīniskās laboratorijas uzlabošanas likumā (CLIA) 42. CFR § 493.1259(b) ir noteikts, ka "laboratorijai ir jāsaglabā iekrāsotie priekšmetstiklini 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}

Brīdinājums un piesardzības pasākumi:

- Komplekta reāgents(-i) satur mazāk par 0,1% nātrija azīda. Koncentrācijas, kas ir mazākas par 0,1%, nav zinojamī bīstami materiāli saskaņā ar US 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard communication un EK Direktīvu 91/155/EK. Nātrija azīds (Na^+), ko izmanto kā konservantu, ir toksisks, ja tiek norīts. Nātrija azīds var reāģēt ar svīna un vara santehniku, veidojot ļoti sprādzienbīstamus metālu azīdus. Pēc likvidēšanas izskalojiet ar lielu ūdens daudzumu, lai novērstu azīdu uzkrāšanos santehnikā. (Slimību kontroles centrs, 1976. gads, Nacionālais Darba drošības un veselības institūts, 1976).⁶
- Komplekta reāgenti satur mazāk par 0,05% ProClin 300 un/vai mazāk par 1% ProClin 950. Valkājiet cīmdu un aizsargtēru un ievērojet saprātīgus piesardzības pasākumus, rīkojoties, jo ProClin ir klasificēts kā kairinošs un var izraisīt ādas kontakta sensibilizāciju. Izvairieties no saskares ar acīm, ādu un glotādām.
- Rīkojieties ar cilvēku vai dzīvnieku izcelsmes materiāliem kā potenciāli bioloģiski bīstamiem un atbrīvojieties no šādiem materiāliem, ievērojot atbilstošus piesardzības pasākumus. Iedarbības gadījumā ievērojiet atbildīgo iestāžu norādījumus par veselību, ja tas tiek lietots.^{7,8}
- Paraugi pirms un pēc fiksācijas un visi tiem pakļautie materiāli ir jārīkojas tā, it kā tie varētu pārnēsāt infekciju, un tie jāiznīcina, ievērojot atbilstošus piesardzības pasākumus. Nekad nepipeejiet reāgentus iekšķīgi un izvairieties no saskares ar ādu un glotādām ar reāgentiem un paraugiem. Ja reāgenti vai paraugi nonāk saskarē ar jutīgām zonām, nomazgājiet ar lielu ūdens daudzumu.⁹
- Reāgentu mikrobu piesārņojums var izraisīt nespecifiskas krāsošanās palielināšanos.
- Inkubācijas laiki vai temperatūra, kas nav norādīta, var sniegt klūdainus rezultātus. Lietotājam ir jāapstiprina visas šādas izmaiņas.
- Nelietot reāgentu pēc derīguma termiņa beigām, kas norādīts uz flakona.
- Mikropolimēru noteikšanas komplekta reāgents(-i) ir optimizēti un gatavi lietošanai ar Biocare antīvielām un paligreāgentiem. Ieteiktos lietošanas protokolus un nosacījumus skatiet primāro antīvielu un citu paligreāgentu lietošanas instrukcijās.
- Ievērojiet vietējo un/vai valsts iestāžu prasības par iznīcināšanas metodi.
- SDS ir pieejams pēc pieprasījuma un atrodas <http://biocare.net>.
- Zinājiet par visiem nopietniem ar šo ierīci saistītiem incidentiem, sazinieties ar vietējo Biocare pārstāvi un attiecīgās dalībvalsts vai valsts, kurā atrodas lietotājs, kompetento iestādi.

Šis mikropolimēru noteikšanas komplekts satur sastāvdalas, kas klasificētas, kā norādīts tālāk esošajā tabulā saskaņā ar Regulu (EK) Nr. 1272/2008.

Apdroaudējums	Code	Bīstamības pazinojums
	H317	Var izraisīt alerģisku ādas reakciju.
N/A	H402 H412	Kaitīgs ūdens organismiem. Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām.

Lietošanas instrukcijas:

Mikropolimēru noteikšanas komplekta reāgents(-i) ir optimizēts(-i) un gatavs lietošanai kopā ar Biocare antīvielām un paligreāgentiem. Ieteiktos lietošanas protokolus un nosacījumus skatiet primāro antīvielu un citu paligreāgentu lietošanas instrukcijās. Inkubācijas laiki un temperatūras mainīšies atkarībā no konkrētā antīvielu protokola.

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

Vispārigi procedūras soli IHC veikšanai:

- Deparafinēšana: deparafinējiet priekšmetstiklinus Slide Brite vai ksilolā. Hidrējiet priekšmetstiklinus vairākos šķirotos spirtos līdz ūdenim.
- Peroksīda bloks (pēc izvēles): blokējiet 5 minūtes ar peroksiđu 1.
- Priekšapstrādes šķidums/protokols: lūdzu, skatiet attiecīgo primāro antīvielu datu lapu, lai uzzinātu par ieteicamo pirmāpstrādes šķidumu un protokolu.
- Proteīna bloks (pēc izvēles): inkubējiet 5–10 minūtes istabas temperatūrā (RT) ar Background Punisher.
- Primārā antīviela: lūdzu, skatiet attiecīgo primāro antīvielu datu lapu, lai uzzinātu inkubācijas laiku.
- Zonde (tikai peles antīvielām): inkubējiet 5–15 minūtes RT ar MACH 4 universālo AP zondi.
- Polimērs: inkubējiet 10–20 minūtes peles antīvielām vai 30 minūtes trušu antīvielām istabas temperatūrā ar MACH 4 MR AP polimēru.
- Hromogēns: inkubējiet 5 minūtes RT ar Warp Red.
- Pretkrāsojums: pretkrāsojums ar hematoksilīnu. Noskalo ar dejonizētu ūdeni. Uzklājiet Tacha's Bluing Solution 1 minūti. Noskalo ar dejonizētu ūdeni.

Tehniskas piezīmes:

- Izmantojiet TBS tikai mazgāšanas posmiem. PBS mazgāšanas buferi kavē sārmainās fosfatāzes krāsošanos.
- Neizmantojiet kazas serumu kā proteīna bloku. Neizmantojiet Background Eraser vai Background Terminator.

Kvalitātes kontrole:

skatiet CLSI kvalitātes standartus imūnhistokīmijas testu izstrādei un ieviešanai; Apstiprinātās vadlīniju otrs izdevums (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011¹⁰

Pozitīvo audu kontrole:

ārējiem pozitīvās kontroles materiāliem jābūt svaigiem paraugiem, kas fiksēti, apstrādāti un pēc iespējas ātrāk iestrādāti 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

Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

55/114



TP v2 (02/09/2023)

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

EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

BIOCARE
M E D I C A L

Latvian

rada vāju pozitīvu krāsojumu. Zemais pozitivitātes 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 priekšmetstiklini 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 reāgentu pareizas darbības uzraudzībai, nevis kā palīglīdzeklis konkrētas pacienta paraugu diagnozes formulēšanā. Ja pozitīvās audu kontroles neizdodas uzrādīt pozitīvu iekrāsošanos, testa paraugu rezultāti jāuzskata par nederīgiem.

Negatīvo audu kontrole:

Izmantojiet negatīvo audu kontroli, kas fiksēta, apstrādāta un iestrādāta identiski pacienta paraugam(-iem) katrā krāsošanas ciklā, lai pārbaudītu IHC primārās antivielas specifiskumu. mērķa antigēna demonstrēšana un sniegt norādi par specifisku fona krāsojumu (viltus pozitīva krāsošana). Ari dažādu šūnu tipu dažādība, kas atrodas lielākajā daļā audu sekciju, var laboratorija izmantos kā iekšējās negatīvās kontroles vietas, lai pārbaudītu IHC darbību specifikācijas. Paraugu veidi un avoti, ko var izmantot negatīviem audiem vadīklas ir uzskaitītas sadaļā Veikspējas raksturielumi.

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

Nespecifiskā negatīvā reāgenta kontrole:

Izmantojiet nespecifisku negatīvu reāgenta kontroli primārās antivielas vietā ar katru pacienta parauga sekciju, lai novērtētu nespecifisku iekrāsošanos un lajtu labāk interpretēt specifisko krāsojumu antigēna vietā. Ideālā gadījumā negatīvā reāgenta kontrole satur antivielu, kas rāzota un sagatavota (tī, atšķaidīta līdz tādai pašai koncentrācijai, izmantojot to pašu šķidinātāju) lietošanai tādā pašā veidā kā primārā antiviela, bet tai nav specifiskas reaktivitātes ar cilvēka audiem tajā pašā matricā/šķidumā kā Biocare antiviela. Atšķaidītāju vienu pašu var izmantot kā mazāk vēlamo alternatīvu iepriekš aprakstītajām negatīvajām reāgēntu kontrolēm. Negatīvā reāgenta kontroles inkubācijas periodam jāatbilst primārās antivielas inkubācijas periodam.

Ja sērijei daudzās sekcijās tiek izmantoti vairāki antivieli paneli, viena priekšmetstikliniņa negatīvi iekrāsotie apgabali var kalpot kā negatīva/nespecifiska saistišanās fona kontrole citām antivielām. Lai atšķirtu endogēno enzīmu aktivitāti vai nespecifisku enzīmu saistišanos no specifiskās imūnreaktivitātes, papildu pacienta audus var iekrāsot tikai ar substrāta-hromogēnu vai enzīmu kompleksiem (PAP, avidīns-biotins, streptavidīns) un substrāta-hromogēnu, attiecīgi.

Testa pārbaude:

Pirms antivielas vai krāsošanas sistēmas sākotnējās izmantošanas diagnostikas procedūrā, lietotājam jāpārbauda antivielas specifika, pārbaudot to uz vairākiem iekšējiem audiem ar zināmiem imūnhistokimiskās veikspējas raksturielumiem, kas atspogulo zināmus pozitīvus un negatīvus audus. Skatiet kvalitātes kontroles procedūras, kas iepriekš izklāstītas šajā produkta ievietojuma sadaļā, un kvalitātes kontroles ieteikumus CAP sertifikācijas programmā¹¹ imūnhistokimiji un/vai NCCLS IHC vadlīnijām¹². Šīs kvalitātes kontroles procedūras jāatkārto katrai jaunai antivielu partijai vai ikreiz, kad notiek izmaiņas testa parametros. Testa pārbaudei ir piemēroti audi, kas norādīti sadaļā Veikspējas raksturojums.

Traucējummeklēšana:

Ievērojet antivielu specifiskā protokola ieteikumus saskaņā ar sniegto datu lapu. Ja rodas netipiski rezultāti, sazinieties ar Biocare tehnisko atbalstu pa tālruni 1-800-542-2002.

Krāsošanas interpretācija:

MACH 4 universālais AP polimēru komplekts rada sarkanas krāsas reakciju antigēna vietā, ko lokalizē primārā antiviela. Pirms pacienta rezultātu interpretācijas kvalificētam patologam ir jānovērtē kontroles iekrāsošanās. Negatīvās kontroles tiek novērtētas un salīdzinātas ar iekrāsotajiem priekšmetstikliniņiem, lai nodrošinātu, ka novērotā iekrāsošanās nav nespecifiskas mijedarbības rezultāts.

Pozitīvā audu kontrole:

Vispirms ir jāpārbauda pozitīvā audu kontrole, kas iekrāsota ar norādito antivielu, lai pārliecītās, ka visi reāgenti darbojas pareizi. Atbilstoša mērķa šūnu 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.¹³

Ja tiek izmantots pretkrāsojums, atkarībā no inkubācijas ilguma un izmantotā pretkrāsojuma stipruma, pretkrāsošana izraisīs šūnu kodolu iekrāsošanos. Pārmēriga vai nepilnīga pretkrāsošana var apdraudēt pareizu rezultātu interpretāciju. Skatiet protokolu(-s), lai uzzinātu par ieteicamo pretkrāsošanu.

Negatīvo audu kontrole:

Negatīvā audu kontrole ir jāpārbauda pēc pozitīvās audu kontroles, lai pārbaudītu primārās antivielas mērķa antigēna marķēšanas 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.

Nespecifiska krāsošana, ja tāda ir, parasti ir izkliedēta. Sporadisku saistaudu iekrāsošanos var novērot arī sekcijās no pārmērigi formalīna fiksētiem audiem. Krāsošanas rezultātu interpretācijai izmantojiet neskartas šūnas. Nekrotiskas vai deģenerētās šūnas bieži krāsojas nespecifiski.

Pacienta audi:

Pārbaudiet pacientu paraugus, kas iekrāsoti ar norādītajām antivielām Pēdējais. Pozitīvā krāsošanas intensitāte jānovērtē saistībā ar jebkuru nespecifisku negatīvā reāgēnta kontroles fona krāsojumu. Tāpat kā ar jebkuru imūnhistokimisko testu, negatīvs rezultāts nozīmē, ka antigēns nav konstatēts, nevis antigēna 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 raksturielumus.

Ierobežojumi:

Vispārīgi ierobežojumi:

1. tikai *In vitro* diagnostikai (IVD)
2. profesionālai lietošanai: Imūnhistokimija ir daudz pakāpju diagnostikas process, kas sastāv no specializētās apmācības atbilstošu reāgentu izvēlē; audu atlase, fiksācija un apstrāde; IHC priekšmetstikliniņa 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,

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Latvian

BIOCARE
M E D I C A L

- 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 iegušanas metožu atšķiribu dēļ vai audos raksturīgu nelīdzenumu dēļ.¹⁴
5. Pārmēriga vai nepilnīga pretkrāsošana var apdraudēt pareizu rezultātu interpretāciju.
 6. Jebkuras pozitīvas vai negatīvas iekrāsošanās kliniskā interpretācija jānovērtē kliniskā attēla, morfoloģijas un citu histopatoloģisku kritēriju kontekstā. Jebkuras pozitīvas vai negatīvas iekrāsošanās kliniskā interpretācija jāpapildina ar morfoloģiskiem pētījumiem, izmantojot atbilstošus pozitīvos un negatīvos iekšējos 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. Optimalie 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 skaitiet primāro antivielu un citu palīgreaģētu lietošanas instrukcijās. Datu lapas ieteikumi un protokoli ir balstīti uz ekskluzīvu Biocare produktu izmantošanu. Galu galā pētnieka pienākums ir noteikt optimālos apstākļus.
 8. Šis produkts nav paredzēts izmantošanai plūsmas citometrijā. Plūsmas citometrijas veikspējas raksturielumi nav noteikti.
 9. Audos no personām, kas inficētas ar B hepatīta virusu un satur B hepatīta virsmas antigēnu (HBsAg), var būt nespecifiska iekrāsošanās ar mārrutku peroksīdāzi.¹⁵
 10. Reaģenti var parādīt negaidītas reakcijas iepriekš nepārbaudītos audos. Negaidītu reakciju iespējamību pat pārbaudītajās audu grupās never pilnībā novērst antigenū ekspresijas bioloģiskās variabilitātes dēļ jaunveidojumos vai citos patoloģiskos audos.¹⁶ Sazinieties ar Biocare tehnisko atbalstu pa tālruni 1-800-542-2002 vai izmantojot tehniskā atbalsta informāciju, kas sniegtā vietnē biocare.net, norādot dokumentētu(-ām) negaidītu(-ām) reakciju(-ām).
 11. Normāli/neimūnie serumi no tā paša dzīvnieku izcelmes avota kā sekundārie antiserumi, ko izmanto bloķēšanas posmos, var izraisīt kļūdaini negatīvus vai kļūdaini pozitīvus rezultātus autoantivielu vai dabisku antivielu dēļ.
 12. Kļūdaini pozitīvus rezultātus var redzēt proteīnu vai substrāta reakcijas produktu neimunoloģiskas saistīšanās dēļ. Tos var izraisīt arī pseudoperoksīdāzes aktivitāte (eritrociti), endogēna peroksīdāzes aktivitāte (citohroms C) vai endogēns biotins (piemēram, aknas, krūts, smadzenes, nieres) atkarībā no izmantotā imūnkrāsas veida.¹⁴
 13. Negatīvs rezultāts nozīmē, ka antigens nav konstatēts, 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. Krāsošanas jutīgums un specifiskums tika novērtēts dažādos normālos un neoplastiskos audu veidos, kas tika novērtēti primāro antivielu veidošanās laikā.

Reproducējamība:

Biocare noteikšanas sistēmu un sistēmas reaģētu reproducējamība tiek pārbaudīta, veicot vidējas precizitātes mērījumu, kurā dažādas reaģētu partijas tika pārbaudītas ilgākā laika periodā, izmantojot dažādus operatorus, analītikus, reaģētu partijas, audu paraugus un aprīkojumu. Katram novērtētajam noteikšanas reaģentam iegūtā krāsošana bija konsekventa un tika veikta, kā paredzēts.

Problēmu novēršana:

1. priekšmetstiklini nav iekrāsoti – pārbaudiet, lai noteiktu, vai ir izmantoti atbilstoši pozitīvās kontroles audi, antivielas un noteikšanas produkti. Pārbaudiet, vai vaska nonemšana vai pirmapstrāde nav veikta pilnībā vai nepareizi.
2. Vāja visu priekšmetstiklinu krāsošana – pārbaudiet, lai noteiktu, vai ir izmantoti atbilstoši pozitīvās kontroles audi, antivielas un noteikšanas produkti.
3. Pārmērīgs visu priekšmetstiklinu fons — var būt augsts endogēnā biotīna līmenis (ja izmanto noteikšanas produktus uz biotīna bāzes), endogēna HRP aktivitāte, kas pārvērš hromogēnu krāsainā galaproductā (izmantojiet peroksīdāzes bloku) vai pārmērīga nespecifiskā proteīna mijiedarbība (izmantojiet proteīnu). blokādi, piemēram, bloķeošs šķidums uz serumu vai kazeīna bāzes).
4. Audu sekcijas nomazgā priekšmetstiklinus inkubācijas laikā – pārbaudiet priekšmetstiklinus, lai pārliecīnotos, ka tie ir pozitīvi uzlādēti.
5. Īpaša krāsošanās ir pārāk tumša – pārbaudiet protokolu, lai noteiktu, vai priekšmetstikliniem ir piemērots pareiza antivielu titrs, kā arī pareizu visu reaģētu inkubācijas laiku. Turklat pārliecīnieties, ka protokolā ir pietiekami daudz mazgāšanas soli, lai pēc inkubācijas darbību pabeigšanas noņemtu liekos reaģentus.

Literatūra:

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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
15. 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.
16. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Lithuanian

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Paskirtis:

In vitro diagnostikai

MACH 4 universalus AP polimerų rinkinys skirtas naudoti rankiniu arba automatiniu imunohistochemijos (IHC) dažymo protokolu, naudojant šarminės fosfatazės (AP) polimero vieno arba dvių pakopų taikymo metodą. Šis mikropolimero aptikimo rinkinys skirtas pelės IgG ir IgM ir (arba) triušio IgG pirminiams antikūnams, susietiems su tiksliniuose antigenais formalinu fiksuojuose, parafinu įterptuose (FFPE) audiniuose IHC dažymo proceso metu, aptikti. Klinikinį bet kokią dažymo ar jo nebuvimo aiškinamą turėtų papildyti morfologiniai tyrimai ir tinkama kontrolė, o kvalifikuotas patologas turi ivertinti paciento klinikinę istoriją ir kitus diagnostinius tyrimus.

Santrauka ir paaiškinimas:

MACH 4 universalus AP polimerų rinkinys sukurta naudojant vieno arba dvių pakopų metodą, skirtą pelės ir (arba) triušio pirminiams antikūnams aptikti, kad susidarytų antikūno ir fermento kompleksas. Tada šis kompleksas vizualizuojamas naudojant atitinkamą substratą / chromogeną. Taikant vieno etapo metodą, naudojamas antrinis antikūnas, tiesiogiai susietas su mikropolimeru, o taikant dvių pakopų metodą, antrinis antikūnas yra nežymėtas, o papildomas fermentu susietas polimeras pažymėtas reagentas. Dvių pakopų metodas yra skirtas sustiprinti aptikimą mažai ekspresuojančių antigenų atvejais. Apima vieną ar daugiau iš šių JAV patentų. Nr. 6 686 461; 6 800 728; 7 102 024; 7,173,125; 7 462 689.

Procedūros principas:

Šis mikropolimero aptikimo rinkinys gali būti naudojamas formalinu fiksuočių, parafinu įterptu audinių pjūvių imunohistocheminiams tyrimams. Apskritai imunohistocheminis (IHC) dažymo metodai leidžia vizualizuoti antigenus nuosekliai taikant a specifinius antikūnas prieš antigeną (pirminis antikūnas), antrinis antikūnas prieš pirmąjį antikūną (neprivalomus 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 dangtis nuslysta. Rezultatai interpretuojami naudojant lemputę mikroskopu ir pagalba diferencinei patofiziologinių procesų diagnostikai, kurie gali arba gali būti nesusiję su konkrečiu antigenu.

metodai reagentai

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

Atskiedimas, maišymas, skiedimas, titravimas:

Mikropolimero aptikimo rinkinio reagentas (-ai) yra optimizuotas (-i) ir paruoštas naudoti su Biocare antikūnais ir pagalbiniais reagentais. Atskiesti, maišyti, skiesti ar titruoti nereikia.

Žinomas pritaikymas:

imunohistochemija (formalinu fiksuočių parafinu įterptu audinių)

Rūšis Reaktyvumas:

Pelės ir triušio IgG sunkiosios ir lengvosios grandinės

Tiekiamas kaip:

MACH 4 universalus AP zondas – UP536

Buferinis druskos tirpalas, pH 7,2–7,4, kuriamo yra aroteino nešiklio ir mažiau nei 0,1 % natrio azido konservanto. Daugiau informacijos rasite saugos duomenų lape.

MACH 4 universalus AP polimeras – MRAP536

Buferinis druskos tirpalas, pH 7,6–7,8, kuriamo yra aroteino nešiklio ir mažiau nei 0,01% ProClin 300 ir (arba) mažiau nei 0,5% ProClin 950 kaip konservantas. Daugiau informacijos rasite saugos duomenų lape.

reagentai:

mikroskopo stikeliai, teigiamai įkrauti

Teigiami ir neigiami audinių kontroliniai

Dykumos

.

ir

* arba panašiai

kamera

Plovimo buferis*

Išankstinio apdorojimo reagentai* (neprivaloma)

Virškinimas fermentais* (nebūtina)

Peroksidas blokas* (nebūtina)

Baltymų blokas* (nebūtina)

Pirminis antikūnas*

Neigiami kontroliniai reagentai*

Chromogenai*

Hematoksilinas* (prieš dažai)

Pamėlynavimo reagentas*

Montavimo terpē*

Dengiamasis stiklas

Mikroskopas (40–400 kartų padidinimas)

* Biocare Medical Products: Daugiau 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 nuo 2°C iki 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 priskiesto reagento stabilumo.

Teigiamas ir neigiamas kontrolė turi būti atliekama vienu metu su visais paciento mėginiais. Jei pastebimas netiketas dažymas, kurio negalima

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Lithuanian

BIOCARE
MEDICAL

paaškinti laboratorinių procedūrų skirtumais, ir įtariate antikūnų problemą, susisiekite su Biocare techninės pagalbos tarnyba telefonu 1-800-542-2002 arba per techninės pagalbos informaciją, pateiktą biocare.net.

Méginių paruošimas:

Formalinu fiksoti audiniai tinkami naudoti prieš įterpiant į parafiną. Kauliniai audiniai turi būti nukalkinti prieš audinių apdorojimą, kad būtų lengvai nupjauti audinį ir nepažeisti mikrotomo ašmenų.^{1,2}

Tinkamai fiksoti ir įterpti audiniai, išreiškiantys nurodytą antigeno taikinį, turi būti laikomi vėsioje vietoje. 1988 m. Klinikinių laboratorijų tobulinimo įstatymo (CLIA) 42 CFR §493.1259(b) reikalaujama, kad „Laboratorija turi išlaikyti nudažytus stiklelius mažiausiai dešimt metų nuo ištirti ir saugoti mėginių blokus mažiausiai dvejus metus nuo tyrimo datos.³

Audinių apdorojimas prieš dažymą:

atlikite šilumos sukeltą epitopų paiešką (HIER) pagal toliau rekomenduojamą protokolą. Irodyta, kad įprastas HIER naudojimas prieš IHC sumažina nenuoseklumą ir standartizuja dažymą.^{4,5}

Ispėjimas ir atsargumo priemonės:

- Rinkinio reagento (-ių) sudėtyje yra mažiau nei 0,1 % natrio azido. Pagal US 29 CFR 1910.1200, OSHA pranešimus apie pavojų ir EB direktyvą 91/155/EB, mažesnės nei 0,1 % koncentracijos nėra pavojingos medžiagos. Natrio azidas (NaN₃) naudojamas kaip konservantas, yra toksiskas prarūbus. Natrio azidas gali reaguoti su švino ir vario vamzdynais, sudarydamas labai sprogius metalo azidus. Išmetus, nuplaukite didelį kiekių vandens, kad vandenitekyje nesikauptu azidas. (Ligų kontrolės centras, 1976, Nacionalinis darbuotojų saugos ir sveikatos institutas, 1976).
- Rinkinio reagentuose yra mažiau nei 0,05 % ProClin 300 ir (arba) mažiau nei 1 % ProClin 950. Dėvėkite pirštines, apsauginius drabužius ir imkite pagrįstų atsargumo priemonių dirbdami, nes ProClin yra klasifikuojamas kaip dirginantis ir gali sukelti odos kontaktą. Vengti patekimo į akis, odą ir gleivines.
- Žmonių arba gyvūninių kilmės medžiagas tvarkykite kaip potencialiai biologiškai pavojingas ir šalinkite tokias medžiagas laikydami tinkamų atsargumo priemonių. Poveikio atveju laikykitės atsakingų institucijų, kuriose naudojamas, sveikatos nurodymų.^{7,8}
- Méginių 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 méginių sąlyčio su oda ir gleivinėmis. Jei reagentai ar méginių pateko į jautrijas vietas, nuplaukite didelį kiekių vandens.⁹
- Mikrobinis reagentų užteršimas gali padidinti nespecifinį dažymą.
- Kitos nei nurodytos inkubacijos trukmės arba temperatūros rezultatai gali duoti klaidingus rezultatus. Vartotojas turi patvirtinti visus tokius pakeitimus.
- Nenaudokite reagento pasibaigus tinkamumo laikui, nurodytam ant buteliuko.
- 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 pagalbiniių reagentų naudojimo instrukcijose.
- Laikykitės vienos ir (arba) valstybinių institucijų reikalavimų dėl šalinimo būdų.
- SDS galima gauti paprašius ir jis yra adresu <http://biocare.net>.
- Praneškite apie visus rūmtus incidentus, susijusius su šiuo prietaisu, susisiekę su vietiniu Biocare atstovu ir atitinkama valstybės narės ar šalies, kurioje yra naudotojas, kompetentinga institucija.

Šiame mikropolimero aptikimo rinkinyje yra komponentų, klasifikuojamų taip, kaip nurodyta toliau esančioje lentelėje pagal Reglamentą (EB) Nr. 1272/2008.

Pavojus	Code	Pareiškimas apie pavojų
	H317	Gali sukelti alerginę odos reakciją.
N/A	H402 H412	Kenksminga vandens gyvybei. Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaičius padarinius.

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 pagalbiniių reagentų naudojimo instrukcijose. Inkubavimo laikas ir temperatūra skirsis priklausomai nuo konkretaus antikūnų protokolo, kurio laikomasi.

Naudodami automatizuotą dažymo instrumentą, perskaitykite konkretaus prietaiso naudotojo vadovą ir naudojimo parametrus.

Bendrieji IHC atlirkimo procedūriniai žingsniai:

- Deparafinavimas: Deparafinuokite stiklelius Slide Brite arba ksilene. Hidratuokite stiklelius rūšiuotų alkoholių serijoje iki vandens.
- Peroksido blokas (neprivaloma): blokuokite 5 minutes su Peroxidized 1.
- Pirminio apdorojimo tirpalas / protokolas: rekomenduojamą pirminio apdorojimo tirpalą ir protokolą žr. atitinkamo pirminio antikūno duomenų lape.
- Baltytų blokas (nebūtina): inkubuokite 5-10 minučių kambario temperatūroje (RT) su Background Punisher.
- Pirminis antikūnas: Inkubacijos laiką žr. atitinkamo pirminio antikūno duomenų lape.
- Zondas (tik pelių antikūnams): inkubuokite 5–15 minučių kambario temperatūroje su MACH 4 universaliu AP zondu.
- Polimeras: inkubuokite 10-20 minučių pelių antikūnams arba 30 minučių triušių antikūnams kambario temperatūroje su MACH 4 MR AP polimeru.
- Chromogenas: inkubuokite 5 minutes kambario temperatūroje su Warp Red.
- Priešdažas: Priešdažas su hematoksilinu. Nuplaukite dejonizuotu vandeniu. Taikyti Tacha's Bluing tirpalą 1 minute. Nuplaukite dejonizuotu vandeniu.

Techninės pastabos:

- TBS naudokite tik plovimo etapams. PBS plovimo buferiai slopins šarminės fosfatazės dažymą.
- Nenaudokite ožkos serumo kaip baltytų bloko. Nenaudokite Background Eraser arba Background Terminator.

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). 2011¹⁰

Teigiamu audinių kontrolė:

Išorinės teigiamos kontrolės medžiagos turi būti švieži mēginių, užfiksoti, apdoroti ir kuo greičiau įterpti tokiu pačiu būdu, kaip ir paciento mēginiys (-iai). Teigiamas audinių kontrolė rodo tinkamai paruoštus audinius ir tinkamus dažymo būdus. I kiekvieną dažymo eiga turėtų būti įtraukta viena teigiamą išorinio audinio kontrolė kiekvienam tyrimo sąlygų rinkiniui.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Lithuanian

BIOCARE
MEDICAL

Audiniai, naudojami išorinėms teigiamoms kontrolinėms medžiagoms, turėtų būti parenkami iš pacientų mėginių, kurių teigiamas tikslinis aktyvumas yra žemas, o tai suteikia silpną teigiamą dažymą. Žemos teigiamumo lygis išorinėms teigiamoms kontrolėms yra sukurtas taip, kad būtų galima aptikti subtilius pirminio antikūno jautrumo pokyčius dėl nestabilumo ar problemų, susijusių su IHC metodika. Parduodamos audinių kontrolinės skaidrės arba mėginių, apdoroti kitaip nei paciento mėginys (-iai), patvirtina tik reagento veikimą ir netikrina audinių paruošimo.

Žinomos teigiamos audinių kontrolės priemonės turėtų būti naudojamos tik norint stebeti tinkamą apdorotų audinių ir tiriamujų reagentų veikimą, o ne kaip pagalbinę priemonę nustatant konkretių paciento mėginių diagnozė. Jei teigiami audinių kontroliniai mėginių neparodo teigiamo dažymosi, bandinių rezultatai turėtų būti laikomi negaliojančiais.

Neigiamų audinių kontrolė:

naudokite neigiamą audinių kontrolę, fiksuoja, apdorotą ir įterptą identiškai paciento mėginiui (-iams) kiekvieną dažymo ciklą, kad patikrintumėte IHC pirminio antikūno specifiškumą. tikslinio antigeno demonstravimas ir specifinio fono dažymo požymis (klaidingai teigiamas dažymas). Be to, daugumoje audinių sekcijų gali būti vairiu tipu ląstelių Laboratorijos gali naudoti kaip vidines neigiamos kontrolės vietas, kad patikrintų IHC veikimą specifikacijas. Mėginių, kurie gali būti naudojami neigiamiem audiniams, tipai ir šaltiniai valdikliai išvardytu skyriuje Veikimo charakteristikos.

Jei neigiamų audinių kontrolėje atsiranda specifinis dažymas (klaidingai teigiamas dažymas), paciento mėginių rezultatai turėtų būti laikomi negaliojančiais.

Nespecifinio neigiamo reagento kontrolė:

vietoj pirminio antikūno naudokite nespecifinio neigiamo reagento kontrolę su kiekvieno paciento mėgino dalimi, kad įvertintumėte nespecifinį dažymą ir galutėmėte geriau interpretuoti specifinį dažymą antigeno vietoje. Idealiu atveju neigiamą reagento kontrolę sudaro antikūnas, pagamintas iš paruoštas (ty atskiestas iki tos pačios koncentracijos naudojant tą patį skiediklį), kad būtų galima naudoti taip pat, kaip ir pirminis antikūnas, bet neturi specifinio reaktyvumo su žmogaus audiniuose toje pačioje matricioje / tirpale kaip ir Biocare antikūnas. Vien tik skiediklis gali būti naudojamas kaip mažiau pageidautina anksčiau aprašytu neigiamų reagentų kontrolės alternatyva. Neigiamo reagento kontrolės inkubacinis laikotarpis turi atitinkti pirminio antikūno inkubacinį laikotarpį.

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 audinių gali būti nudažyti tik atitinkamai substrato-chromogeno arba fermentų kompleksais (PAP, avidino-biotino, streptavidino) ir substrato-chromogenu.

Tyrimo patikra:

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, aprašytas šiame gaminio lapelio skyriuje, ir BZŪP sertifikavimo programos¹¹ imunohistochemijos kokybės kontrolės rekomendacijas ir (arba) NCCLS IHC gaires¹². Šios kokybės kontrolės procedūros turi būti kartojamos kiekvienai naujai antikūnų partijai arba kiekvieną kartą, kai pasikeičia tyrimo parametrai. Audiniai, išvardytu skyriuje Veikimo charakteristikos, yra tinkami tyrimo patikrinimui.

Trikčių šalinimas:

Iaikykite specifinių antikūnų protokolo rekomendacijų pagal pateiktą duomenų lapą. Jei atsiranda netipinių rezultatų, susiekiite su Biocare technine pagalba telefonu 1-800-542-2002.

Dažymo aiškinimas:

MACH 4 universalus AP polimerų rinkinys sukelia raudonos spalvos reakciją antigeno vietose, kurias lokalizuoją pirminis antikūnas. Prieš interpretuodamas paciento rezultatus, kontrolinių mėginių dažymą turi įvertinti kvalifikotas patologas. Neigiamos kontrolinės medžiagos įvertinamos ir palyginamos su nudažytomis stiklėmis, siekiant užtikrinti, kad pastebėtas dažymas nerá nespecifinės sąveikos rezultatas.

Teigiamų audinių kontrolė:

Pirmausiai reikia ištirti teigiamą audinių kontrolę, nudažytą nurodytu antikūnu, siekiant įsitikinti, kad visi reagentai veikia tinkamai. Tinkamas tikslinių ląstelių dažymas (kaip nurodyta aukščiau) rodo teigiamą reaktyvumą. Jei teigiamai audinių kontroliniai mėginių neparodo teigiamo dažymosi, visi bandinių rezultatai turėtų būti laikomi negaliojančiais.

Reakcijos produkto spalva gali skirtis priklausomai nuo naudojamų substrato chromogenų. Numatyta spalvų reakcijas žr. pagrindo pakuočės lapeliuose. Be to, metachromazija gali būti stebima dažymo metodo variantuose.¹³ Kai naudojamas kontrastinis dažymas, atsižvelgiant į inkubacijos trukmę ir naudojamo priešinio dažymo stiprumą, prieš dažymą nuspalvins ląstelių branduoliai. Pernelyg didelis arba neįšamus dažymas gali pakenkti tinkamam rezultatų interpretavimui. Žr. protokolą (-us) dėl rekomenduojamo priešadažo.

Neigiamų audinių kontrolė:

Neigiamas audinių kontrolė turi būti ištirta po teigiamos audinių kontrolės, siekiant patikrinti tikslinio antigeno žymėjimo pirminiu antikūnu specifiškumą. Specifinio dažymo nebuvimas neigiamoje audinių kontrolėje patvirtina antikūnų kryžminio reaktyvumo su ląstelėmis / ląstelių komponentais nebuvimą. Jei neigiamo išorinio audinio kontrolėje atsiranda specifinis dažymas (klaidingai teigiamas dažymas), paciento mėgino 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 ląstelės. Nekrotinės arba išsigimusios ląstelės dažnai nusidažo nespecifiskai.

Paciento audinių:

Ištirkite paciento mėginius, nudažytus nurodytais antikūnais paskutinis. Teigiamas dažymo intensyvumas turėtų būti įvertintas atsižvelgiant į bet koki nespecifinį neigiamo 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 ląstelėse / audiniuose. Jei reikia, naudokite antikūnų grupę, kad nustatytmėte klaidingai neigiamas reakcijas.

Konkrečios informacijos apie nurodytą antikūnų imunoreaktyvumą žr. Santrauka ir paaškinimas, Apribojimai ir Veikimo charakteristikos.

Apribojimai:

Bendrieji apribojimai:

1. Naudojimas *in vitro* diagnostikai (IVD)
2. Šis gaminys skirtas tik profesionaliam naudojimui: Imunohistochemija yra daugiapakopis diagnostikos procesas, kurį sudaro specializuoti

60/114



TP v2 (02/09/2023)

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Lithuanian

BIOCARE
MEDICAL

- mokymai, kaip 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, atšildymas, plovimas, džiovintumas, kaitinimas, pjaustymas arba užteršimas kitais audiniais ar skysčiais gali sukelti artefaktus, antikūnų ištrigimą arba klaudingai neigiamus rezultatus. Nenuoseklūs rezultatai gali atsirosti dėl fiksavimo ir įterpimo metodų skirtumų arba dėl išgimtų audinių nelygumų.¹⁴
 5. Per didelis arba neišsamus priešdažymas 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. pirmilio antikūno ir kitų pagalbinių 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, užsikrétusiu hepatito B virusu ir turinčių hepatito B paviršiaus antigeno (HBsAg), audiniai gali būti nespecifiniai krienių peroksidaze.¹⁵
 10. Reagentai gali sukelti netiketas reakcijas anksčiau nei turtuose audiniuose. Netiketų reakcijų galimybės net tirtose audinių grupėse negali būti visiškai pašalintos dėl biologinio antigoно ekspresijos neoplazmu ar kitų patologinių audinių kintamumo.¹⁶ Susisiekite su Biocare techninė pagalba telefonu 1-800-542-2003 arba per techninės pagalbos informaciją, pateiktą biocare.net, ir nurodykite dokumentais pagrįstą (-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 klaudingai neigiamus arba klaudingai teigiamus rezultatus.
 12. Klaudingai teigiamai rezultatai gali būti matomi dėl neimunologinio balytymo ar substrato reakcijos produkto prisijungimo. Juos taip pat gali sukelti pseudoperoksidasės aktyvumas (eritrocitai), endogeninis peroksidasės aktyvumas (citochromas C) arba endogeninis biotinas (pvz., kepenys, krūtys, smegenys, inkstai), priklausomai nuo naudojamos imuninės dažų rūšių.¹⁴
 13. Neigiamas rezultatas reiškia, kad antigenas nebuvu aptiktas, o ne tai, kad antigeno nebuvu tiriamose ląstelėse ar audiniuose.

Specifiniai gaminio apribojimai:

nera jokių papildomų specifinių gaminio apribojimų.

Veikimo charakteristikos:

dažymas buvo atlitas naudojant protokolus, pateiktus specifinėse antikūnų naudojimo instrukcijose arba kaip nurodyta. Dažymo jautrumas ir specifišumas buvo įvertintas įvairiuose normaliu ir neoplastiniu 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 atlirkas taip, kaip tikėtasi.

Trikčių šalinimas:

1. Jokių stiklelių nesidažyta – Patikrinkite, ar buvo naudojami tinkamai teigiami kontroliniai audiniai, antikūnai ir aptikimo produktai. Patikrinkite, ar vaškas pašalintas arba apdorotas neviškai arba netinkamai.
2. Silpnas visų stiklelių dažymas – Patikrinkite, ar buvo naudojami tinkamai teigiami kontroliniai audiniai, antikūnai ir aptikimo produktai.
3. Per didelis visų skaidrių fonas – gali būti didelis endogeninio biotino kiekius (jei naudojami biotino pagrindu pagaminti aptikimo produktai), endogeninis HRP aktyvumas, paverčiantis chromogeną spalvotu galutiniu produktu (naudokite peroksidasės bloką) arba perteklinė nespecifinė balytymų sąveika (naudokite balytymą). blokuoti, pvz., serumo arba kazeino pagrindu pagamintą blokuojančią tirpalą).
4. Inkubacijos metu audinių sekcijos nuplaunamos nuo stiklelių – Patikrinkite stiklelius, kad įsitikintumėte, jog jie yra teigiamai įkrauti.
5. Specifinis dažymas per tamsus – Patikrinkite protokola, kad nustatytmėte, 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.

Literatūra:

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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
15. 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.
16. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Polish

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Przeznaczenie:

Do *in vitro* diagnostyki

Zestaw MACH 4 Universal AP Polymer Kit jest przeznaczony do stosowania w ręcznych lub automatycznych protokołach barwienia metodą immunohistochemiczną (IHC) przy użyciu jedno- lub dwuetapowej metody aplikacji polimeru fosfatazy alkalicznej (AP). Ten mikropolimerowy zestaw do wykrywania jest przeznaczony do wykrywania mysich przeciwciał IgG i IgM i/lub króliczych IgG związań z docelowymi antygenami w tkankach utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie (FFPE) podczas procesu barwienia IHC. Kliniczna interpretacja jakiegokolwiek wybarwienia lub jego braku powinna być uzupełniona badaniami morfologicznymi i odpowiednimi kontrolami oraz powinna być oceniona w kontekście historii klinicznej pacjenta i innych badań diagnostycznych przez wykwalifikowanego patologa.

Podsumowanie i wyjaśnienie:

Uniwersalny zestaw polimerowy AP MACH 4 został zaprojektowany z wykorzystaniem jednoetapowej lub dwuetapowej metody wykrywania mysich i/lub króliczych przeciwciał pierwotnych w celu utworzenia kompleksu przeciwiałko-enzymu. Ten kompleks jest następnie wizualizowany przy użyciu odpowiedniego substratu/chromogenu. W metodzie jednoetapowej nanosi się przeciwciało drugorzędowe bezpośrednio związane z mikropolimerem, podczas gdy w metodzie dwuetapowej przeciwciało drugorzędowe jest nieznakowane i sekwencyjnie nakładany jest dodatkowy odczynnik znakowany polimerem związanym z enzymem. Metoda dwuetapowa ma na celu wzmacnianie wykrywania w przypadku antygenów o niskiej ekspresji. Objęty jednym lub większą liczbą następujących patentów US Pat. nr 6686461; 6 800 728; 7102024; 7173125; 7 462 689.

Zasada postępowania:

Ten zestaw do wykrywania mikropolimerów może być stosowany w testach immunohistochemicznych skrawków tkankowych utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie. Ogólnie rzecz biorąc, immunohistochemiczne (IHC) techniki barwienia pozwalają na wizualizację antygenów poprzez sekwencyjne stosowanie a swoiste przeciwciało przeciwko antygenowi (przeciwciało pierwszorzędowe), przeciwciało drugorzędowe przeciw przeciwciału pierwszorzędowemu (opcjonalnie przeciwciało łączące/sonda), kompleks enzymatyczny i substrat chromogeniczny z przeplatonymi etapami przemywania. Enzymatyczna aktywacja chromogenu skutkuje widocznym produktem reakcji w miejscu antygenu. Próbkę można następnie wybarwić kontrastowo i nasunąć nakrywkę. Wyniki są interpretowane przy użyciu światła mikroskopu i pomoc w diagnostyce różnicowej procesów patofizjologicznych, które mogą lub mogą nie być związane z określonym antygenem.

Materiały i metody:

Dostarczane odczynniki:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

Rekonstytucja, mieszanie, rozcieńczanie, miareczkowanie:

Odczynniki zestawu do wykrywania mikropolimerów są zoptymalizowane i gotowe do użycia z przeciwciałami Biocare i odczynnikami pomocniczymi. Nie jest wymagane odtwarzanie, mieszanie, rozcieńczanie ani miareczkowanie.

Znane zastosowania:

Immunohistochemia (tkanki utrwalone w formalinie i zatopione w parafinie)

Gatunki Reaktywność:

Łańcuchy ciężkie i lekkie IgG myszy i królików

Dostarczane jako:

Uniwersalna sonda AP MACH 4 – UP536

Buforowany roztwór soli, pH 7,2-7,4, zawierający nośnik białkowy i mniej niż 0,1% środka konserwującego azydek sodu. Dodatkowe informacje znajdują się w Karcie Charakterystyki.

MACH 4 Uniwersalny polimer AP – MRAP536

Buforowany roztwór soli, pH 7,6-7,8, zawierający nośnik białkowy i mniej niż 0,01% ProClin 300 i/lub mniej niż 0,5% ProClin 950 jako środek konserwujący. Dodatkowe informacje znajdują się w Karcie Charakterystyki.

Materiały i odczynniki potrzebne, ale niedostarczane:

Szkiełka mikroskopowe, naładowane dodatnio

Pozytywne i negatywne kontrole tkankowe

Komora pustynna* lub podobna Suszarka (opcjonalnie)

Ksylen lub substytut ksylenu

Etyanol lub alkohol odczynnikowy

Komora odsłaniająca* lub podobny szybkowar (opcjonalnie)

Woda dejonizowana lub destylowana

Bufor płuczący*

Odczynniki do obróbki wstępnej* (opcjonalnie)

Trawienie enzymatyczne* (opcjonalnie)

Blok peroksydazy* (opcjonalnie)

Blok białkowy* (opcjonalnie)

Przeciwciało pierwszorzędowe*

Odczynniki kontroli ujemnej*

Chromogeny*

Hematoksylin* (barwienie kontrastujące)

Odczynnik barwiący*

*

Szkiełko nakrywkowe

Mikroskop świetlny (powiększenie 40-400X)

* Produkty medyczne Biocare: Dalsze informacje dotyczące numerów katalogowych i zamawiania można znaleźć na stronie internetowej Biocare Medical znajdującej się pod adresem <http://biocare.net>. Niektóre odczynniki wymienione powyżej są oparte na konkretnym zastosowaniu i stosowanym systemie detekcji.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

BIOCARE
M E D I C A L

Polish

Przechowywanie i stabilność:

Przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C. Produkt jest stabilny do daty ważności wydrukowanej na etykiecie fiolki, jeśli jest przechowywany w tych warunkach. Nie stosować po upływie daty ważności. Przechowywanie w warunkach innych niż określone należy zweryfikować. Odczynniki zestawu są gotowe do użycia i nie należy ich rozcieńczać. Stabilność odczynnika rozcieńczonego przez użytkownika nie została ustalona przez firmę Biocare.

Kontrole dodatnie i ujemne należy analizować jednocześnie ze wszystkimi próbками pobranymi od pacjentów. W przypadku zaobserwowania nieoczekiwanej odczyny, którego nie można解释zyć różnicami w procedurach laboratoryjnych, i podejrza się problem z przeciwciałem, należy skontaktować się z pomocą techniczną firmy Biocare pod numerem 1-800-542-2002 lub za pośrednictwem informacji dotyczących pomocy technicznej dostępnych na stronie biocare.net.

Przygotowanie próbki:

Tkanki utrwalone w formalinie nadają się do użycia przed zatopieniem w parafinie. Tkanki kostne należy odwapnić przed przetwarzaniem tkanek, aby ułatwić cięcie tkanek i zapobiec uszkodzeniu ostrzy mikrotomu.^{1,2}

Prawidłowo utrwalone i zatopione tkanki wykazujące ekspresję określonego docelowego antygenu należy przechowywać w chłodnym miejscu. Ustawa o doskonaleniu laboratoriów klinicznych (CLIA) z 1988 r. wymaga w 42 CFR §493.1259(b), że „Laboratorium musi przechowywać wybarwione preparaty przez co najmniej dziesięć lat od daty oględzin i zachować bloki próbek przez co najmniej dwa lata od daty oględzin.”³

Obróbka tkanek przed barwieniem:

W wykonaj odzyskiwanie epitopów indukowane ciepłem (HIER) zgodnie z zalecanym protokołem poniżej. Wykazano, że rutynowe stosowanie HIER przed IHC minimalizuje niespójność i standaryzuje barwienie.^{4,5}

Ostrzeżenia i środki ostrożności:

1. Zestaw odczynników zawiera mniej niż 0,1% azydku sodu. Steżenia poniżej 0,1% nie są materiałami niebezpiecznymi podlegającymi zgłoszeniu zgodnie z US 29 CFR 1910.1200, komunikatem o zagrożeniach OSHA i dyrektywą WE 91/155/WE. Azydek sodu (NaN₃) stosowany jako środek konserwujący jest toksyczny w przypadku połknienia. Azydek sodu może reagować z ołowianymi i miedzianymi instalacjami wodociągowymi, tworząc wysoce wybuchowe azydki metali. Po usunięciu spłukać dużą ilością wody, aby zapobiec gromadzeniu się azydu w kanalizacji. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶.
2. Odczynniki zestawu zawierają mniej niż 0,05% ProClin 300 i/lub mniej niż 1% ProClin 950. Podczas pracy należy nosić rękawice i odzież ochronną oraz stosować rozsądne środki ostrożności, ponieważ ProClin jest sklasyfikowany jako drażniący i może powodować uczulenie w kontakcie ze skórą. Unikać kontaktu z oczami, skórą i błonami śluzowymi.
3. Obchodzić się z materiałami pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego jako potencjalnie niebezpiecznymi biologicznie i usuwać takie materiały z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności. W przypadku narażenia postępuj zgodnie z wytycznymi sanitarnymi właściwych władz tam, gdzie są stosowane.^{7,8}
4. Próbki przed i po utrwalaniu oraz wszystkie materiały narażone na ich działanie należy traktować tak, jakby mogły przenosić infekcję i usuwać z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności. Nigdy nie pipetować odczynników ustami i unikać kontaktu odczynników i próbek ze skórą i błonami śluzowymi. Jeśli odczynniki lub próbki zetkną się z wrażliwymi obszarami, przemyj je dużą ilością wody.⁹
5. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne odczynników może spowodować wzrost niespecyficznego barwienia.
6. Czasy inkubacji lub temperatury inne niż podane mogą dawać błędne wyniki. Użytkownik musi zatwierdzić każdą taką zmianę.
7. Nie używać odczynnika po upływie daty ważności wydrukowanej na fiolce.

8. Odczynniki zestawu do wykrywania mikropolimerów są zoptymalizowane i gotowe do użycia z przeciwciałami Biocare i odczynnikami pomocniczymi. Zalecane protokoły i warunki stosowania znajdują się w instrukcjach użycia przeciwciała pierwszorzędowego i innych odczynników pomocniczych.

9. Postępuj zgodnie z lokalnymi i/lub stanowymi przepisami dotyczącymi sposobu utylizacji.

10. Karta charakterystyki jest dostępna na żądanie i znajduje się pod adresem <http://biocare.net>.

11. Zgłaszać wszelkie poważne incydenty związane z tym urządzeniem, kontaktując się z lokalnym przedstawicielem firmy Biocare i odpowiednimi właściwymi organami państwa członkowskiego lub kraju, w którym znajduje się użytkownik.

Ten zestaw do wykrywania mikropolimerów zawiera elementy sklasyfikowane zgodnie z poniższą tabelą zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 1272/2008.

Zaryzykować	Code	Oświadczenie o zagrożeniu
	H317	Może powodować reakcję alergiczną skóry.
N/A	H402 H412	Szkodliwy dla organizmów wodnych. Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

Instrukcja użycia:

Odczynniki zestawu do wykrywania mikropolimerów są zoptymalizowane i gotowe do użycia z przeciwciałami Biocare i odczynnikami pomocniczymi. Zalecane protokoły i warunki stosowania znajdują się w instrukcjach użycia przeciwciała pierwszorzędowego i innych odczynników pomocniczych. Czasy i temperatury inkubacji będą się różnić w zależności od określonego protokołu przeciwciał.

W przypadku korzystania z automatycznego instrumentu do barwienia należy zapoznać się z instrukcją obsługi konkretnego instrumentu oraz instrukcjami użytkowania w celu uzyskania informacji o parametrach operacyjnych.

Ogólne etapy procedury przeprowadzania IHC:

1. Odparafinowanie: Odparafinować preparaty w Slide Brite lub ksylenie. Uwodnić szkielek w szeregu stopniowanych alkoholi do wody.
2. Blok nadtlenkowy (opcjonalnie): Blokuj przez 5 minut za pomocą Peroxidized 1.
3. Roztwór do wstępnej obróbki/Protokół: Proszę zapoznać się z odpowiednim arkuszem danych przeciwciał pierwszorzędowych w celu uzyskania zalecanego roztworu do wstępnej obróbki i protokołu.
4. Blok białkowy (opcjonalnie): Inkubować przez 5-10 minut w temperaturze pokojowej (RT) z Background Punisher.
5. Przeciwciało pierwszorzędowe: Informacje dotyczące czasu inkubacji można znaleźć w arkuszu danych przeciwciał pierwszorzędowych.
6. Sonda (tylko mysie przeciwciało): Inkubować przez 5-15 minut w temperaturze pokojowej z sondą MACH 4 Universal AP Probe.
7. Polimer: Inkubować przez 10-20 minut dla mysich przeciwciał lub 30 minut dla króliczych przeciwciał w RT z polimerem MACH 4 MR AP.
8. Chromogen: Inkubować przez 5 minut w RT z Warp Red.
9. Barwienie kontrastowe: Barwienie kontrastowe hematoksyliną. Przepłukać wodą dejonizowaną. Zastosuj Blueing Solution Tacha przez 1 minutę. Przepłukać wodą dejonizowaną.

Uwagi techniczne:

63/114



EC REP EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Polish

BIOCARE
M E D I C A L

1. Używaj TBS tylko do etapów mycia. Bufory płuczające PBS hamują barwienie fosfatazu alkaliczną.
2. Nie używaj koziego serum jako bloku białkowego. Nie używaj narzędzia Background Eraser ani Background Terminator.

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). 2011¹⁰

Pozytywna kontrola tkankowa:

Zewnętrzne materiały kontroli pozytywnej powinny być świeżymi próbami utrwalonymi, przetworzonymi i osadzonymi tak szybko, jak to możliwe, w taki sam sposób, jak próbki pacjenta. Pozytywne kontrole tkankowe wskazują na prawidłowo przygotowane tkanki i właściwe techniki barwienia. Każda seria barwienia powinna zawierać jedną pozytywną zewnętrzną kontrolę tkankową dla każdego zestawu warunków badania.

Tkanki użyte jako zewnętrzne materiały kontroli pozytywnej powinny być wybrane z próbek pobranych od pacjentów z dobrze scharakteryzowanymi niskimi poziomami pozytywnej aktywności docelowej, która daje słabe dodatnie barwienie. Niski poziom pozytywności dla zewnętrznych kontroli dodatkowych został zaprojektowany w taki sposób, aby zapewnić wykrywanie subtelnych zmian czułości przeciwcała pierwszorzędowych wynikających z niestabilności lub problemów z metodologią IHC. Dostępne w handlu szkiełka kontrolne tkanek lub próbki przetworzone w inny sposób niż próbki pacjenta służą jedynie do walidacji działania odczynnika i nie weryfikują przygotowania tkanki.

Znane dodatnie kontrole tkankowe należy wykorzystywać wyłącznie do monitorowania prawidłowego działania przetworzonych tkanek i odczynników testowych, a nie jako pomoc w formułowaniu określonej diagnozy próbek pobranych od pacjentów. Jeśli pozytywne kontrole tkankowe nie wykażą pozytywnego barwienia, wyniki z próbami testowymi należy uznać za nieważne.

Negatywna kontrola tkankowa:

W każdym cyklu barwienia należy użyć utrwalonej, przetworzonej i zatopionej kontroli tkankowej ujemnej w sposób identyczny jak próbka(-y) pacjenta(-e) w celu zweryfikowania swoistości pierwszorzędowego przeciwcała IHC demonstrację antygenu docelowego oraz wskazanie specyficznego barwienia tła (fałszywie pozytywne barwienie). Również różnorodność różnych typów komórek obecnych w większości skrawków tkanek może być używana przez laboranta jako wewnętrzne punkty kontroli ujemnej w celu weryfikacji działania IHC specyfikacje. Rodzaje i źródła próbek, które mogą być użyte do uzyskania tkanki ujemnej kontrole są wymienione w sekcji Charakterystyki wydajności.

W przypadku wystąpienia swoistego barwienia (fałszywie dodatniego barwienia) w negatywnej kontroli tkankowej, wyniki próbek pacjentów należy uznać za nieważne.

Niespecyficzna kontrola odczynnika ujemnego:

Użyj nieswoistej kontroli ujemnej odczynnika zamiast przeciwcała pierwszorzędowego w skrawku każdej próbki pacjenta, aby ocenić nieswoiste odczyny i umożliwić lepszą interpretację swoistego odczynu w miejscu antygenu. Idealnie, kontrola ujemna odczynnika zawiera przeciwcała wytworzone i przygotowane (tj. rozcieńczone do tego samego stężenia przy użyciu tego samego rozcieńczalnika) do użycia w taki sam sposób jak przeciwcała pierwotne, ale nie wykazuje żadnej swoistej reaktywności z tkankami ludzkimi w tej samej matrycy/roztwórce co przeciwcała Biocare . Sam rozcieńczalnik może być stosowany jako mniej pożądana alternatywa dla

wcześniej opisanych kontroli negatywnych odczynników. Okres inkubacji dla kontroli ujemnej odczynnika powinien odpowiadać okresowi inkubacji przeciwcała pierwszorzędowego.

Gdy panele kilku przeciwcała są używane na skrawkach seryjnych, obszary barwiące się negatywnie na jednym szkiełku mogą służyć jako kontrola tła ujemnego/nieswoistego wiążania dla innych przeciwcała. W celu odróżnienia endogennej aktywności enzymów lub nieswoistego wiążania enzymów od swoistej immunoreaktywności dodatkowe tkanki pacjenta można barwić wyłącznie odpowiednio substrat-chromogen lub kompleksy enzymatyczne (PAP, awidyna-biotyna, streptavidyna) i substrat-chromogen.

Weryfikacja testu:

Przed pierwszym użyciem przeciwcała lub systemu barwienia w procedurze diagnostycznej użytkownik powinien zweryfikować specyficzność przeciwcała, testując je na szeregu tkanek własnej firmy o znanej charakterystyce działania immunohistochemicznego, reprezentujących znane tkanki dodatnie i ujemne. Należy zapoznać się z procedurami kontroli jakości opisanymi wcześniej w tej części ulotki informacyjnej oraz z zaleceniami dotyczącymi kontroli jakości programu certyfikacji CAP¹¹ dla immunohistochemii i/lub wytycznymi NCCLS IHC¹². Te procedury kontroli jakości należy powtarzać dla każdej nowej serii przeciwcała lub za każdym razem, gdy nastąpi zmiana parametrów testu. Tkanki wymienione w części Charakterystyki wydajności nadają się do weryfikacji testu.

Rozwiązywanie problemów:

Postępuj zgodnie z zaleceniami dotyczącymi protokołu specyficznego dla przeciwcała, zgodnie z dostarczonym arkuszem danych. Jeśli wystąpią nietypowe wyniki, skontaktuj się z pomocą techniczną firmy Biocare pod numerem 1-800-542-2002.

Interpretacja barwienia:

Zestaw MACH 4 Universal AP Polymer Kit wytwarza reakcję barwy czerwonej w miejscach antygenu lokalizowanych przez przeciwcała pierwszorzędowe. Przed interpretacją wyników pacjenta, wykwalifikowany patolog musi ocenić wybarwienie kontroli. Kontrole ujemne są oceniane i porównywane z wybarwionymi preparatami, aby upewnić się, że zaobserwowane wybarwienie nie jest wynikiem niespecyficznych interakcji.

Pozytywna kontrola tkankowa:

Pozytywną kontrolę tkankową wybarwioną wskazanym przeciwcałem należy najpierw zbadać, aby upewnić się, że wszystkie odczynniki działają prawidłowo. Odpowiednie wybarwienie komórek docelowych (jak wskazano powyżej) wskazuje na dodatnią reaktywność. Jeśli dodatnie kontrole tkankowe nie wykażą pozytywnego barwienia, wszelkie wyniki z próbami testowymi należy uznać za nieważne.

Barwa produktu reakcji może się różnić w zależności od użytego chromogenu substratu. Informacje na temat oczekiwanych reakcji barwnych można znaleźć w ulotkach dołączonych do opakowania podłożu. Ponadto w odmianach metody barwienia można zaobserwować metachromazję.¹³ W przypadku stosowania barwnika kontrastującego, w zależności od długości inkubacji i siły użytego barwnika kontrastującego, barwienie kontrastujące spowoduje zabarwienie jąder komórkowych. Nadmierne lub niepełne barwienie kontrastowe może zagrozić prawidłowej interpretacji wyników. Zapoznać się z protokołami dotyczącymi zalecanego barwienia kontrastowego.

Negatywna kontrola tkankowa:

Negatywna kontrola tkankowa powinna być zbadana po pozytywnej kontroli tkankowej, aby zweryfikować specyficzność znakowania docelowego antygenu przez przeciwcała pierwszorzędowe. Brak specyficznego barwienia w negatywnej kontroli tkankowej potwierdza brak reaktywności krzyżowej

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

64/114



TP v2 (02/09/2023)

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

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Polish

BIOCARE
M E D I C A L

przeciwnią z komórkami/składnikami komórkowymi. W przypadku wystąpienia specyficznego barwienia (fałszywie dodatniego barwienia) w ujemnej zewnętrznej kontroli tkankowej, wyniki uzyskane z próbki pacjenta należy uznać za nieważne.

Barwienie niespecyficzne, jeśli występuje, ma zwykle rozproszony wygląd. Sporadyczne barwienia tkanki łącznej można również zaobserwować w skrawkach z tkanek nadmiernie utrwalonych w formalinie. Użyj nienaruszonych komórek do interpretacji wyników barwienia. Komórki martwicze lub zdegenerowane często wybarwiają się niespecyficznie.

Tkanka pacjenta:

Zbadaj próbki pacjentów wybarwione wskazanym przeciwniąlem ostatni. Intensywność barwienia dodatniego należy oceniać w kontekście każdego nieswoistego barwienia tła kontroli ujemnej odczynnika. Podobnie jak w przypadku każdego testu immunohistochemicznego, wynik ujemny oznacza, że antygen nie został wykryty, a nie, że antygen był nieobecny w testowanych komórkach/tkankach. Jeśli to konieczne, użyj panelu przeciwniąla, aby zidentyfikować reakcje fałszywie ujemne.

Patrz Podsumowanie i wyjaśnienie, Ograniczenia i Charakterystyka działania, aby uzyskać szczegółowe informacje dotyczące wskazanej immunoreaktywności przeciwniąla.

Ograniczenia: Ograniczenia

ogólne:

- Do *in vitro* (IVD)
- Ten produkt jest przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego: Immunohistochemia to wieloetapowy proces diagnostyczny, który obejmuje specjalistyczne szkolenie w zakresie doboru odpowiednich odczynników; wybór tkanek, utrwalanie i przetwarzanie; przygotowanie slajdu IHC; i interpretację wyników barwienia.
- Do stosowania wyłącznie na receptę lekarza. (Tylko Rx)
- Barwienie tkanek zależy od obchodzenia się z tkanką i jej przetwarzania przed barwieniem. Niewłaściwe utrwalanie, zamrażanie, rozmrażanie, mycie, suszenie, ogrzewanie, cięcie na skrawki lub zanieczyszczanie innymi tkankami lub płynami może powodować artefakty, pułapkowanie przeciwniąla lub wyniki fałszywie ujemne. Niespójne wyniki mogą być spowodowane różnicami w metodach mocowania i zatapiania lub nieodłącznymi nieprawidłowościami w obrębie tkanki.¹⁴
- Nadmierne lub niepełne barwienie kontrastujące może zagrozić prawidłowej interpretacji wyników.
- Kliniczna interpretacja każdego dodatniego lub ujemnego odczynu powinna być oceniana w kontekście obrazu klinicznego, morfologii i innych kryteriów histopatologicznych. Kliniczna interpretacja jakiegokolwiek dodatniego lub ujemnego odczynu powinna być uzupełniona badaniami morfologicznymi z wykorzystaniem odpowiednich dodatkowych i ujemnych kontroli wewnętrznych i zewnętrznych, a także innymi testami diagnostycznymi. Za interpretację wszystkich etapów przygotowania i interpretację końcowego preparatu IHC odpowiada wykwalifikowany patolog, który jest zaznajomiony z właściwym stosowaniem przeciwniąla IHC, odczynników i metod.
- Optymalne protokoły dla konkretnego zastosowania mogą się różnić. Obejmują one między innymi utrwalanie, metodę odzyskiwania ciepła, czasy inkubacji, rozcieńczanie przeciwniąla, grubość skrawka tkanki i zastosowany zestaw do wykrywania. Zalecane protokoły i warunki stosowania znajdują się w instrukcjach użycia przeciwniąla pierwszorzędowego i innych odczynników pomocniczych. Zalecenia i protokoły zawarte w arkuszu danych opierają się na wyłącznym stosowaniu produktów Biocare. Ostatecznie to badacz jest odpowiedzialny za określenie optymalnych warunków.

- Ten produkt nie jest przeznaczony do stosowania w cytometrii przepływowej. Charakterystyki działania nie zostały określone dla cytometrii przepłybowej.
- Tkanki od osób zakażonych wirusem zapalenia wątroby typu B i zawierające antigen powierzchniowy wirusa zapalenia wątroby typu B (HBsAg) mogą wykazywać niespecyficzne barwienie peroksydazą chrzanową.¹⁵
- Odczynniki mogą wykazywać nieoczekiwane reakcje w tkankach, które wcześniej nie były badane. Możliwość wystąpienia nieoczekiwanych reakcji nawet w badanych grupach tkanek nie może być całkowicie wyeliminowana ze względu na biologiczną zmienność ekspresji antygenu w nowotworach lub innych tkankach patologicznych.¹⁶ Skontaktuj się z działem pomocy technicznej firmy Biocare pod numerem 1-800-542-2002 lub za pośrednictwem informacji pomocy technicznej dostępnych na stronie biocare.net z udokumentowaną nieoczekiwana reakcją.
- Normalne/neodporne surowice pochodzące z tego samego źródła zwierzęcego, co drugorzędowe surowice odpornościowe stosowane w etapach blokowania, mogą dawać wyniki fałszywie ujemne lub fałszywie dodatnie z powodu obecności autoprzeciwniąla lub przeciwniąla naturalnych.
- Wyniki fałszywie dodatnie mogą być spowodowane nieimmunologicznym wiązaniem białek lub produktów reakcji substratu. Mogą być również spowodowane aktywnością pseudoperoksydazy (erytrocyty), endogenną aktywnością peroksydazy (cytochrom C) lub endogenną biotyną (np. wątroba, pierś, mózg, nerki) w zależności od rodzaju zastosowanego immunobarwienia.¹⁴
- Wynik ujemny oznacza, że antygenu nie wykryto, a nie, że antygenu nie było w badanych komórkach lub tkankach.

Ograniczenia specyficzne dla produktu:

Brak dodatkowych ograniczeń specyficznych dla produktu.

Charakterystyka działania:

Barwienie przeprowadzono stosując protokoły podane w instrukcji użycia konkretnego przeciwniąla lub zgodnie ze specyfikacją. Czułość i swoistość barwienia oceniano w zakresie różnych typów tkanek prawidłowych i nowotworowych ocenianych podczas opracowywania przeciwniąał pierwotnych.

Odtwarzalność: Odtwarzalność

systemów wykrywania i odczynników systemowych firmy Biocare jest weryfikowana poprzez pomiar o pośredniej precyzyji, w ramach którego różne serie odczynników były testowane przez dłuższy czas przy użyciu różnych operatorów, analytyków, partii odczynników, próbek tkanek i sprzętu. Barwienie uzyskane dla każdego ocenianego odczynnika do wykrywania było spójne i przeprowadzone zgodnie z oczekiwaniemi.

Rozwiązywanie problemów:

- Brak barwienia jakichkolwiek szkiełek – Sprawdź, czy użyto odpowiednich tkanek kontroli pozytywnej, przeciwniąla i produktów wykrywających. Sprawdź, czy usuwanie lub obróbka wstępna nie została wykonana niekompletnie lub niewłaściwie.
- Słabe barwienie wszystkich szkiełek – Sprawdzić, czy zastosowano odpowiednią tkankę kontroli dodatniej, przeciwniąla i produkty wykrywające.
- Nadmierne tło wszystkich preparatów – Może występować wysoki poziom endogennej biotyny (w przypadku stosowania produktów do wykrywania opartych na biotynie), endogennej aktywności HRP przekształcającej chromogen w barwny produkt końcowy (użyj bloku peroksydazy) lub nadmiernej nieswoistej interakcji z białkami (użyj białka blokady, taka jak roztwór blokujący na bazie surowicy lub kazeiny).
- Skrawki tkanek zmywają szkiełka podczas inkubacji – Sprawdź szkiełka, aby upewnić się, że są naładowane dodatnio.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

65/114



TP v2 (02/09/2023)

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

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Polish

BIOCARE
M E D I C A L

5. Zbyt ciemne specyficzne barwienie – Sprawdź protokół, aby określić, czy na szkiełku zastosowano odpowiednie miano przeciwiął, a także odpowiednie czasy inkubacji dla wszystkich odczynników. Ponadto upewnij się, że protokół zawiera wystarczającą liczbę etapów przemywania, aby usunąć nadmiar odczynników po zakończeniu etapów inkubacji.

Literatura:

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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
15. 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.
16. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Norwegian

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Tiltenkt bruk:

In vitro diagnostisk bruk

MACH 4 Universal AP Polymer Kit er beregnet for bruk i enten manuelle eller automatiserte immunhistokjemi (IHC)-fargeprotokoller ved bruk av en alkalisk fosfatase (AP) polymer ett- eller to-trinns påføringsmetode. Dette mikropolymerdeteksjonssettet er designet for påvisning av muse IgG og IgM, og/eller kanin IgG primære antistoffer bundet til målantigener i formalinfikset, parafininnstøpt (FFPE) vev under IHC-fargeprosessen. Den kliniske tolkningen av enhver farging eller dens fravær bør kompletteres av 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:

MACH 4 Universal AP Polymer Kit er utformet ved å bruke en ett-trinns eller to-trinns metode for å påvise primære antistoffer fra mus og/eller kaniner for å danne et antistoff-enzymkompleks. Dette komplekset blir deretter visualisert ved å bruke et passende substrat/kromogen. I ett-trinnsmetoden påføres et sekundært antistoff direkte koblet til mikropolymeren, mens i to-trinnsmetoden er det sekundære antistoffet umerket, og et ekstra enzymbundet polymermerket reagens påføres sekvensielt. To-trinnsmetoden er designet for å forsterke deteksjonen i tilfeller med lavt uttrykkende antigener. Dekkes av ett eller flere av følgende US Pat. nr. 6.686.461; 6.800.728; 7.102.024; 7.173.125; 7.462.689.

Prosedyreprinsipp:

Dette mikropolymerdeteksjonssettet kan brukes i immunhistokjemitestning av formalinfikserte, parafininnstøpte vevsseksjoner. Generelt immunhistokjemisk (IHC) fargeteknikker tillater visualisering av antigener via sekvensiell påføring av en spesifisk antistoff mot antigenet (primært antistoff), et sekundært antistoff mot det primære antistoffet (valgfritt koblingsantistoff/probe), et enzymkompleks og et kromogenet substrat med mellomliggende vasketrinn. Den enzymatiske aktivering av kromogenet resulterer i et synlig reaksjonsprodukt på antigenestedet. Prøven kan deretter motfarges og dekselet gli. Resultatene tolkes ved hjelp av et lys mikroskop og hjelp 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
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

rekonstituering, blanding, fortynning, titrering:

Mikropolymerdeteksjonsreagens(e) er optimalisert og klar til bruk med Biocare-antistoffer og hjelpercagenser. Ingen rekonstituering, blanding, fortynning eller titrering er nødvendig.

Kjente bruksområder:

Immunhistokjemi (formalinfiksert parafininnstøpt vev)

Arter Reaktivitet:

Mus og kanin IgG tunge og lette kjeder

Leveres som:

MACH 4 Universal AP-sonde – UP536

Bufret saltopplosning, pH 7,2-7,4, som inneholder en proteinbærer og mindre enn 0,1 % natriumazidkonserveringsmiddel. Se sikkerhetsdatabladet for ytterligere detaljer.

MACH 4 Universal AP Polymer – MRAP536

Bufret saltopplosning, pH 7,6-7,8, 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:

Objektglass, positivt ladet

Positive og negative vevskontroller

Desert Chamber* eller lignende Tørkeovn (valgfritt)

Xylen eller

Etolol eller reagens alkohol

Decloaking Chamber* eller lignende trykkoker (valgfritt)

Avionisert eller destillert vann

Vaskebuffer*

Forbehandlingsreagenser* (valgfritt)

Enzymfordøyelse* (valgfritt)

Peroksidaseblokk* (valgfritt)

Proteinblokk* (valgfritt)

Primært antistoff*

Negative kontrollreagenser*

Kromogener*

Hematoxylin* (motfarging) Blåningsreagens

Monteringsmedium

*

Dekkglass lysmikroskop

*(40-400X forstørrelse)

* Biocare Medical Products: Se nettstedet til Biocare Medical på <http://biocare.net> for mer informasjon om katalognumre og bestilling. Enkelte reagenser oppført ovenfor er basert på spesifikk bruk og deteksjonssystem som brukes.

Oppbevaring og stabilitet:

Oppbevares ved 2°C til 8°C. Produktet er stabilt til utløpsdatoen som er trykt på hetteglassetiketten, når det oppbevares under disse forholdene. Må ikke brukes etter utløpsdato. Oppbevaring under andre forhold enn de som er spesifisert, må verifiseres. Reagenssettet(e) er klare til bruk og skal ikke fortynnes. Stabiliteten til brukerfortynnet reagens er ikke fastslått av Biocare.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Norwegian

BIOCARE
MEDICAL

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 vevsbehandling for å lette skjæring av vev og forhindre skade på mikrotombladene.^{1,2}

Riktig fikset 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 fargeede objektglass minst ti år fra datoene for undersøkelse og oppbevar prøveblokker i minst to år fra eksamensdatoen."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:

- Sett-reagens(er) inneholder mindre enn 0,1 % natriumazid. Konsentrasjoner mindre enn 0,1 % er ikke rapporterbare farlige materialer i henhold til US 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication og EC-direktiv 91/155/EC. Natriumazid (NaN₃) brukt som konserveringsmiddel er giftig ved innak. Natriumazid kan reagere med bly- og kobberrør og danne svært eksplosive metallazider. Ved avhending, skyll med store mengder vann for å forhindre oppbygging av azid i rølleggerarbeid. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶.
- Settreagenser inneholder mindre enn 0,05 % ProClin 300 og/eller mindre enn 1 % ProClin 950. Bruk hanske og vernekjær og ta rimelige forholdsregler ved håndtering, da ProClin er klassifisert som irritende 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.^{7,8}
- 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 kastes 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.⁹
- 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.
- Mikropolymerdeteksjonsreagens(e) er optimalisert og klar til bruk med Biocare-antistoffer og hjelpercagenser. Se bruksanvisningen for det primære antistoffet og andre hjelpercagenser for anbefalte protokoller og bruksbetingelser.
- Følg lokale og/eller statlige myndigheters krav for avhendingsmetode.
- SDS er tilgjengelig på forespørsel og ligger 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.

Dette mikropolymerdeteksjonssettet inneholder komponenter klassifisert som angitt i tabellen nedenfor i samsvar med forordning (EC) nr. 1272/2008.

Fare	Code	Fareerklæring
	H317	Kan forårsake en allergisk hudreaksjon.
N/A	H402 H412	Skadelig for liv i vann. Skadelig for vannlevende organismer med langvarige effekter.

Bruksanvisning:

Mikropolymerdeteksjonsreagens(e) er optimalisert og klar til bruk med Biocare-antistoffer og hjelpercagenser. Se bruksanvisningen for det primære antistoffet og andre hjelpercagenser 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 prosedyretrinn for å utføre IHC:

- Avparafinising: Avparafiniser objektglass i Slide Brite eller xylen. Hydrat objektglass i en serie graderte alkoholer til vann.
- Peroksidblokk (valgfritt): Blokker i 5 minutter med Peroxidized 1.
- Forbehandlingsløsning/-protokoll: Se det respektive databladet for primær antistoff for anbefalt forbehandlingsløsning og protokoll.
- Proteinblokk (valgfritt): Inkuber i 5-10 minutter ved romtemperatur (RT) med Background Punisher.
- Primært antistoff: Se det respektive databladet for primær antistoff for inkubasjonstid.
- Probe (kun museantistoffer): Inkuber i 5-15 minutter ved romtemperatur med MACH 4 Universal AP-probe.
- Polymer: Inkuber i 10-20 minutter for museantistoffer eller 30 minutter for kaninantistoffer ved RT med MACH 4 MR AP Polymer.
- Kromogen: Inkuber i 5 minutter ved romtemperatur med Warp Red.
- Motfarging: Motfarging med hematoksylin. Skyll med avionisert vann. Påfør Tacha's Blueing Solution i 1 minutt. Skyll med avionisert vann.

Tekniske merknader:

- Bruk kun TBS for vasketrinn. PBS vaskebuffere vil hemme alkalisk fosfatasefarging.
- Ikke bruk geiteserum som proteinblokk. Ikke bruk Background Eraser eller Background Terminator.

Kvalitetskontroll:

Se CLSI kvalitetsstandarder for design og implementering av immunhistokjemianalyser; Godkjent guideline-andre utgave (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011¹⁰

Positiv vevskontroll:

Eksternt positivt kontrollmateriale bør være ferske prøver fikset, behandlet og innebygd så snart som mulig på samme måte som pasientprøven(e). Positive vevskontroller er en indikasjon på korrett forberedt vev og riktige farge teknikker. Én positiv eksternt 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

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Norwegian

BIOCARE
MEDICAL

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 hjelpe til å formulere en spesifikk 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 spesifikk 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 spesifikk farging (falsk positiv farging) oppstår i den negative vevskontrollen, bør resultatene med pasientprøvene anses som ugyldige.

Uspesifikk negativ reagenskontroll:

Bruk en uspesifikk negativ reagenskontroll i stedet for det primære antistoffet med en del av hver pasientprøve for å evaluere uspesifikk farging og tillate bedre tolkning av spesifikk farging på antigenstedet. Ideelt sett inneholder en negativ reagenskontroll et antistoff produsert og forberedt (dvs. fortynnet til samme koncentrasjon med samme fortynningsmiddel) for bruk på samme måte som det primære antistoffet, men viser ingen spesifikk reaktivitet med humant vev i samme matrise/lösning som Biocare-antistoffet. Fortynningsmiddel alene kan brukes som et mindre ønskelig alternativ til de tidligere beskrevne negative reagenskontrollene. Inkubasjonsperioden for den negative reagenskontrollen skal tilsvare inkubasjonsperioden for det primære antistoffet.

Når paneler med flere antistoffer brukes på seriesnitt, kan de negativt 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 immunreakтивitet, kan ytterligere pasientvev farges utelukkende med henholdsvis substrat-kromogen eller enzymkompleks (PAP, avidin-biotin, streptavidin) og substrat-kromogen.

Analyseverifisering:

Før første gangs bruk 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 i CAP Certification Program¹¹ for Immunohistochemistry og/eller NCCLS IHC-retningslinjen¹². 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 analyseverifisering.

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:

MACH 4 Universal AP Polymer Kit produserer en rød fargereaksjon på antigenestedene 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.¹³

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:

Den negative vevskontrollen bør undersøkes etter den positive vevskontrollen for å verifisere spesifisiteten til merkingen av målantigenet med det primære antistoffet. Fravaaret av spesifikk farging i den negative vevskontrollen bekrefter mangelen på antistoffkryssreakтивitet 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 negativ 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 antistoffimmunreakтивitet.

Begrensninger:

Generelle begrensninger:

- For *in vitro* diagnostisk (IVD) bruk
- 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.
- Kun til bruk etter resept fra lege. (Kun Rx)
- Vefsfarging er avhengig av håndtering og behandling av vevet før farging. Feil fiksering, frysing, tining, vasking, tørking, oppvarming,

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Norwegian

BIOCARE
M E D I C A L

- seksjonering eller kontaminering med andre vev eller væsker kan produsere artefakter, antistoffanger eller falske negative resultater. Inkonsekvente resultater kan skyldes variasjoner i fiksérings- og innstøpingssmetoder, eller iboende uregelmessigheter i vevet.¹⁴
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, vevssniittykkelse og deteksjonssett som brukes. Se bruksanvisningen for det primære antistoffet og andre hjelpeagenser for anbefalte protokoller og bruksbetingelser. Databladanbefalingene og protokollene er basert på eksklusiv bruk av Biocare-produkter. Til svært 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.¹⁵
 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.¹⁶ Kontakt Biocares tekniske støtte på 1-800-542-2002, eller via den tekniske støtteinformasjonen gitt på biocare.net, med dokumenterte uventede reaksjoner.
 11. Normale/ikke-immune sera fra samme dyrekilde som sekundære antisera brukt i blokkeringstrinn kan forårsake falskt negative eller falskt positive resultater på grunn av autoantistoffer eller naturlige antistoffer.
 12. Falsk-positive resultater kan sees på grunn av ikke-immunologisk binding av proteiner eller substratreaksjonsprodukter. De kan også være forårsaket av pseudoperoksidsaktivitet (erytrocytter), endogen peroksidsaktivitet (cytokrom C) eller endogent biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) avhengig av hvilken type immunfarging som brukes.¹⁴
 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 reagensloter 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.

Feilsøking:

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

70/114



TP v2 (02/09/2023)

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

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

1. Ingen farging av noen objektglass – Kontroller for å finne ut passende positivt kontrollvev, antistoff og deteksjonsprodukter som er brukt. 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 caseinbasert blokkeringssøsning).
4. Vevseksjoner 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 antistofftiter 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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
15. 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.
16. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection

901-M4U536-080123

Portuguese

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Uso pretendido:

Para *in vitro* diagnóstico

O MACH 4 Universal AP Polymer Kit destina-se a ser utilizado em protocolos de coloração de imuno-histoquímica (IHC) manuais ou automatizados utilizando um método de aplicação de um ou dois passos de um polímero de fosfatase alcalina (AP). Este kit de detecção de micropolímeros foi desenvolvido para a detecção de anticorpos primários IgG e IgM de camundongo e/ou IgG de coelho ligados a抗ígenos-alvo em tecidos fixados em formalina e embebidos em parafina (FFPE) durante o processo de coloração IHC. A interpretação clínica de qualquer coloração ou sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos e controles adequados e deve ser avaliada dentro do contexto da história clínica do paciente e outros testes diagnósticos por um patologista qualificado.

Resumo e explicação:

O MACH 4 Universal AP Polymer Kit foi desenvolvido usando um método de uma ou duas etapas para detectar anticorpos primários de camundongo e/ou coelho para formar um complexo anticorpo-enzima. Este complexo é então visualizado usando um substrato/cromógeno apropriado. No método de uma etapa, um anticorpo secundário diretamente ligado ao micropolímero é aplicado, enquanto no método de duas etapas, o anticorpo secundário não é marcado e um reagente adicional marcado com polímero ligado à enzima é aplicado sequencialmente. O método de duas etapas é projetado para amplificar a detecção em casos de baixa expressão de抗ígenos. Coberto por um ou mais dos seguintes US Pat. nº 6.686.461; 6.800.728; 7.102.024; 7.173.125; 7.462.689.

Princípio do procedimento:

Este kit de detecção de micropolímeros pode ser usado em testes de imuno-histoquímica de seções de tecido fixadas em formalina e embebidas em parafina. Em geral, a imuno-histoquímica (IHC) técnicas de coloração permitem a visualização de抗ígenos através da aplicação sequencial de um anticorpo específico para o抗ígeno (anticorpo primário), um anticorpo secundário para o anticorpo primário (anticorpo/sonda de ligação 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ígeno. O espécime pode então ser contrastado e coberto com deslizamento. Os resultados são interpretados usando uma luz microscópio e auxilia no diagnóstico diferencial de processos fisiopatológicos, que podem ou pode não estar associado a um抗ígeno específico.

Materiais e Métodos:

Reagentes Fornecidos:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536L	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
M4U536G20	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL
	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

Reconstituição, Mistura, Diluição, Titulação:

Os reagentes do kit de detecção de micropolímeros são otimizados e estão prontos para uso com anticorpos Biocare e reagentes auxiliares. Não é necessária reconstituição, mistura, diluição ou titulação.

Aplicações conhecidas:

Imuno-histoquímica (tecidos fixados em formalina e embebidos em parafina)

Espécie Reatividade:

Cadeias pesadas e leves de IgG de camundongo e coelho

Fornecido como:

Sonda AP universal MACH 4 – UP536

Solução salina tamponada, pH 7,2-7,4, contendo um transportador de proteína e menos de 0,1% de conservante azida de sódio. Consulte a Ficha de Dados de Segurança para obter detalhes adicionais.

Polímero MACH 4 Universal AP - MRAP536

Solução salina tamponada, pH 7,6-7,8, 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 positivos e negativos de tecido

Desert Chamber* ou similar Estufa de secagem (opcional)

Xileno ou substituto do xileno

Etanol ou álcool reagente

Decloaking Chamber* ou panela de pressão similar (opcional)

Água deionizada ou destilada

Tampão de lavagem*

Reagentes de pré-tratamento* (opcional)

Digestão enzimática* (opcional)

Bloqueio de peroxidase* (opcional)

Bloqueio de proteína* (opcional)

Anticorpo primário*

Reagentes de controle negativo*

Cromógenos*

Hematoxilina* (contracoloração)

Reagente de bluing*

de montagem*

Meio

Microscópio(ampliação de 40-400X)

* Biocare Medical Products: Consulte o site da Biocare Medical localizado em <http://biocare.net> para obter mais informações sobre números de catálogo e pedidos. Certos reagentes listados acima são baseados na aplicação específica e no sistema de detecção usado.

Armazenamento e Estabilidade:

Armazenar de 2°C a 8°C. O produto é estável até o prazo de validade impresso no rótulo do frasco, quando armazenado nestas condições. Não use

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Portuguese

BIOCARE
M E D I C A L

após a data de validade. O armazenamento em 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 usuário não foi estabelecida pela Biocare.

Controles positivos e negativos devem ser executados simultaneamente com todas as amostras de pacientes. Se for observada uma coloração inesperada que não possa 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 em 1-800-542-2002 ou através das informações de suporte técnico fornecidas em biocare.net.

Preparação da amostra: 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 adequadamente fixados e incorporados que expressam o alvo do antígeno 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 pelo menos dez anos a partir da data de exame e reter os blocos de amostras pelo menos dois anos a partir da data do exame".³

Tratamento de tecidos antes da coloração:

Realize a recuperação de epitópos induzida por calor (HIER) de acordo com o protocolo recomendado abaixo. O uso rotineiro de HIER antes da IHC demonstrou minimizar a inconsistência e padronizar a coloração.^{4,5}

Advertências e precauções:

1. Os reagentes do kit contêm menos de 0,1% de azida sódica. Concentrações inferiores a 0,1% não são materiais perigosos reportáveis de acordo com US 29 CFR 1910.1200, Comunicação de risco OSHA e Diretiva EC 91/155/EC. A azida sódica (NaN₃) usada como conservante é tóxica se ingerida. Azida de sódio pode reagir com encanamentos de chumbo e cobre para formar azidas metálicas altamente explosivas. Após o descarte, lave com grandes volumes de água para evitar o acúmulo de azida no encanamento. (Centro de Controle de Doenças, 1976, Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional, 1976)⁶
2. Os reagentes do kit contêm menos de 0,05% de ProClin 300 e/ou menos de 1% de ProClin 950. Use luvas e roupas de proteção e tome precauções razoáveis ao manusear, pois ProClin é classificado como irritante e pode causar sensibilização em contato com a pele. Evite o contato com os olhos, pele e membranas mucosas.
3. 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 quando usadas.^{7,8}
4. As amostras, antes e depois da fixação, e todos os materiais expostos a elas devem ser manuseados como se fossem capazes de transmitir infecção e descartados com as devidas precauções. Nunca pipete reagentes com a boca e evite o contato da pele e membranas mucosas com reagentes e amostras. Se reagentes ou amostras entrem em contato com áreas sensíveis, lave com água em abundância.⁹
5. A contaminação microbiana dos reagentes pode resultar no aumento da coloração inespecífica.
6. Tempos de incubação ou temperaturas diferentes dos especificados podem dar resultados errôneos. O usuário deve validar qualquer alteração.
7. Não use reagente após a data de validade impressa no frasco.
8. Os reagentes do kit de detecção de micropolímeros são otimizados e estão prontos para uso com anticorpos Biocare e reagentes auxiliares. Consulte as instruções de uso do anticorpo primário e de outros reagentes auxiliares para obter os protocolos e condições de uso recomendados.

9. Siga os requisitos das autoridades locais e/ou estaduais quanto ao método de descarte.

10. O SDS está disponível mediante solicitação e está localizado em <http://biocare.net>.

11. Relate quaisquer incidentes graves relacionados a este dispositivo entrando em contato com o representante local da Biocare e a autoridade competente aplicável do Estado Membro ou país onde o usuário está localizado.

Este kit de detecção de micropolímeros contém componentes classificados conforme indicado na tabela abaixo de acordo com o Regulamento (CE) nº 1272/2008.

Perigo	Code	Declaração de perigo
	H317	Pode causar uma reação alérgica na pele.
N/A	H402 H412	Nocivo para a vida aquática. Nocivo para a vida aquática com efeitos duradouros.

Instruções de uso:

Os reagentes do kit de detecção de micropolímeros são otimizados e estão prontos para uso com anticorpos Biocare e reagentes auxiliares. Consulte as instruções de uso do anticorpo primário e de outros reagentes auxiliares para obter os protocolos e condições de uso recomendados. Os tempos e temperaturas de incubação irão variar dependendo do protocolo de anticorpo específico seguido.

Ao usar um instrumento de coloração automatizado, consulte o manual do operador do instrumento específico e as instruções de uso dos parâmetros operacionais.

Etapas processuais gerais para realizar IHC:

1. Desparafinização: Desparafinize as lâminas em Slide Brite ou xileno. Hidrate as lâminas em uma série de álcoois graduados à água.
2. Bloqueio de peróxido (opcional): Bloqueie por 5 minutos com Peroxidized 1.
3. Solução/protocolo de pré-tratamento: consulte a folha de dados do anticorpo primário correspondente para obter a solução e o protocolo de pré-tratamento recomendados.
4. Bloco de proteína (opcional): incubar por 5-10 minutos em temperatura ambiente (RT) com o Background Punisher.
5. Anticorpo Primário: Consulte a folha de dados do respectivo anticorpo primário para saber o tempo de incubação.
6. Sonda (somente anticorpos de camundongo): incubar por 5-15 minutos em temperatura ambiente com MACH 4 Universal AP Probe.
7. Polímero: incubar por 10-20 minutos para anticorpos de camundongo ou 30 minutos para anticorpos de coelho em temperatura ambiente com polímero MACH 4 MR AP.
8. Cromogênio: incubar por 5 minutos à temperatura ambiente com Warp Red.
9. Contracoloração: Contracoloração com hematoxilina. Enxágue com água deionizada. Aplique a Solução Bluing da Tacha por 1 minuto. Enxágue com água deionizada.

Notas Técnicas:

1. Use TBS apenas para etapas de lavagem. Tampões de lavagem PBS irão inibir a coloração de fosfatase alcalina.
2. Não use soro de cabra como bloco de proteína. Não use o apagador de fundo ou o terminador de fundo.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Portuguese

BIOCARE
M E D I C A L

Controle de qualidade:

Consultar os Padrões de Qualidade CLSI para Projeto e Implementação de Ensaios de Imuno-histoquímica; Diretriz Aprovada - Segunda edição (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA EUA (www.clsi.org). 2011¹⁰

Controle de Tecido Positivo:

Os materiais de controle positivo externo devem ser amostras frescas fixadas, processadas e incorporadas o mais rápido possível da mesma maneira que a(s) amostra(s) do paciente. Os controlos de tecido positivos indicam tecidos correctamente preparados e técnicas de coloração adequadas. Um controle de tecido externo positivo para cada conjunto de condições de teste deve ser incluído em cada execução de coloração.

Os tecidos usados para os materiais de controle positivo externo devem ser selecionados a partir de amostras de pacientes com níveis baixos bem caracterizados da atividade do alvo positivo que fornece coloração positiva fraca. O baixo nível de positividade para controles positivos externos é projetado para garantir a detecção de mudanças sutis na sensibilidade do anticorpo primário de instabilidade ou problemas com a metodologia IHC. Lâminas de controle de tecido disponíveis comercialmente ou espécimes processados de forma diferente da(s) amostra(s) do paciente validam apenas o desempenho do reagente e não verificam a preparação do tecido.

Os controlos de tecido positivos conhecidos devem ser utilizados apenas para monitorar o desempenho correto dos tecidos processados e reagentes de teste, e não como um auxílio na formulação de um diagnóstico específico de amostras de pacientes. Se os controlos de tecido positivos não demonstrarem coloração positiva, os resultados com as amostras de teste devem ser considerados inválidos.

Controle de tecido negativo:

Use um controle de tecido 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 seções de tecido pode ser usados pelo laboratorista como locais de controle negativo interno para verificar o desempenho do IHC especificações. Os tipos e fontes de espécimes que podem ser usados para tecido negativo os controlos estão listados na seção Características de Desempenho.

Se ocorrer coloração específica (coloração falso positivo) no controle de tecido negativo, os resultados com as amostras do paciente devem 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 a coloração inespecífica e permitir 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 apresenta reatividade específica com tecidos humanos na mesma matriz/solução que o anticorpo Biocare. O diluente sozinho pode ser usado como uma alternativa menos desejável aos controlos de reagentes negativos descritos anteriormente. O período de incubação do controle reagente negativo deve corresponder ao do anticorpo primário.

Quando painéis de vários anticorpos são usados em seções em série, as áreas de coloração negativa de uma lâmina podem servir como um controle de fundo de ligação negativa/não específica para outros anticorpos. Para

diferenciar a atividade enzimática endógena ou a ligação inespecífica de enzimas da imunoreatividade específica, tecidos adicionais do paciente podem ser corados exclusivamente com substrato-cromogênio ou complexos enzimáticos (PAP, avidina-biotina, estreptavidina) e substrato-cromogênio, respectivamente.

Verificação do ensaio:

Antes do uso inicial de um anticorpo ou sistema de coloração em um procedimento de diagnóstico, o usuário deve verificar a especificidade do anticorpo testando-o em uma 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 do folheto do produto e as recomendações de controle de qualidade do Programa de Certificação CAP¹¹ para Imuno-histoquímica e/ou a diretriz NCCLS IHC¹². Esses 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 do ensaio.

Resolução de problemas:

Siga as recomendações do protocolo específico do anticorpo de acordo com a folha de dados fornecida. Se ocorrerem resultados atípicos, entre em contato com o Suporte Técnico da Biocare em 1-800-542-2002.

Interpretação da coloração:

O MACH 4 Universal AP Polymer Kit produz uma reação de cor vermelha nos locais do antígeno localizados pelo anticorpo primário. Antes da interpretação dos resultados do paciente, a coloração dos controlos deve ser avaliada por um patologista qualificado. Os controlos negativos são avaliados e comparados com as lâminas coradas para garantir que qualquer coloração observada não seja resultado de interações inespecíficas.

Controle Positivo de Tecidos:

O controle de tecido positivo corado com o anticorpo indicado deve ser examinado primeiro para verificar se todos os reagentes estão funcionando adequadamente. A coloração apropriada das células-alvo (conforme indicado acima) é indicativa de reatividade positiva. Se os controlos de tecido positivos não demonstrarem coloração positiva, quaisquer resultados com as amostras de teste devem ser considerados inválidos.

A cor do produto da reação pode variar dependendo dos cromógenos do substrato usados. 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.¹³

Quando uma contracoloração é usada, dependendo do tempo de incubação e da potência da contracoloração usada, a contracoloração resultará em uma coloração dos núcleos celulares. A contracoloração excessiva ou incompleta pode comprometer a interpretação adequada dos resultados. Consulte o(s) protocolo(s) para a contracoloração recomendada.

Controle de tecido negativo:

O controle de tecido negativo deve ser examinado após o controle de tecido positivo para verificar a especificidade da marcação do antígeno alvo pelo anticorpo primário. A ausência de coloração específica no controle de tecido negativo confirma a falta de reatividade cruzada do anticorpo para células/componentes celulares. Se ocorrer coloração específica (coloração falso positivo) no controle de tecido externo negativo, os resultados com a amostra do paciente devem ser considerados inválidos.

A coloração inespecífica, se presente, geralmente tem uma aparência difusa. A coloração esporádica do tecido conjuntivo também pode ser observada em seções de tecidos excessivamente fixados em formol. Use células intactas

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

73/114



TP v2 (02/09/2023) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Portuguese

BIOCARE
M E D I C A L

para interpretação dos resultados da coloração. Células necróticas ou degeneradas geralmente coram de forma inespecífica.

Tecido do paciente:

Examine amostras de pacientes coradas com o anticorpo indicado último. A intensidade da coloração positiva deve ser avaliada no contexto de qualquer coloração de fundo inespecífica do controle de reagente negativo. Como em qualquer teste imuno-histoquímico, um resultado negativo significa que o antígeno não foi detectado, e não que o antígeno estava ausente nas células/tecidos testados. Se necessário, use 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 anticorpo indicada.

Limitações: Limitações

gerais:

1. Para *in vitro* (IVD)
2. Este produto é apenas para uso profissional: A imuno-histoquímica é um processo de diagnóstico em várias etapas que consiste em treinamento especializado na seleção dos reagentes apropriados; seleção, fixação e processamento de tecidos; preparação da lâmina de IHC; e interpretação dos resultados da coloração.
3. Para uso apenas por 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, corte ou contaminação inadequados com outros tecidos ou fluidos podem produzir artefatos, aprisionamento de anticorpos ou resultados falsos negativos. Os resultados inconsistentes podem dever-se a variações nos métodos de fixação e incorporação ou a irregularidades inerentes ao tecido.¹⁴
5. A contracoloração 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 controles 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 seção de tecido e kit de detecção usado. Consulte as instruções de uso do anticorpo primário e de outros reagentes auxiliares para obter os protocolos e condições de uso recomendados. As recomendações e protocolos da folha de dados 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 a citometria de fluxo.
9. Tecidos de pessoas infectadas com o vírus da hepatite B e contendo antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) podem exibir coloração inespecífica com peroxidase de rábano silvestre.¹⁵
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.¹⁶ contato com o Suporte Técnico da Biocare em 1-800-542-2002, ou através das informações de suporte técnico fornecidas em biocare.net, com reações inesperadas documentadas.

11. Soros normais/não imunes da mesma fonte animal que os antissoros secundários usados nas etapas de bloqueio podem causar resultados falso-negativos ou falsos-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 pseudoperoxidase (eritrócitos), atividade de peroxidase endógena (citocromo C) ou biotina endógena (por exemplo, fígado, mama, cérebro, rim), dependendo do tipo de imunocoloração usada.¹⁴
13. Um resultado negativo significa que o antígeno não foi detectado, e não que o antígeno estava ausente nas células ou tecidos examinados.

Limitações Específicas do Produto:

Sem limitações adicionais específicas do produto.

Características de desempenho:

A coloração foi realizada usando protocolos fornecidos nas instruções de uso específicas do anticorpo ou conforme especificado. A sensibilidade e a especificidade da coloração foram avaliadas em uma variedade de 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 por meio de uma medição de precisão intermediária na qual vários lotes de reagentes foram testados por um longo período de tempo usando vários operadores, analistas, lotes de reagentes, amostras de tecido e equipamentos. A coloração obtida para cada reagente de detecção avaliado foi consistente e realizada conforme o esperado.

Resolução de problemas:

1. Nenhuma coloração de quaisquer lâminas – Verifique para determinar se foram utilizados tecidos de controlo positivo adequados, anticorpos e produtos de detecção. Verifique se há remoção de cera incompleta ou imprópria ou pré-tratamento.
2. Coloração fraca de todas as lâminas – Verifique para determinar se foram utilizados tecidos de controlo positivo, anticorpos e produtos de detecção apropriados.
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 HRP endógena convertendo cromogênio em produto final colorido (use bloqueio de peroxidase) ou excesso de interação de proteína não específica (use uma proteína bloqueio, como soro ou solução de bloqueio à base de caseína).
4. As seções de tecido são removidas das lâminas durante a incubação – Verifique as lâminas para garantir que estejam carregadas positivamente.
5. Coloração específica muito escura – Verifique o protocolo para determinar se o título de anticorpo 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.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

[Portuguese](#)

BIOCARE
M E D I C A L

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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
15. 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.
16. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Romanian

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Utilizare prevăzută:

Pentru *in vitro* diagnosticare

Kit-ul MACH 4 Universal AP Polymer este destinat utilizării fie în protocole de colorare manuală sau automată de imunohistochimie (IHC) folosind o metodă de aplicare în una sau două etape a polimerului de fosfatază alcalină (AP). Acest kit de detectare a micropolimerului este conceput pentru detectarea anticorpilor primari IgG și IgM de șoarece și/sau IgG de iepure legați la antigenele întâi în țesuturile fixate în formalină, încorporate în parafină (FFPE) în timpul procesului de colorare IHC. Interpretarea clinică a oricărei colorări sau absența acestora trebuie 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:

Kitul universal de polimeri AP MACH 4 este proiectat utilizând o metodă într-o etapă sau în două etape pentru detectarea anticorpilor primari de șoarece și/sau iepure pentru a forma un complex anticorp-enzimă. Acest complex este apoi vizualizat folosind un substrat/cromogen adecvat. În metoda cu o etapă se aplică un anticorp secundar direct legat de micro-polimer, în timp ce în metoda în două etape anticorpul secundar este nemarcat, iar un reactiv suplimentar marcat cu polimer legat de enzimă este aplicat secvental. Metoda în două etape este concepută pentru a amplifica detectia în cazurile de antigene cu exprimare scăzută. Acoperit de unul sau mai multe dintre următoarele brevete US nr. Nr. 6.686.461; 6.800.728; 7.102.024; 7.173.125; 7.462.689.

Principiul procedurii:

Acest kit de detectare a micro-polimerului poate fi utilizat în testarea imunohistochimică a secțiunilor de țesut fixate cu formol și încorporate în parafină. În general, imunohistochimic (IHC) tehnici de colorare permit vizualizarea antigenelor prin aplicarea secventală a unui anticorp specific la antigen (anticorp primar), unui anticorp secundar la anticorpul primar (anticorp/sondă optional link), un complex enzimatic și un substrat cromogen cu etape de spălare interpuze. Activarea enzimaticea a cromogenului are ca rezultat un produs de reacție vizibil la locul antigenului. Eșantionul poate fi apoi contricolorat și capacul poate fi plasat. 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 furnizați:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

Reconstituire, amestecare, diluare, titrare:

Reactivii kit-ului de detectare a micropolimerului sunt optimizați și gata de utilizare cu anticorpi Biocare și reactivi auxiliari. Nu este necesară reconstituire, amestecare, diluare sau titrare.

Aplicații cunoscute:

țesuturi încorporate în parafină fixate în formalină)

Reactivitatea speciilor:

Lanturi grele și ușoare de IgG de șoarece și iepure

Imunohistochimie

Sondă universală AP MACH 4 – UP536

Soluție salină tamponată, pH 7,2-7,4, care conține un purtător proteic și mai puțin de 0,1% conservant de azidă de sodiu. Consultați Fișa cu date de securitate pentru detalii suplimentare.

Polimer AP universal MACH 4 – MRAP536

Soluție salină tamponată, pH 7,6-7,8, 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 nefurnizați:

Lame de microscop, încărcate

pozitiv Controale țisulare pozitive și negative

Cameră de deșert* sau similar Cuptor de uscare (optional)

Xilen sau înlocuitor de xilen

Etanol sau alcool reactiv

Camera de decloaking* sau oală sub presiune similară (optional)

Apă deionizată sau distilată

Tampon de spălare*

Reactivi de pretratare* (optional)

Digestie enzimaticea* (optional)

Bloc de peroxidază* (optional)

Bloc proteic* (optional)

Anticorp primar*

Reactivi de control negativ*

Cromogene*

Hematoxilină* (contracolorare)

Reactiv de albastru*

Mediu de montare*

Coverglass

Microscop cu lumină (mărire 40-400X)

* Produse medicale Biocare: Consultați site-ul web Biocare Medical aflat la <http://biocare.net> pentru informații suplimentare 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 (reactivi) trusei sunt gata de utilizare și nu trebuie diluați. Stabilitatea reactivului diluat de utilizator nu a fost stabilită de Biocare.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Romanian

BIOCARE
M E D I C A L

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:

Țesuturile fixate în formol sunt potrivite 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 micromoulului.^{1,2}

Țesuturile 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 prevede în 42 CFR §493.1259(b) că „laboratorul trebuie să păstreze lamele colorate cel puțin zece ani de la data examinării și păstrarea blocurilor de specime cel puțin doi ani de la data examinării.”³

Tratamentul țesuturilor 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 inconsistența și standardizează colorarea.^{4,5}

Avertisment și precauții:

- Reactiv(i) trusa conține mai puțin de 0,1% azidă de sodiu. Concentrațiile mai mici de 0,1% nu sunt materiale periculoase reportabile conform US 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication și Directivei CE 91/155/EC. Azida de sodiu (NaN₃) folosită ca conservant este toxică dacă este ingerată. Azida de sodiu poate reacționa cu plumbul și cuprul pentru a forma azide metalice extrem de explozive. La eliminare, clătiți cu cantități mari de apă pentru a preveni acumularea de azidă în instalații sanitare. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶
- Reactivii trusei conțin mai puțin de 0,05% ProClin 300 și/sau mai puțin de 1% ProClin 950. Purtați mănuși și îmbrăcăminte de protecție și luati 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.
- 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.^{7,8}
- 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.⁹
- Contaminarea microbiană a reactivilor poate duce la o creștere a colorației nespecifice.
- Timpii de incubare sau alte temperaturi decât cele specificate pot da rezultate eronate. Utilizatorul trebuie să valideze orice astfel de modificare.
- Nu utilizați reactiv după data de expirare imprimată pe flacon.
- 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.
- Respectați cerințele autorităților locale și/sau de stat pentru metoda de eliminare.
- FDS este disponibilă la cerere și se află la <http://biocare.net>.
- Raportați orice incidente grave legate de acest dispozitiv contactând reprezentantul local Biocare și autoritatea competentă aplicabilă a statului membru sau a țării în care se află utilizatorul.

Acest kit de detectare a micropolimerului conține componente clasificate astăzi cum este indicat în tabelul de mai jos în conformitate cu Regulamentul (CE) Nr. 1272/2008.

pericol	Code	Declaratie de pericol
	H317	Poate provoca o reacție alergică a pielii.
N/A	H402 H412	Dăunător vieții acvatice. Nociv pentru mediul acvatic cu efecte de lungă durată.

Instructiuni de utilizare:

Reactivul (reactivii) kit-ului de detectare a micropolimerului este optimizat 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. Timpii 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:

- Deparafinizare: Deparafinizarea lamelor în Slide Brite sau xilen. Hidratează lamele într-o serie de alcoolii clasificați până la apă.
- Bloc cu peroxid (Optional): Blocați timp de 5 minute cu Peroxidized 1.
- Soluție/Protocol de pretratare: Vă rugăm să consultați fișa de date a anticorpului primar respectiv pentru soluția și protocolul de pretratare recomandate.
- Bloc de proteine (Optional): Incubați timp de 5-10 minute la temperatura camerei (RT) cu Background Punisher.
- Anticorp primar: Vă rugăm să consultați fișa de date a anticorpului primar respectiv pentru timpul de incubare.
- Sondă (numai anticorpi de șoarece): Incubați timp de 5-15 minute la temperatura camerei cu Sonda AP universală MACH 4.
- Polimer: Se incubează timp de 10-20 de minute pentru anticorpii de șoarece sau 30 de minute pentru anticorpii de iepure la RT cu polimer MACH 4 MR AP.
- Cromogen: Se incubează timp de 5 minute la temperatura camerei cu Warp Red.
- Contractionare: Contractionare cu hematoxilină. Clătiți cu apă deionizată. Aplicați soluția de albastru Tacha timp de 1 minut. Clătiți cu apă deionizată.

Note tehnice:

- Folosiți TBS numai pentru etapele de spălare. Tampoanele de spălare PBS vor inhiba colorarea cu fosfatază alcalină.
- Nu utilizați ser de capră ca bloc proteic. Nu utilizați Background Eraser sau Background Terminator.

Controlul calității:

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). 2011¹⁰

Control pozitiv al țesuturilor:

Materialele de control pozitiv extern trebuie să fie probe proaspete fixate, procesate și încorporate cât mai curând posibil, în același mod ca probele pacientului. Controalele pozitive ale țesuturilor indică țesuturile pregătite corect și tehnice de colorare adecvate. Un control de țesut extern pozitiv

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Romanian

BIOCARE
M E D I C A L

pentru fiecare set de condiții de testare ar trebui să fie inclus în fiecare cursă de colorare.

Tesuturile utilizate pentru materialele de control pozitiv extern trebuie selectate din mostre de pacient cu niveluri scăzute bine caracterizate ale activității țintei 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. Lamele de control al țesuturilor disponibile comercial sau mostrele procesate diferă de esantioanele pacientului validează doar performanța reactivului și nu verifică pregătirea țesuturilor.

Controalele de tesut 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 negativ al țesuturilor fixat, procesat și încorporat într-un mod identic cu eșantionul(e) pacientului cu fiecare colorare pentru a verifica specificitatea anticorpului primar IHC pentru demonstrarea antigenului țintă 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 tesut 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 tesutul negativ controalele sunt listate în secțiunea Caracteristici de performanță.

Dacă apare o colorare specifică (colorare fals pozitivă) în controlul negativ al țesutului, rezultatele cu mostrele pacientului trebuie considerate nevalide.

Controlul reactiv negativ nespecific:

Utilizați un control reactiv negativ nespecific în locul anticorpului primar cu o secțiune din fiecare eșantion de pacient pentru a evalua colorarea nespecifică și pentru a permite o mai bună interpretare a colorației 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 controalele 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 enzimatice endogene sau legarea nespecifică a enzimelor de imunoreactivitatea specifică, țesuturile suplimentare ale pacientului pot fi colorate exclusiv cu substrat-cromogen sau complexe enzimatice (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 de produs și la recomandările de control al calității din Programul de certificare CAP¹¹ pentru imunohistochimie

și/sau ghidul NCCLS IHC¹². 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. Tesuturile enumerate în secțiunea Caracteristici de performanță sunt potrivite pentru verificarea testului.

Depanare:

Urmați recomandările protocolului specific anticorpilor conform fișei de date furnizate. Dacă apar rezultate atipice, contactați asistența tehnică Biocare la 1-800-542-2002.

Interpretarea colorării:

Kit-ul MACH 4 Universal AP Polymer produce o reacție de culoare roșie la locurile antigenului localizate de anticorpul primar. Înainte de interpretarea rezultatelor pacientului, colorarea controalelor trebuie evaluată de un patolog calificat. Martori negativi sunt evaluati și comparați cu lamele 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 toti reactivii funcționează corect. Colorarea adecvată a celulelor țintă (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.¹³

Când se folosește o contricolorare, în funcție de durata de incubare și de potență contracolorului utilizat, contricolorarea va avea ca rezultat o colorare a nucleilor celulați. Contricolorarea excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea corectă a rezultatelor. Consultați protocoalele pentru contricolorarea recomandată.

Controlul negativ al țesuturilor:

negativ al țesutului trebuie examinat după controlul pozitiv al țesutului pentru a verifica specificitatea etichetării antigenului țintă de către anticorpul primar. Absența colorației specifice în control negativ al țesutului confirmă lipsa reactivității încrucișate 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.

Tesutul 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 fals-negative.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Romanian

BIOCARE
M E D I C A L

Consultați Rezumatul și Explicația, Limitările și Caracteristicile de performanță pentru informații specifice privind imunoreactivitatea indicată a anticorpilor.

Limitări: Limitări

generale:

1. Pentru *in vitro* (IVD) Utilizare
2. Acest produs este destinat exclusiv utilizării profesionale: 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, dezghetarea, spălarea, uscarea, încălzirea, secționarea sau contaminarea cu alte țesuturi sau fluide pot produce artefakte, captarea anticorpilor sau rezultate fals negative. Rezultatele inconștiente se pot datora variațiilor în metodele de fixare și încorporare sau neregularităților inherentelor în țesut.¹⁴
5. Contracolorarea excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea corectă a rezultatelor.
6. Interpretarea clinică a oricărui colorat pozitiv sau negativ trebuie evaluată în contextul prezentării clinice, al morfologiei și al altor criterii histopatologice. Interpretarea clinică a oricărui colorat pozitiv sau negativ ar trebui să fie completată de studii morfoloactice 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. Protocolele optimă pentru o anumită aplicație pot varia. Acestea includ, dar nu se limitează la fixarea, metoda de recuperare a căldurii, timpul de incubare, diluarea anticorpilor, grosimea secțiunii de țesut și trusa de detectare utilizată. Consultați instrucțiunile de utilizare a anticorpului primar și a altor reactivi auxiliari pentru protocolele și condițiile recomandate de utilizare. Recomandările și protocolele din fișa de date se bazează pe utilizarea exclusivă a produselor Biocare. În cele din urmă, este responsabilitatea investigatorului să determine condițiile optimă.
8. Acest produs nu este destinat utilizării în citometria în flux. Caracteristicile de performanță nu au fost determinate pentru citometrie în flux.
9. Țesuturile 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.¹⁵
10. Reaktivii pot demonstra reacții neașteptate în țesuturile netestate anterior. Posibilitatea unor reacții neașteptate chiar și în grupurile de țesuturi testate nu poate fi eliminată complet din cauza variabilității biologice a exprimării antigenului în neoplasmă sau în alte țesuturi patologice.¹⁶ 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/neimune 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.¹⁴
13. Un rezultat negativ înseamnă că antigenul nu a fost detectat, nu că antigenul a fost absent în celulele sau țesutul examinat.

Limitări specifice produsului:

Nu există limitări suplimentare specifice produsului.

Caracteristică de performanță:

Colorarea a fost efectuată folosind protocolele furnizate în instrucțiunile specifice de utilizare a anticorpilor sau conform specificațiilor. Sensibilitatea și specificitatea colorării au fost evaluate într-o serie de tipuri de țesut normal și neoplazic evaluate în timpul dezvoltării anticorpilor primari.

Reproductibilitate: Reproducibilitatea

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, mostre de țesut și echipamente. Colorația obținută pentru fiecare reactiv de detectie evaluat a fost consecventă și a fost efectuată conform așteptărilor.

Depanare:

1. Nicio colorare a niciunei lame – Verificați pentru a determina că au fost utilizate țesuturi de control pozitiv adecvate, anticorpi și produse de detectare. Verificați dacă există îndepărțarea sau pretratarea ceară incompletă sau necorespunzătoare.
2. Colorare slabă a tuturor lamelor – Verificați pentru a determina că au fost utilizate țesuturi de control pozitiv adecvate, anticorpi și produse de detectare.
3. Fundal excesiv al tuturor diapositivelor – Pot exista niveluri ridicate de biotină endogenă (dacă se utilizează produse de detectie pe bază de biotină), activitate HRP endogenă de conversie a cromogenului în produs final colorat (utilizând bloc de peroxidază) sau interacțiune proteică nespecifică în exces (utilizând o proteină bloc, cum ar fi soluția de blocare pe bază de ser sau cazeină).
4. Secțiunile de țesut spălă 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 corespunzător pentru toți reactivii. În plus, asigurați-vă că protocolul are suficiente 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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Romanian

BIOCARE
M E D I C A L

13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. *Lab Med* 1983; 14:767.
15. 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.
16. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Slovak

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Zamýšľané použitie:

Na *in vitro* diagnostické použitie

Súprava MACH 4 Universal AP Polymer Kit je určená na použitie v manuálnych alebo automatických imunohistochemických (IHC) protokoloch farbenia s použitím jedno- alebo dvojstupňovej aplikačnej metódy polyméru alkalickej fosfatázy (AP). Táto mikropolymérová detekčná súprava je určená na detekciu myších IgG a IgM a/alebo králičích primárnych protilátok IgG naviazaných na cieľové antigény v tkanivách fixovaných vo formalíne a zaliatých do parafinu (FFPE) počas procesu farbenia IHC. Klinická interpretácia akéhokoľvek zafarbenia alebo jeho absencie by mala byť doplnená morfologickými štúdiami a náležitými kontrolami a mala by byť hodnotená v kontexte pacientovej klinickej anamnézy a iných diagnostických testov kvalifikovaným patológom.

Súhrn a vysvetlenie:

Súprava MACH 4 Universal AP Polymer Kit je navrhnutá pomocou jedno- alebo dvojstupňovej metódy na detekciu myších a/alebo králičích primárnych protilátok, aby sa vytvoril komplex protilátko-enzým. Tento komplex sa potom vizualizuje použitím vhodného substrátu/chromogénu. V jednokrokovej metóde sa aplikuje sekundárna protilátku priamo pripojená k mikropolyméru, zatiaľ čo pri dvojkrokovej metóde je sekundárna protilátku neoznačená a následne sa aplikuje ďalšie činidlo značené polymérom naviazaným na enzym. Dvojstupňová metóda je navrhnutá na amplifikáciu detektie v prípadoch málo exprimujúcich antigénov. Pokryté jedným alebo viacerými z nasledujúcich patentov USA č. č. 6,686,461; 6,800,728; 7,102,024; 7,173,125; 7,462,689.

Princíp postupu:

Táto súprava na detekciu mikropolymérov sa môže použiť pri imunohistochemickom testovaní tkanivových rezov fixovaných vo formalíne a zaliatých do parafinu. Vo všeobecnosti imunohistochemické (IHC) techniky farbenia umožňujú vizualizáciu antigénov prostredníctvom sekvenčnej aplikácie a špecifická protilátku k antigénu (primárna protilátku), sekundárna protilátku k primárnej protilátku (voliteľná väzba protilátku/sonda), enzymový komplex a chromogénný substrát s vloženými krokmi premývania. Enzymatická aktivácia chromogénu vedie k viditeľnému reakčnému produktu v mieste antigénu. Vzorka sa potom môže kontrastne zafarbiť a kryť sa nasunie. Výsledky sa interpretujú pomocou svetla mikroskop a pomôcka pri diferenciálnej diagnostike patofiziologických procesov, ktoré môžu resp nemusia byť spojené s konkrétnym antigénom.

Materiály a metódy:

Dodávané reagencie:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

rekonštitúcia, miešanie, riedenie, titrácia:

Činidlá súpravy na detekciu mikropolymérov sú optimalizované a pripravené na použitie s protilátkami Biocare a pomocnými činidlami. Nie je potrebná žiadna rekonštitúcia, miešanie, riedenie alebo titrácia.

Známe aplikácie:

Imunohistochémia (formalínom fixované tkanivá zaliate do parafínu)

Druhová reaktivita:

Myšacie a králičie IgG ľažké a ľahké reťazce

Dodávané ako:

Univerzálna AP sonda MACH 4 – UP536

Pufrovaný fyziologický roztok, pH 7,2-7,4, obsahujúci proteínový nosič a menej ako 0,1 % konzervačnej látky azidu sodného. Ďalšie podrobnosti nájdete v karte bezpečnostných údajov.

MACH 4 univerzálny AP polymér – MRAP536

Pufrovaný fyziologický roztok, pH 7,6-7,8, 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 sklíčka, kladne nabité

pozitívne a negatívne kontroly tkaniva

Púštna komora* alebo podobná Sušiaca pec (voliteľné)

Xylén alebo náhrada xylénu

Etanol alebo alkohol s činidlom

Decloaking Chamber* alebo podobný tlakový hrniec (voliteľné)

Deionizovaná alebo destilovaná voda

Premývací pufer*

Činidlá na predúpravu* (voliteľné)

Enzymové štiepenie* (voliteľné)

Blok peroxidáz* (voliteľné)

Blok proteínov* (voliteľné)

Primárna protilátku*

Činidlá na negatívnu kontrolu*

Chromogény*

Hematoxylín* (kontrafarba)

Činidlo na zafarbenie*

Montážne médium*

na kryte

Svetelný mikroskop(40-400x zväčšenie)

* Biocare Medical Products: Ďalšie informácie o katalógových číslach a objednávaní nájdete na webovej stránke Biocare Medical na adrese <http://biocare.net>. Niektoré činidlá uvedené vyššie sú založené na špecifickej aplikácii a použitom detekčnom systéme.

Skladovanie a stabilita:

Skladujte pri teplote 2°C až 8°C. Produkt je stabilný do dátumu exspirácie vytlačeného na štítku injekčnej liekovky, ak sa uchováva za týchto podmienok. Nepoužívajte po dátume exspirácie. Skladovanie za akýchkoľvek iných

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

81/114



TP v2 (02/09/2023)

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

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Slovak

BIOCARE
MEDICAL

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 protílátkou, kontaktujte technickú podporu spoločnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002 alebo prostredníctvom informácií o technickej podpore poskytovaných na biocare.net.

Príprava vzorky:

Tkanivá fixované vo formalíne sú vhodné na použitie pred zaliatím do parafínu. Kostrné tkanivá by sa mali pred spracovaním tkaniva odvápníť, 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 vyšetrenie a uchovávať bloky vzoriek najmenej dva roky od dátumu vyšetrenia.³

Ošetrenie tkanív pred farbením:

Vykonalte teplom indukované vyhľadávanie epitopu (HIER) podľa odporúčaného protokolu nižšie. Ukázalo sa, že rutinné používanie HIER pred IHC minimalizuje nekonzistentnosť a štandardizuje farbenie.^{4,5}

Varovanie a bezpečnostné opatrenia:

1. Činidlá súpravy obsahujú menej ako 0,1 % azidu sodného. Koncentrácie nižšie ako 0,1 % nie sú podľa US 29 CFR 1910.1200, oznamenia o nebezpečenstve OSHA a smernice EC 91/155/EC nebezpečnými materiálmi, ktoré by sa mali hlásiť. Azid sodný (NaN₃) používaný ako konzervačná látka je pri požití toxickej. Azid sodný môže reagovať s olovom a medeným potrubím za vzniku vysoko výbušných azidov kovov. Po likvidácii opláchnite veľkým množstvom vody, aby ste zabránili hromadeniu azidov vo vodovodnom potrubí. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶

2. Reagencie súpravy obsahujú menej ako 0,05 % ProClin 300 a/alebo menej ako 1 % ProClin 950. Pri manipulácii používajte rukavice a ochranný odev a vykonajte primerané opatrenia, pretože ProClin je klasifikovaný ako dráždivá látka a môže spôsobiť senzibilizáciu pri kontakte s pokožkou. Zabráňte kontaktu s očami, pokožkou a sliznicami.

3. Zaobchádzajte s materiálmi ľudského alebo živočíšneho pôvodu ako s potenciálne biologicky nebezpečnými a likvidujte ich s náležitými opatreniami. V prípade expozície postupujte podľa zdravotných smerníc zodpovedných orgánov, kde sa používa.^{7,8}

4. 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 zlikvidovať s náležitými opatreniami. Nikdy nepripojte 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.⁹

5. Mikrobiálna kontaminácia činidel môže viesť k zvýšeniu nešpecifickej zafarbenia.

6. Iné inkubačné časy alebo teploty, ako sú uvedené, môžu viesť k chybám výsledkom. Používateľ musí každú takúto zmenu potvrdiť.

7. Nepoužívajte činidlo po dátume exspirácie vytlačenom na injekčnej liekoveke.

8. Činidlá súpravy na detekciu mikropolymérov sú optimalizované a pripravené na použitie s protílátkami Biocare a pomocnými činidlami. Odporúčané protokoly a podmienky použitia nájdete v pokynoch na použitie primárnej protílátky a ďalších pomocných reagencií.

9. Dodržujte požiadavky miestnych a/alebo štátnych orgánov na spôsob likvidácie.

10. KBÚ je k dispozícii na požiadanie a nachádza sa na <http://biocare.net>.

11. Nahláste všetky vážne incidenty súvisiace s týmto zariadením kontaktovaním miestneho zástupcu spoločnosti Biocare a príslušným orgánom členského štátu alebo krajiny, kde sa používateľ nachádza.

Táto súprava na detekciu mikropolymérov obsahuje zložky klasifikované ako je uvedené v tabuľke nižšie v súlade s nariadením (ES) č. 1272/2008.

Nebezpečenstvo	Code	Vyhľásenie o nebezpečnosti
	H317	Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu.
N/A	H402 H412	Škodlivý pre vodné organizmy. Škodlivý pre vodné organizmy s dlhodobými účinkami.

Návod na použitie:

Činidlá súpravy na detekciu mikropolymérov sú optimalizované a pripravené 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 lísiť 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 procedurálne kroky na vykonávanie IHC:

1. Deparafinizácia: Deparafinujte sklička v Slide Brite alebo xyléne. Hydratujte sklička v sérii odstupňovaných alkoholov do vody.
2. Peroxidový blok (voliteľný): Blokujte 5 minút peroxidom 1.
3. Roztok/protokol na predúpravu: Odporúčaný roztok na predúpravu a protokol nájdete v príslušnom údajovom liste primárnych protílátok.
4. Proteínový blok (voliteľný): Inkubujte 5-10 minút pri izbovej teplote (RT) s Background Punisher.
5. Primárna protílátka: Inkubačný čas nájdete v príslušnom údajovom liste primárnej protílátky.
6. Sonda (iba myšacie protílátky): Inkubujte 5-15 minút pri teplote miestnosti so sondou MACH 4 Universal AP.
7. Polymér: Inkubujte 10-20 minút pre myšie protílátky alebo 30 minút pre králicie protílátky pri teplote miestnosti s MACH 4 MR AP polymérom.
8. Chromogén: Inkubujte 5 minút pri teplote miestnosti s Warp Red.
9. Kontrafarbivo: Kontrafarbivo hematoxylinom. Opláchnite deionizovanou vodou. Aplikujte Tacha's Blueing Solution na 1 minútu. Opláchnite deionizovanou vodou.

Technické poznámky:

1. TBS používajte len na premývacie kroky. Premývacie pufre PBS budú inhibovať farbenie alkalickou fosfatázou.
2. Nepoužívajte kožie sérum ako proteínový blok. Nepoužívajte Background Eraser alebo Background Terminator.

Kontrola kvality:

Pozrite si štandardy kvality CLSI pre návrh a implementáciu imunohistochemických testov; Schválená smernica – druhé vydanie (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011¹⁰

Pozitívna kontrola tkaniva:

Materiály vonkajšej pozitívnej kontroly by mali byť čerstvé 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

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Slovak

BIOCARE
MEDICAL

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 pozitívity pre externé pozitívne kontroly je navrhnutá tak, aby zabezpečila detekciu jemných zmien citlivosti primárnej protilátky z nestability alebo problémov s metodikou IHC. Komerčne 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 činidiel, 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 tkanivová kontrola:

Použite negatívnu tkanivovú kontrolu fixovanú, spracovanú a zapustenú identickým spôsobom ako vzorka (vzorky) pacienta pri každom cykle farbenia, aby ste overili špecifickosť primárnej protilátky IHC pre preukázanie cielového antigenu 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.

Ak sa v negatívnej kontrole tkaniva vyskytne špecifické zafarbenie (falošne pozitívne zafarbenie), výsledky so vzorkami pacienta by sa mali považovať za neplatné.

Nešpecifická negatívna reagenčná kontrola:

Použite nešpecifickú negatívnu reagenčnú kontrolu namiesto primárnej protilátky s rezom vzorky každého pacienta, aby ste výhodnotili nešpecifické zafarbenie a umožnili lepšiu interpretáciu špecifického zafarbenia v mieste antigenu. V ideálnom prípade obsahuje negatívna reagenčná kontrola protilátku vyrobenu a pripravenú (tj zriedenú na rovnakú koncentráciu s použitím rovnakého riedidla) na použitie rovnakým spôsobom ako primárna protilátkta, ale nevykazuje žiadnu špecifickú reaktivitu s ľudskými tkanivami v rovnakej matrici/roztoku ako protilátku Biocare . Samotné riedidlo sa môže použiť ako menej žiaduca alternatíva k predtým opísaným negatívnym kontrolným číidlám. Inkubačná doba pre negatívnu reagenčnú kontrolu by mala zodpovedať dobe primárnej protilátky.

Ked' sa na sériových rezoch použijú panely niekoľkých protilátk, 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 uvedené výšie v tejto časti príbalového letáku k produktu a odporúčania kontroly kvality certifikačného programu CAP¹¹ pre imunohistochémiu a/alebo usmernenia NCCLS IHC¹². Tieto postupy kontroly kvality by sa mali opakovať pre každú novú šaržu protilátkov 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 protilátku podľa dodaného údajového listu. Ak sa vyskytnú atypické výsledky, kontaktujte technickú podporu spoločnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002.

Interpretácia farbenia:

MACH 4 Universal AP Polymer Kit vytvára červenú farebnú reakciu na miestach antigenu lokalizovaných primárnu protilátkou. Pred interpretáciou výsledkov pacienta musí zafarbenie kontrol vyhodnotiť kvalifikovaný patológ. Negatívne kontroly sa výhodnotia a porovnajú so zafarbenými skličkami, aby sa zabezpečilo, že akékolvek 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 výšie) svedčí o pozitívnej reaktivite. Ak pozitívne kontroly tkaniva neprekážu pozitívne zafarbenie, akékolvek 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.¹³

Ked' sa použije kontrastné farbenie, v závislosti od dĺžky inkubácie a účinnosti použitého kontrastného farbenia, kontrastné farbenie povedie k zafarbeniu bunkových jadier. Nadmerne alebo neúplne kontrastné farbenie môže ohrozíť správnu interpretáciu výsledkov. Odporúčané kontrastné farbenie nájdete v protokole(och).

Negatívna kontrola tkaniva:

Negatívna kontrola tkaniva by sa mala vyšetriť po pozitívnej kontrole tkaniva, aby sa overila špecifita označenia cielového antigenu primárnu protilátkou. Neprítomnosť špecifického zafarbenia v negatívnej kontrole tkaniva potvrdzuje 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. Sporadicke 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 antigen neboli detegované, nie že antigen chýbal v testovaných bunkách/tkanive. V prípade potreby použite panel protilátkov na identifikáciu falošne negatívnych reakcií.

Špecifické informácie týkajúce sa indikovanej imunoreaktivity protilátkov nájdete v časti Súhrn a vysvetlenie, obmedzenia a výkonnostné charakteristiky.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Slovak

BIOCARE
MEDICAL

Obmedzenia:

Všeobecné obmedzenia:

1. Na *in vitro* (IVD)
2. Tento produkt je určený len na profesionálne použitie: Imunohistochémia je viackrokový diagnostický proces, ktorý pozostáva zo špecializovaného školenia na výber vhodných činiel; výber tkaniva, fixácia a spracovanie; príprava podložného sklíčka 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, umývanie, sušenie, zahrievanie, rezanie alebo kontaminácia inými tkanivami alebo tekutinami môže spôsobiť artefakty, zachytávanie protílátok alebo falosne negatívne výsledky. Nekonzistentné výsledky môžu byť spôsobené odchýlkami v metódach fixácie a zapustenia alebo prirodzenými nepravidelnosťami v tkanive.¹⁴
5. Nadmerné alebo neúplné kontrastné farbenie môže ohrozíť 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 morfologickými štúdiami s použitím správnych pozitívnych a negatívnych vnútorných a vonkajších kontrol, ako aj iných diagnostických testov. Je zodpovednosťou kvalifikovaného patológika, ktorý je oboznámený so správnym používaním IHC protílátok, činidel a metód, interpretovať všetky kroky použité na prípravu a interpretáciu konečného IHC preparátu.
7. Optimálne protokoly pre konkrétnu aplikáciu sa môžu lísiť. Tieto zahŕňajú, ale nie sú obmedzené na fixáciu, metódu získania tepla, inkubačné časy, riedenie protílátky, hrúbku tkaninového rezu a použitú detekčnú súpravu. Odporučané protokoly a podmienky použitia nájdete v pokynoch na použitie primárnej protílátky a ďalších pomocných reagencií. Odporučania 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. Tkanivá od osôb infikovaných vírusom hepatitidy B a obsahujúce povrchový antigen hepatitis B (HBsAg) môžu vyzkazovať nešpecifické zafarbenie chrenovou peroxidázou.¹⁵
10. Reagencie môžu vyzkazovať neočakávané reakcie v predtým netestovaných tkanivách. Možnosť neočakávaných reakcií ani v testovaných skupinách tkanív nie je možné úplne eliminovať z dôvodu biologickej variabilitu expresie antigénu v novotvaroch alebo iných patologických tkanivách.¹⁶ 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 falosne negatívne alebo falosne pozitívne výsledky v dôsledku autoprotilátok alebo prirodzených protílátok.
12. Falosne 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 biotinom (napr. pečeň, prsia, mozog, obličky) v závislosti od typu použitého imunoarbíva.¹⁴
13. Negatívny výsledok znamená, že antigen neboli detegovaný, nie že antigen chýbal v skúmaných bunkách alebo tkanive.

Špecifické obmedzenia produktu:

Zadne ďalšie špecifické obmedzenia produktu.

Výkonnostné charakteristiky:

Farbenie sa uskutočňovalo s použitím protokolov poskytnutých v pokynoch na použitie špecifických pre protílátku alebo podľa špecifikácie. Citlosť a špecificita farbenia sa hodnotila v celom rozsahu normálnych a neoplastických typov tkanív hodnotených počas vývoja primárnych protílátok.

Reprodukčnosť: Reprodukčnosť

detekčných systémov Biocare a systémových činiel je overená meraním strednej presnosti, pri ktorom boli rôzne šírže činiel testované počas dlhého časového obdobia pomocou rôznych operátorov, analytikov, šírži činiel, vzoriek tkanív a zariadení. Farbenie získané pre každé hodnotené detekčné činidlo bolo konzistentné a uskutočnilo sa podľa očakávania.

Riešenie problémov:

1. Žiadne zafarbenie na sklíčkach – Skontrolujte, či sa použilo vhodné tkanivo pozitívnej kontroly, protílátka a detekčné produkty. Skontrolujte neúplné alebo nesprávne odstránenie vosku alebo predbežného úpravu.
2. Slabé zafarbenie všetkých sklíčok – Skontrolujte, či sa použilo vhodné tkanivo pozitívnej kontroly, protílátka a detekčné produkty.
3. Nadmerné pozadie všetkých sklíčok – Môžu existovať vysoké hladiny endogénneho biotínu (ak používate detekčné produkty na báze biotínu), endogénna aktívita HRP premieňajúca chromogén na farebný konečný produkt (použite peroxidázový blok) alebo nadmerná nešpecifická proteínová interakcia (použite proteín blok, ako je blokovač roztok na báze séra alebo kazeínu).
4. Tkanivové rezy zmyjú sklíčka počas inkubácie – Skontrolujte sklíčka, aby ste sa uistili, že sú pozitívne nabité.
5. Špecifické zafarbenie je príliš tmavé – Skontrolujte protokol a zistite, či bol na sklíčko aplikovaný správny titier protílátok, ako aj správne inkubačné časy pre všetky činiidlá. Okrem toho sa uistite, že protokol obsahuje dostatok premyvacích krovok na odstránenie nadbytočných činiel po dokončení inkubačných krovok.

Literatúra:

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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Slovak

BIOCARE
M E D I C A L

13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. *Lab Med* 1983; 14:767.
15. 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.
16. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Slovenian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Predvidena uporaba:

Za *in vitro* diagnostično uporabo

MACH 4 Universal AP Polymer Kit je namenjen za uporabo v protokolih ročnega ali avtomatiziranega imunohistokemijskega (IHC) barvanja z uporabo eno- ali dvostopenjske metode nanašanja polimera alkalne fosfataze (AP). Ta komplet za odkrivanje mikropolimerov je zasnovan za odkrivanje primarnih protiteles mišjih IgG in IgM in/ali kuncijih IgG, vezanih na ciljne antigene v tkivih, fiksiranih s formalinom, v parafinu (FFPE) med postopkom barvanja IHC. Klinično razlago kakršnega 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 pojasnilo:

MACH 4 Universal AP Polymer Kit je zasnovan z uporabo enostopenjske ali dvostopenjske metode za odkrivanje mišjih in/ali zajčjih primarnih protiteles za tvorbo kompleksa protitelo-encim. Ta kompleks se nato vizualizira z uporabo ustreznega substrata/kromogena. Pri enostopenjski metodi se nanese sekundarno protitelo, neposredno povezano z mikropolimerom, medtem ko je pri dvostopenjski metodi sekundarno protitelo neoznačeno, zaporeno pa se nanese dodaten z encimom vezan polimer označen reagent. Dvostopenjska metoda je zasnovana za izboljšanje odkrivanja v primerih nizko izraženih antigenov. Zajeto z enim ali več od naslednjih patentov ZDA Št. št. 6,686,461; 6,800,728; 7,102,024; 7,173,125; 7,462,689.

Načelo postopka:

Ta komplet za odkrivanje mikropolimerov se lahko uporablja pri imunohistokemijskem testiraju s formalinom fiksiranih in v parafin vgrajenih odrezkov tkiva. 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 antigena. Vzorec se lahko nato protibarva in prekrje. Rezultati se interpretirajo z uporabo luči mikroskopom in pomoč 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
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

Rekonstitucija, mešanje, redčenje, titracija:

Reagenti kompleta za odkrivanje mikropolimerov so optimizirani in pripravljeni za uporabo s protitelesi Biocare in pomožnimi reagenti. Rekonstitucija, mešanje, redčenje ali titracija niso potrebni.

Znane uporabe:

Imunohistokemija (s formalinom fiksirana tkiva, vdelana v parafin)

Reaktivnost vrste:

težke in lahke verige IgG miš in zajev.

Dobavljeno kot:

Univerzalna AP sonda MACH 4 – UP536

Pufirana fiziološka raztopina, pH 7,2-7,4, ki vsebuje proteinski nosilec in manj kot 0,1 % konzervansa natrijevega azida. Za dodatne podrobnosti glejte varnostni list.

MACH 4 univerzalni AP polimer – MRAP536

Pufirana fiziološka raztopina, pH 7,6-7,8, 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

Pozitivna in negativna kontrola tkiva

Puščavska komora* ali podobna Sušilna pečica (izbirno)

Ksilén ali nadomestek ksiléna

Etanol ali reagentni alkohol

Komora za razkrivanje* ali podoben lonec na pritisk (izbirno)

Deionizirana ali destilirana voda

Pralni pufer*

Reagenti za predobdelavo* (neobvezno)

Encimska razgradnja* (neobvezno)

Blok peroksidaze* (neobvezno)

Proteinski blok* (neobvezno)

Primarno protitelo*

Reagenti negativne kontrole*

Kromogeni*

)

Reagent za modriло*

Montažni medij*

protibarvanje

Svetlobni mikroskop(40-400-kratna povečava)

* Biocare Medical Products: Za dodatne informacije o kataloških številkah in naročanju običajte spletno mesto Biocare Medical na naslovu <http://biocare.net>. Nekateri zgoraj navedeni reagenti temelijo na specifični uporabi in uporabljenem sistemu odkrivanja.

Shranjevanje in stabilnost:

Hraniti pri 2°C do 8°C. Pri shranjevanju pod temi pogojji je izdelek stabilen do datuma izteka roka uporabnosti, ki je natisnjen na nalepki viale. Ne uporabljajte po preteku roka uporabnosti. Preveriti je treba shranjevanje pod kakršnimi koli pogojmi, razen navedenih. Reagenti kompleta so pripravljeni za uporabo in jih ne smete redčiti. Biocare ni ugotovil stabilnosti uporabniško razredčenega reagenta.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

86/114



TP v2 (02/09/2023)

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

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Slovenian

BIOCARE
MEDICAL

Pozitivne 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:

Tkiva, fiksirana v formalinu, so primerna za uporabo pred vstavljanjem v parafin. Kostna tkiva je treba pred obdelavo tkiva dekalcificirati, da olajšamo rezanje tkiva in preprečimo poškodbe rezil mikrotoma.^{1,2}

Pravilno fiksirana in vdelana tkiva, ki izražajo določeno tarčo antiga, morajo biti shranjena na hladnem. Zakon o izboljšanju kliničnega laboratorija (CLIA) iz leta 1988 v 42 CFR §493.1259(b) zahteva, da mora laboratorij hraniti obarvana stekelca vsaj deset let od datuma pregledati in hraniti bloke vzorcev vsaj dve leti od datuma pregleda.³

Obdelava tkiv pred barvanjem:

Izvedite pridobivanje epitopa, povzročeno s topoto (HIER) po spodaj priporočenem protokolu. 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 0,1 % natrijevega azida. Koncentracije, nižje od 0,1 %, niso nevarni materiali, ki jih je treba prijaviti v skladu z US 29 CFR 1910.1200, obvestilom o nevarnosti OSHA in direktivo ES 91/155/ES. Natrijev azid (NaN₃), ki se uporablja kot konzervans, je strupen, če ga zaužijemo. Natrijev azid lahko reagira s svinčenimi in bakrenimi vodovodnimi napeljavami ter tvori zelo eksplozivne kovinske azide. Po odlaganju sperite z veliko količino vode, da preprečite kopiranje azida v vodovodnih napeljavah. (Center za nadzor bolezni, 1976, Nacionalni inštitut za varnost in zdravje pri delu, 1976)⁶.
2. Komplet reagentov vsebuje manj kot 0,05 % ProClin 300 in/ali manj kot 1 % ProClin 950. Nosite rokavice in zaščitno obleko ter pri rokovovanju upoštevajte razumne previdnostne ukrepe, saj je ProClin razvrščen kot dražilno sredstvo in lahko povzroči preobčutljivost kože. Izogibajte se stiku z očmi, kožo in sluznicami.
3. S snovmi človeškega ali živalskega izvora ravnajte kot s potencialno bioško nevarnimi snovmi in jih odstranite z ustreznimi varnostnimi ukrepi. V primeru izpostavljenosti upoštevajte zdravstvene smernice pristojnih organov, kjer jih uporabljate.^{7,8}
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.⁹
5. Mikrobnna kontaminacija reagentov lahko povzroči povečanje nespecifičnega obarvanja.
6. Časi inkubacije ali temperature, ki niso navedene, lahko dajo napačne rezultate. Uporabnik mora vsako takšno spremembo potrditi.
7. Reagenta ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti, ki je natisnjen na viali.
8. 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.
9. Upoštevajte zahteve lokalnih in/ali državnih oblasti glede načina odstranjevanja.
10. Varnostni list je na voljo na zahtevo in se nahaja na <http://biocare.net>.
11. 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.

Ta komplet za odkrivanje mikropolimerov vsebuje komponente, razvrščene kot je navedeno v spodnji tabeli v skladu z Uredbo (ES) št. 1272/2008.

Nevarnost	Code	Izjava o nevarnosti
	H317	Lahko povzroči alergijsko reakcijo kože.
N/A	H402 H412	Škodljivo za vodne organizme. Škodljivo za vodne organizme, z dolgotrajnimi učinki.

Navodila za uporabo:

Reagent(-i) 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 (izbirno): Blokirajte 5 minut s Peroxidized 1.
3. Raztopina/protokol za predhodno obdelavo: Za priporočeno raztopino za predhodno obdelavo in protokol glejte podatkovni list ustreznega primarnega protitelesa.
4. Beljakovinski blok (neobvezno): Inkubirajte 5-10 minut pri sobni temperaturi (RT) z Background Punisher.
5. Primarno protitelje: Za čas inkubacije glejte ustrezni list s podatki o primarnih protitelesih.
6. Sonda (samo mišja protitelesa): Inkubirajte 5-15 minut pri sobni temperaturi z MACH 4 univerzalno AP sondijo.
7. Polimer: Inkubirajte 10-20 minut za mišja protitelesa ali 30 minut za kunčja protitelesa pri RT s polimerom MACH 4 MR AP.
8. Kromogen: Inkubirajte 5 minut pri RT z Warp Red.
9. Protobarvanje: Protobarvanje s hematoksilinom. Izperite z deionizirano vodo. Nanesite raztopino Tacha's Bluing Solution za 1 minuto. Izperite z deionizirano vodo.

Tehnične opombe:

1. Uporabite TBS samo za korake pranja. Pralni pufri PBS bodo zavirali obarvanje z alkalno fosfatozo.
2. Ne uporabljajte kozjega seruma kot proteinski blok. Ne uporabljajte radirke ozadja ali terminatorja ozadja.

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). 2011¹⁰

Pozitivna kontrola tkiva:

Materiali za zunanjou pozitivno kontrolu morajo biti sveži vzorci fiksirani, obdelani in vdelani čim prej na enak način kot vzorec(-e) bolnika. Pozitivne kontrole tkiva kažejo na pravilno pripravljena tkiva in pravilne tehnike barvanja. V vsak postopek barvanja je treba vključiti eno pozitivno zunanjou kontrolo tkiva za vsak niz testnih pogojev.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Slovenian

BIOCARE
M E D I C A L

Tkiva, uporabljeni za materiale za zunanjou pozitivno kontrolou, 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 subtilnih 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 šteti za neveljavne.

Negativna tkivna kontrola:

z vsakim barvanjem uporabite negativno tkivno kontrolo, fiksirano, obdelano in vdelano na enak način kot vzorci bolnika, da preverite specifičnost primarnega protitelesa IHC za prikaz tarčnega antiga in podatek o specifičnem obarvanju ozadja (lažno pozitivno obarvanje). Tudi različne vrste celic, ki so prisotne v večini delov tkiva, lahko laboratorij uporablja kot notranja negativna kontrolna mesta 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 reagentna kontrola: namesto primarnega protitelesa uporabite nespecifično negativno reagentno kontrolo z odsekom vsakega bolnikovega vzorca, da ocenite nespecifično obarvanje in omogočite boljšo interpretacijo specifičnega obarvanja na mestu antiga. V idealnem primeru negativna reagentna kontrola vsebuje proizvedeno in pripravljeno protitelje (tj. razredčeno na enako koncentracijo z istim razredčilom) za uporabo na enak način kot primarno protitelje, vendar ne kaže specifične reaktivnosti s človeškimi tkivi v istem matriksu/raztopini kot protitelje Biocare. Samo razredčilo se lahko uporabi kot manj zaželeno alternativo 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 imunohistokemičnimi značilnostmi, ki predstavljajo znana pozitivna in negativna tkiva. Glejte postopke nadzora kakovosti, ki so bili predhodno opisani v tem razdelku v navodilu za izdelek, in priporočila za nadzor kakovosti certifikacijskega programa CAP¹¹ za imunohistokemično in/ali smernice NCCLS IHC¹². Te postopke nadzora kakovosti je treba ponoviti za vsako novo serijo protiteles ali vsakič, ko pride do spremembe parametrov testa. Tkiva, navedena v razdelku z značilnostmi delovanja, so primerena za preverjanje testa.

Odpavljanje težav:

upoštevajte priporočila 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.

Interpretacija obarvanja:

MACH 4 Universal AP Polymer Kit povzroči rdečo barvno reakcijo na mestih antiga, ki jih lokalizira primarno protitelje. 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 uporabljenne substratne kromogene. Za pričakovane barvne reakcije glejte navodila za embalažo substrata. Poleg tega lahko opazimo metakromazijo pri različnih metodah obarvanja.¹³

Ko se uporabi protobarvanje, bo odvisno od dolžine inkubacije in moči uporabljenega nasprotnega barvanja povzročilo obarvanje celičnih jedr. Prekomerno ali nepopolno kontrastno barvanje lahko ogrozi pravilno interpretacijo rezultatov. Glejte protokol(e) za priporočeno kontrastno barvanje.

Negativna tkivna kontrola:

Negativno tkivno kontrolo je treba pregledati po pozitivni tkivni kontroli, da se preveri specifičnost označevanja ciljnega antiga 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 zunanjou kontroli tkiva, je treba rezultate bolnikovega vzorca šteti 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 zadnji. Intenzivnost pozitivnega obarvanja je treba oceniti v kontekstu morebitnega nespecifičnega obarvanja ozadja negativne reagentne kontrole. Kot pri vsakem imunohistokemičnem testu negativni rezultat pomeni, da antigen ni bil odkrit, ne pa, da antigena ni bilo v testiranih celicah/tkivu. 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. Za *in vitro* diagnostiko (IVD) Uporaba
2. Ta izdelek je samo za profesionalno uporabo: Imunohistokemija je večstopenjski diagnostični proces, ki je sestavljen iz specializiranega

88/114



TP v2 (02/09/2023)

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Slovenian

BIOCARE
M E D I C A L

- usposabljanja za izbiro ustreznih reagentov; izbira, fiksacija in obdelava tkiv; priprava preparata IHC; in interpretacijo rezultatov barvanja.
3. Samo za uporabo na zdravniški recept. (Samo Rx)
 4. Barvanje tkiva je odvisno od ravnanja s tkivom in obdelave 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.¹⁴
 5. Prekomerno ali nepopolno kontrastno barvanje lahko ogrozi pravilno razlago rezultatov.
 6. Klinično interpretacijo kakršnega koli pozitivnega ali negativnegaobarvanja 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 razlago končnega pripravka IHC.
 7. Optimalni protokoli za določeno aplikacijo se lahko razlikujejo. Ti vključujejo, vendar niso omejeni na fiksacijo, metodo odvzema topote, čas inkubacije, razreduitev protiteles, debelinu 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 temelijo 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.¹⁵
 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 in novotvorbah ali drugih patoloških tkivih.¹⁶ Obrnite se na tehnično podporo podjetja Biocare na 1-800-542-2002 ali preko 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 avtoprotiteles 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.¹⁴
 13. Negativen rezultat pomeni, da antigen ni bil odkrit, ne pa, da antigena ni bilo v pregledanih celicah ali tkivu.

Posebne omejitve izdelka:

Ni dodatnih posebnih omejitev izdelka.

Značilnosti delovanja:

Barvanje je bilo izvedeno z uporabo protokolov, navedenih v navodilih za uporabo, specifičnih 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 reagenta 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.

Odpavljanje težav:

1. stekelca ni obarvana – preverite, da ugotovite, ali so bila uporabljenaj ustrezna pozitivna kontrola, tkivo, protitelesa in izdelki za odkrivanje. Preverite nepopolno ali nepravilno odstranjevanje ali predobdelavo voska.
2. Šibko obarvanje vseh stekelcev – Preverite, da ugotovite, ali so bila uporabljenaj 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 seruma ali kazela).
4. Odrezki tkiv se med inkubacijo sporejo 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 ustrezni titer protiteles, kot tudi ustrezne inkubacijske čase za vse reagente. Poleg tega zagotovite, da ima protokol dovolj korakov pranja, da odstranite odvečne reagente po zaključku korakov inkubacije.

Literatura:

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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
15. 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.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

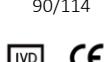
Slovenian

BIOCARE
M E D I C A L

16. 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

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



90/114

TP v2 (02/09/2023)

 EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Spanish

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Uso previsto:

para *in vitro* diagnóstico

El MACH 4 Universal AP Polymer Kit está diseñado para usarse en protocolos de tinción de inmunohistoquímica (IHC) manuales o automatizados utilizando un método de aplicación de polímero de fosfatasa alcalina (AP) de uno o dos pasos. Este kit de detección de micropolímeros está diseñado para la detección de anticuerpos primarios IgG e IgM de ratón y/o IgG de conejo unidos a antígenos diana en tejidos fijados en 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 en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas por un patólogo calificado.

Resumen y explicación:

El MACH 4 Universal AP Polymer Kit está diseñado con un método de uno o dos pasos para detectar anticuerpos primarios de ratón y/o conejo para formar un complejo anticuerpo-enzima. Luego, este complejo se visualiza usando un sustrato/cromógeno apropiado. En el método de un solo paso, se aplica un anticuerpo secundario directamente vinculado al micropolímero, mientras que en el método de dos pasos, el anticuerpo secundario no está marcado y se aplica secuencialmente un reactivo adicional marcado con polímero ligado a enzimas. El método de dos pasos está diseñado para amplificar la detección en casos de antígenos de baja expresión. Cubierto por una o más de las siguientes patentes de EE.UU. números 6.686.461; 6.800.728; 7.102.024; 7.173.125; 7.462.689.

Principio del procedimiento:

Este kit de detección de micropolímeros se puede utilizar en pruebas inmunohistoquímicas de secciones de tejido incluidas en parafina y fijadas con formalina. 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 (anticuerpo/sonda de enlace opcional), 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. A continuación, la muestra puede contrateñérse y cubrirse con un cubreobjetos. Los resultados se interpretan usando 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
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536L	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
M4U536G20	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL
	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

Reconstitución, mezcla, dilución, titulación:

Los reactivos del kit de detección de micropolímeros están optimizados y listos para usar con los anticuerpos y reactivos auxiliares de Biocare. No se requiere reconstitución, mezcla, dilución o titulación.

Aplicaciones conocidas:

inmunohistoquímica (tejidos fijados en formalina e incluidos en parafina)

Especies Reactividad:

cadenas pesadas y ligeras de IgG de ratón y conejo

Suministrado como:

Sonda AP universal MACH 4 – UP536

Solución salina tamponada, pH 7,2-7,4, que contiene una proteína transportadora y menos del 0,1 % de conservante de azida sódica. Consulte la Hoja de datos de seguridad para obtener detalles adicionales.

MACH 4 Universal AP Polímero – MRAP536

Solución salina tamponada, pH 7,6-7,8, que contiene una proteína portadora 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 proporcionados:

Portaobjetos de microscopio, cargados

positivamente Controles de tejido positivos y negativos

Cámara de deserto* o similar Horno de secado (opcional)

Xileno o sustituto de xileno

Etanol o alcohol reactivo

Cámara de decapado* o olla a presión similar (opcional)

Agua desionizada o destilada

Tampón de lavado*

Reactivos de pretratamiento* (opcional)

Digestión enzimática* (opcional)

Bloque de peroxidasa* (opcional)

Bloque de proteína* (opcional)

Anticuerpo primario*

Reactivos de control negativo*

Cromógenos*

Hematoxilina* (contratinción)

Reactivos de azulado*

montaje*

Cubreobjetos

Microscopio(aumento de 40-400X)

* Productos médicos de Biocare: Consulte el sitio web de Biocare Medical ubicado en <http://biocare.net> para obtener más 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.

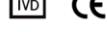
 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

91/114



TP v2 (02/09/2023)

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

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Spanish

BIOCARE
M E D I C A L

Almacenamiento y Estabilidad:

Conservar entre 2°C y 8°C. El producto es estable hasta la fecha de caducidad 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 bajo 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.

Los controles positivos y negativos deben ejecutarse 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 a través de la información de soporte técnico proporcionada en biocare.net.

Preparación de muestras:

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 en las hojas del micrótomo.^{1,2}

Los tejidos debidamente fijados e incluidos que expresen el antígeno diana 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 durante al menos diez años a partir de la fecha de examen y conservar los bloques de muestras al menos dos años a partir de la fecha del examen".³

Tratamiento de los tejidos antes de la tinción:

Realice la recuperación de epitopos inducida por calor (HIER) según el protocolo recomendado a continuación. Se ha demostrado que el uso rutinario de HIER antes de la IHQ minimiza la inconsistencia y estandariza la tinción.^{4,5}

Advertencias y precauciones:

- Los reactivos del kit contienen menos del 0,1 % de azida sódica. Las concentraciones inferiores al 0,1 % no son materiales peligrosos notificables según US 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication y EC Directive 91/155/EC. La azida de sodio (NaN₃) utilizada como conservante es tóxica si se ingiere. La azida de sodio puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre para formar azidas metálicas altamente explosivas. Al desecharlo, enjuague con grandes volúmenes de agua para evitar la acumulación de azida en las tuberías. (Centro para el Control de Enfermedades, 1976, Instituto Nacional de Seguridad y Salud Ocupacional, 1976)⁶
- Los reactivos del kit contienen menos del 0,05 % de ProClin 300 y/o menos del 1 % de ProClin 950. Use guantes y ropa protectora y tome precauciones razonables cuando lo manipule, ya que ProClin está clasificado como irritante y puede causar sensibilización por contacto con la piel. Evite el contacto con los ojos, la piel y las membranas mucosas.
- Manipule los materiales de origen humano o animal como potencialmente biopeligrosos y elimíne dichos materiales con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, siga las directivas sanitarias de las autoridades responsables donde se utilice.^{7,8}
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a ellas deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infecciones y desecharse con las precauciones adecuadas. Nunca pipete los reactivos con la boca y evite el contacto de la piel y las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávelas con abundante agua.⁹
- La contaminación microbiana de los reactivos puede provocar un aumento de la tinción inespecífica.
- Los tiempos o temperaturas de incubación distintos a los especificados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.

7. No utilice el reactivo después de la fecha de caducidad impresa en el vial.
8. Los reactivos del kit de detección de micropolímeros están optimizados y listos para usar con los anticuerpos y reactivos auxiliares de Biocare. Consulte las instrucciones de uso del anticuerpo primario y otros reactivos auxiliares para conocer los protocolos y las condiciones de uso recomendados.
9. Siga los requisitos de las autoridades locales y/o estatales para el método de eliminación.
10. La SDS está disponible a pedido y se encuentra en <http://biocare.net>.
11. Informe cualquier incidente grave relacionado con este dispositivo poniéndose en contacto con el representante local de Biocare y la autoridad competente aplicable del Estado miembro o país donde se encuentra el usuario.

Este kit de detección de micropolímeros contiene componentes clasificados como se indica en la siguiente tabla de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.

Peligro	Code	Indicación de peligro
	H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
N/A	H402 H412	Nocivo para la vida acuática. Nocivo para la vida acuática con efectos duraderos.

Instrucciones de uso:

Los reactivos del kit de detección de micropolímeros están optimizados y listos para usar con los anticuerpos y reactivos auxiliares de Biocare. Consulte las instrucciones de uso del anticuerpo primario y otros reactivos auxiliares para conocer los protocolos y las condiciones de uso recomendados. Los tiempos y las temperaturas de incubación variarán según el protocolo de anticuerpos específico que se siga.

Cuando utilice un instrumento de tinción automatizado, consulte el manual del operador del instrumento específico y las instrucciones de uso para conocer los parámetros de funcionamiento.

Pasos generales del procedimiento para realizar IHC:

1. Desparafinación: Desparafinar los portaobjetos en Slide Brite o xileno. Hidratar los portaobjetos en una serie de alcoholos graduados en agua.
2. Bloque de peróxido (opcional): bloquee durante 5 minutos con Peroxidized 1.
3. Solución/protocolo de pretratamiento: consulte la hoja de datos de anticuerpos primarios correspondiente para conocer la solución y el protocolo de pretratamiento recomendados.
4. Bloque de proteína (opcional): Incube de 5 a 10 minutos a temperatura ambiente (RT) con Background Punisher.
5. Anticuerpo primario: Consulte la hoja de datos del anticuerpo primario respectivo para conocer el tiempo de incubación.
6. Sonda (solo anticuerpos de ratón): Incube durante 5 a 15 minutos a temperatura ambiente con la sonda MACH 4 Universal AP.
7. Polímero: Incube durante 10-20 minutos para anticuerpos de ratón o 30 minutos para anticuerpos de conejo a TA con MACH 4 MR AP Polymer.
8. Cromógeno: Incube durante 5 minutos a temperatura ambiente con Warp Red.
9. Contratinción: contratinción con hematoxilina. Enjuague con agua desionizada. Aplique la solución de azulado de Tacha durante 1 minuto. Enjuague con agua desionizada.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Spanish

BIOCARE
M E D I C A L

Notas técnicas:

1. Use TBS solo para los pasos de lavado. Los tampones de lavado PBS inhibirán la tinción con fosfatasa alcalina.
2. No use suero de cabra como bloque de proteína. No use Borrador de fondo o Terminador de fondo.

Control de calidad:

consulte los estándares de calidad CLSI para el diseño y la implementación de ensayos de inmunohistoquímica; Guía aprobada, segunda edición (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA EE. UU. (www.clsi.org). 2011¹⁰

Control de tejido positivo:

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 preparados correctamente y técnicas de tinción adecuadas. Se debe incluir un control de tejido externo positivo para cada conjunto de condiciones de prueba en cada ciclo de tinción.

Los tejidos utilizados para los materiales de control positivo externo deben seleccionarse de muestras de pacientes con niveles bajos bien caracterizados de la actividad diana positiva que da una tinción positiva débil. El bajo nivel de positividad de los controles positivos externos está diseñado para garantizar la detección de cambios sutiles en la sensibilidad del anticuerpo primario por inestabilidad o problemas con la metodología IHC. Los portaobjetos de control de tejidos disponibles en el mercado o las muestras procesadas de forma diferente a las muestras del paciente solo validan el rendimiento del reactivo y no verifican la preparación del tejido.

Los controles de tejido positivos conocidos solo deben utilizarse para controlar el rendimiento correcto de los tejidos procesados y los reactivos de prueba, en lugar de ayudar a formular un diagnóstico específico de muestras de pacientes. Si los controles de tejido positivos no demuestran una tinción positiva, los resultados con las muestras de prueba deben considerarse inválidos.

Control de tejido negativo:

use un control de tejido negativo fijado, procesado e incluido de manera idéntica a la(s) muestra(s) del paciente con cada ciclo de tinción para verificar la especificidad del anticuerpo primario IHC para demostración del antígeno diana y para proporcionar una indicación de la tinción de fondo específica (tinción falso positivo). Además, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de las secciones de tejido puede ser utilizado por el laboratorista como sitios de control negativo interno para verificar el rendimiento de la IHC especificaciones. Los tipos y fuentes de especímenes que se pueden usar para tejido negativo los controles se enumeran en la sección Características de rendimiento.

Si se produce una tinción específica (tinción de falso positivo) en el control de tejido negativo, los resultados con las muestras de pacientes deben considerarse no válidos.

Control de reactivo negativo no específico:

utilice un control de 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 de 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. . El diluyente solo se puede usar como una alternativa menos deseable a los controles de 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 de tinción negativa 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 analizándolo en una serie de tejidos internos con características inmunohistoquímicas 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 CAP¹¹ para inmunohistoquímica y/o la directriz NCCLS IHC¹². 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:

sigue las recomendaciones del protocolo específico de anticuerpos de acuerdo con la hoja de datos provista. Si se producen resultados atípicos, comuníquese con el soporte técnico de Biocare al 1-800-542-2002.

Interpretación de la tinción:

El kit de polímero MACH 4 Universal AP produce una reacción de color rojo en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Antes de la interpretación de los resultados de los pacientes, 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 de tejido positivo:

El control de tejido positivo teñido con el anticuerpo indicado debe examinarse primero para asegurarse de que todos los reactivos funcionan correctamente. La tinción adecuada de las células diana (como se indicó anteriormente) es indicativa de una reactividad positiva. Si los controles de tejido positivos no demuestran una tinción positiva, cualquier resultado con las muestras de prueba debe considerarse inválido.

El color del producto de reacción puede variar dependiendo de los sustratos cromógenos 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.¹³

Cuando se usa una contratinación, según 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 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 marcado del antígeno diana por el 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

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Spanish

BIOCARE
M E D I C A L

positiva falsa) en el control de tejido externo negativo, los resultados con la muestra del paciente deben considerarse no válidos.

La tinción inespecífica, si está presente, suele tener un aspecto difuso. También se puede observar una tinción esporádica del tejido conectivo en secciones de tejidos excesivamente fijados en formalina. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. Las células necróticas o degeneradas a menudo se tiñen de manera inespecífica.

Tejido del paciente:

Examinar muestras de pacientes teñidas con el anticuerpo indicado ultimo. La intensidad de tinción positiva debe evaluarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivos negativos. Al igual que con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se detectó el antígeno, no que el antígeno estuviera ausente en las células/tejidos analizados. Si es necesario, utilice un panel de anticuerpos para identificar reacciones negativas falsas.

Consulte Resumen y explicación, limitaciones y características de rendimiento para obtener información específica sobre la inmunorreactividad del anticuerpo indicado.

Limitaciones: Limitaciones

generales:

1. Para *in vitro* (IVD)
2. Este producto es solo para uso profesional: La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico de varios pasos que consiste en capacitación especializada en la selección de los reactivos apropiados; selección, fijación y procesamiento de tejidos; preparación del portaobjetos IHC; e interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo con prescripción médica. (Solo Rx)
4. La tinción del tejido depende de la manipulación y el procesamiento del tejido antes de la tinción. La fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento, corte o contaminación inadecuados con 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.¹⁴
5. La 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 anticuerpos, reactivos y métodos de IHC interpretar todos los pasos utilizados para preparar e interpretar la preparación final de IHC.
7. Los protocolos óptimos para una aplicación específica pueden variar. Estos incluyen, entre otros, la fijación, el método de recuperación de calor, los tiempos de incubación, la dilución de anticuerpos, el grosor de la sección de tejido y el kit de detección utilizado. Consulte las instrucciones de uso del anticuerpo primario y otros reactivos auxiliares para conocer los protocolos y las 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 su uso 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 mostrar una tinción inespecífica con peroxidasa de rábano picante.¹⁵
10. Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no probados previamente. La posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, no puede eliminarse por completo debido a la variabilidad biológica de la expresión de antígenos en neoplasmas u otros tejidos patológicos.¹⁶ Comuníquese con el soporte técnico de Biocare al 1-800-542-2002, oa 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 generar resultados falsos negativos o falsos positivos debido a autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
12. Es posible que se observen resultados falsos positivos debido a la unión no inmunológica de proteínas o productos de reacción del sustrato. También pueden ser causados por actividad de pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (p. ej., hígado, mama, cerebro, riñón) según el tipo de inmunotinción utilizada.¹⁴
13. Un resultado negativo significa que no se detectó el antígeno, no que el antígeno estaba ausente en las células o tejidos examinados.

Limitaciones específicas del producto:

No hay limitaciones adicionales específicas del producto.

Características de rendimiento: la

tinción se realizó utilizando los protocolos proporcionados en las instrucciones de uso específicas del anticuerpo o según lo especificado. La sensibilidad y la especificidad de la tinción se evaluaron en una variedad de tipos de tejidos 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 a través de 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.

problemas:

1. No se tiñen los portaobjetos. Verifique para determinar si se han utilizado los productos de detección, anticuerpos y tejido de control positivo apropiados. Verifique que no haya remoción de cera o pretratamiento incompletos o inadecuados.
2. Tinción débil de todos los portaobjetos: verifique que se hayan utilizado los productos de detección, anticuerpos y tejido de control positivo apropiados.
3. Fondo excesivo de todos los portaobjetos: puede haber niveles altos de biotina endógena (si se utilizan productos de detección a base de biotina), actividad de HRP endógena que convierte el cromógeno en un producto final coloreado (utilice un bloqueo de peroxidasa) o un exceso de interacción proteica no específica (utilice una proteína bloqueo, como suero o solución de bloqueo a base de caseína).
4. Las secciones de tejido se lavan de los portaobjetos durante la incubación. Compruebe los portaobjetos para asegurarse de que estén cargados positivamente.
5. Tinción específica demasiado oscura: compruebe 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 después de completar los pasos de incubación.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

94/114



TP v2 (02/09/2023)

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

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Spanish

BIOCARE
M E D I C A L

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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
15. 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.
16. Herman GE and Elfent EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Swedish

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Avsedd användning:

För *in vitro* diagnostisk användning

MACH 4 Universal AP Polymer Kit är avsett för användning i antingen manuella eller automatiserade immunhistokemi (IHC) färgningsprotokoll med användning av en alkalisk fosfatas (AP) polymer en- eller tvåstegs appliceringsmetod. Detta mikropolymerdetektionskit är designat för detektion av primära IgG- och IgM-antikroppar från mus och/eller kanin-IgG bundna till målantigen i de formalinfixerade, paraffininbäddade (FFPE) vävnaderna under IHC-färgningsprocessen. Den kliniska tolkningen av eventuell färgning eller dess främvaro 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:

MACH 4 Universal AP Polymer Kit är utformat med en enstegs- eller tvåstegs metod för att detektera primära antikroppar från mus och/eller kanin för att bilda ett antikropp-enzymkomplex. Detta komplex visualiseras sedan med användning av ett lämpligt substrat/kromogen. I enstegs metoden appliceras en sekundär antikropp direkt kopplad till mikropolymeren medan i tvåstegs metoden den sekundära antikroppen är omärkt och ytterligare ett enzymkopplat polymermärkt reagens appliceras sekventiellt. Tvåstegs metoden är utformad för att förstärka detektionen i fall av låguttryckande抗原er. Omfattas av en eller flera av följande US Pat. nr 6,686,461; 6,800,728; 7,102,024; 7,173,125; 7,462,689.

Procedurprincip:

Denna mikropolymerdetektionskit kan användas vid immunhistokemistestning av formalinfixerade, paraffininbäddade vävnadssnitt. I allmänhet immunhistokemiska (IHC) färgningstekniker möjliggör visualisering av抗原er via sekventiell applicering av en specifik antikropp mot antigenet (primär antikropp), en sekundär antikropp mot den primära antikroppen (valfri länkantikropp/sond), ett enzymkomplex och ett kromogen substrat med mellanliggande tvättsteg. Den enzymatiska aktiveringens kromogen resulterar i en synlig reaktionsprodukt vid antigenstället. Provet kan sedan motfärgas och locket glider. Resultaten tolkas med hjälp av ett ljus mikroskop och hjälp vid differentialdiagnostik av patofisiologiska processer, som kan eller kanske inte vara associerad med ett visst antigen.

Material och metoder:

Reagens som medföljer:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

beredning, blandning, spädning, titrering:

Mikropolymerdetektionsreagenserna är optimerade och redo att användas med Biocare-antikroppar och hjälpreagenser. Ingen beredning, blandning, spädning eller titrering krävs.

Kända tillämpningar:

Immunhistokemi (formalinfixerade paraffininbäddade vävnader)

Arter Reaktivitet:

Mus och kanin IgG tunga och lätt kedjor

Levereras som:

MACH 4 Universal AP-sond – UP536

Bufferad koksaltlösning, pH 7,2-7,4, innehållande en proteinbärare och mindre än 0,1 % natriumazidkonserveringsmedel. Se säkerhetsdatabladet för ytterligare information.

MACH 4 Universal AP Polymer – MRAP536

Bufferad koksaltlösning, pH 7,6-7,8, 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 medföljer inte:

Objektglas, positivt laddade

Positiva och negativa vävnadskontroller

Desert Chamber* eller liknande Torkugn (tillval)

Xylen eller xylenersättning

Etolol eller reagens alkohol

Decloaking Chamber* eller liknande tryckkokare (tillval)

Avjoniserat eller destillerat vatten

*

Förbehandlingsreagens* (valfritt)

Enzymnedbrytning* (valfritt)

Peroxidasblock* (valfritt)

Proteinblock* (valfritt)

Primär antikropp*

Negativa kontrollreagens*

Kromogener*

Hematoxylin* (motfärgning)

Blåningsreagens*

Monteringsmedium*

Ljusmikroskop

täckglas (40-400X förstoring)

* Biocare Medical Products: Se Biocare Medicals webbplats på <http://biocare.net> för ytterligare information om katalognummer och beställning. Vissa reagenser listade ovan är baserade på specifik tillämpning och detektionssystem som används.

Förvaring och stabilitet:

Förvaras 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 ska inte spädas ut. Stabiliteten för användarens utspädda reagens har inte fastställts av Biocare.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Swedish

BIOCARE
MEDICAL

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.

Provberedning:

Vävnader fixerade i formalin är lämpliga för användning före paraffinibäddning. Ossös vävnad bör avkalkas före vävnadsbearbetning för att underlätta vävnadsskärning och förhindra skador på mikrotombladen.^{1,2}

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 objektglas minst tio år från datumet för undersöka och behålla provblocken minst två år från datumet för undersökningen."³

Behandling av vävnader före färgning:

Utför värmeinducerad epitopåtervinning (HIER) enligt rekommenderat protokoll nedan. Rutinmässig användning av HIER före IHC har visat sig minimera inkonsekvens och standardisera färgning.^{4,5}

Varning och försiktighetsåtgärder:

- Kit-reagens(er) innehåller mindre än 0,1 % natriumazid. Koncentrationer mindre än 0,1 % är inte rapporterbara farliga material enligt US 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication och EG-direktiv 91/155/EC. Natriumazid (NaN₃) som används som konserveringsmedel är giftigt vid förtäring. Natriumazid kan reagera med bly- och kopparrör för att bilda högexplosiva metallazider. Vid kassering, spola med stora volymer vatten för att förhindra aziduppbryggnad i rörledningar. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶
- Kitreagenser innehåller mindre än 0,05 % ProClin 300 och/eller mindre än 1 % ProClin 950. Bär handskar och skyddskläder och vidta rimliga försiktighetsåtgärder vid hantering eftersom ProClin är klassifierat 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 försiktighetsåtgärder. I händelse av exponering, följ hälsodirektiven från de ansvariga myndigheterna där det används.^{7,8}
- Prover, före och efter fixering, och allt material som exponeras för dem ska hanteras som om de kan överföra infektion och kasseras med lämpliga försiktighetsåtgärder. Pipetterna 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 kännliga områden, tvätta med rikliga mängder vatten.⁹
- 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.

Detta mikropolymerdetektionskit innehåller komponenter som klassificeras enligt tabellen nedan i enlighet med förordning (EG) nr 1272/2008.

Fara	Code	Faroangivelse
	H317	Kan orsaka en allergisk hudreaktion.
N/A	H402 H412	Skadligt för vattenlevande organismer. Skadligt för vattenlevande organismer med långvariga effekter.

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 antikoppsprotokoll som följs.

När du använder ett automatiserat färgningsinstrument, se den specifika instrumentets användarmanual och bruksanvisningar för driftsparametrar.

Allmänna procedursteg för att utföra IHC:

- Avparaffinering: Avparaffinera objektglasen i Slide Brite eller xylen. Hydrera objektglasen i en serie graderade alkoholer till vatten.
- Peroxidblock (valfritt): Blockera i 5 minuter med Peroxidized 1.
- Förbehandlingslösning/-protokoll: Se respektive datablad för primära antikroppar för rekommenderad förbehandlingslösning och protokoll.
- Proteinblock (valfritt): Inkubera i 5-10 minuter vid rumstemperatur (RT) med Background Punisher.
- Primär antikropp: Se respektive datablad för primär antikropp för inkubationstid.
- Sond (endast musantikroppar): Inkubera i 5-15 minuter vid RT med MACH 4 Universal AP-prob.
- Polymer: Inkubera i 10-20 minuter för musantikroppar eller 30 minuter för kaninantikroppar vid RT med MACH 4 MR AP-polymer.
- Kromogen: Inkubera i 5 minuter vid RT med Warp Red.
- Motfärgning: Motfärgning med hematoxylin. Skölj med avjoniserat vatten. Applicera Tacha's Blueing Solution i 1 minut. Skölj med avjoniserat vatten.

Tekniska anmärkningar:

- Använd endast TBS för tvättsteg. PBS tvättbuffertar kommer att hämma alkalisk fosfatasfärgning.
- Använd inte getserum som proteinblock. Använd inte Background Eraser eller Background Terminator.

Kvalitetskontroll:

Se CLSI kvalitetsstandarder för design och implementering av immunhistokemianalyser; Godkänd guideline-andra upplagan (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011¹⁰

Positiv vävnadskontroll:

Externt 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 färgningskörsning.

De vävnader som används för de externa positiva kontrollmaterialen bör väljas från patientprover med välkartererade låga nivåer av den positiva

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Swedish

BIOCARE
MEDICAL

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 vävnadskontrollobjektglas 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 mängdfalden av olika celltyper som finns i de flesta vävnadssnitt användas av laboratoriet som interna negativa kontrollplatser för att verifiera IHC:s prestanda specifikationer. 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.

Ospecifik negativ reagenskontroll:

Använd en ospecifik negativ reagenskontroll i stället för den primära antikroppen med en sektion av varje patientprov för att utvärdera ospecifik färgning och möjliggöra bättre tolkning av specifik färgning på antigenstället. Helst innehåller en negativ reagenskontroll en antikropp som producerats och prepareras (dvs spädd till samma koncentration med samma spädningsmedel) för användning på samma sätt som den primära antikroppen men uppvisar ingen specifik reaktivitet mot mänskliga vävnader i samma matris/lösning som Biocare-antikuppen. Enbart utspädningsmedel kan användas som ett mindre önskvärt alternativ till de tidigare beskrivna negativa reagenskontrollerna. Inkubationstiden för den negativa reagenskontrollen 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/ickspecifik bindningsbakgrundskontroll för andra antikroppar. För att differentiera endogen enzymaktivitet eller ospecifik bindning av enzymer från specifik immunaktivitet, 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 de kvalitetskontrollprocedurer som tidigare beskrivits i detta avsnitt av produktdokumentet och till kvalitetskontrollrekommendationerna i CAP Certification Program[®] for Immunohistochemistry och/eller NCCLS IHC-riktlinje[®]. Dessa kvalitetskontrollprocedurer bör upprepas för varje nytt antikroppsparti, eller närmest det sker en förändring i analysparametrarna. Vävnader listade i avsnittet Prestandaegenskaper är lämpliga för analysverifiering.

Felsökning:

Följ de antikroppsspecifika protokollrekommendationerna enligt databladet som tillhandahålls. Om atypiska resultat uppstår, kontakta Biocares tekniska support på 1-800-542-2002.

Tolkning av färgning:

MACH 4 Universal AP Polymer Kit producerar en röd färgreaktion vid antigenstället lokalisera 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 vävnadskontrolle 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.¹³

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 vävnadskontrolle bör undersökas efter den positiva vävnadskontrolle för att verifiera specificiteten för märkningen av målantigenet med den primära antikroppen. Frånvaron av specifik färgning i den negativa vävnadskontrolle bekräftar avsaknaden av antikropsporsaktivitet mot celler/cellulära komponenter. Om specifik färgning (falsk positiv färgning) inträffar i den negativa externa vävnadskontrolle, bör resultaten med patientprovet anses ogiltiga.

Ospecifik 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 prestandaegenskaper för specifik information om indikerad antikropspimmunreaktivitet.

Begränsningar:

Allmänna begränsningar:

1. För *in vitro*-diagnostik (IVD)

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Swedish

BIOCARE
M E D I C A L

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, uppstining, tvättning, torkning, uppvärming, sektionering eller kontaminering med andra vävnader eller vätskor kan ge artefakter, antikroppsfärgning eller falskt negativa resultat. Inkonsekventa resultat kan bero på variationer i fixerings- och inbäddningsmetoder, eller på inneboende oregelbundenheter i vävnaden.¹⁴
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, värmeartiverningsmetod, inkubationstider, antikroppsfärgning, vävnadssnittjocklek 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. Prestandaegenskaper har inte fastställts för flödescytometri.
9. Vävnaer från personer infekterade med hepatitis B-virus och som innehåller hepatitis B-yttanten (HBsAg) kan uppvisa ospecifik färgning med pepparotsperoxidaser.¹⁵
10. Reagenser kan uppvisa oväntade reaktioner i tidigare oprövade vävnader. Möjligheten för oväntade reaktioner även i testade vävnadsgrupper kan inte helt elimineras på grund av biologisk variation av antigenuttryck i neoplasmer eller andra patologiska vävnader.¹⁶ 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 blockeringssteg 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.¹⁴
13. Ett negativt resultat betyder att antigenet inte upptäcktes, inte att antigenet saknades i de undersökta cellerna eller vävnaden.

Produktspecifika begränsningar:

Inga ytterligare produktspecifika begränsningar.

Prestandaegenskaper:

Färgning utfördes med hjälp av protokoll som finns i de antikroppsspecifika bruksanvisningarna eller enligt specifikation. Färgningens känslighet och specificitet utvärderades över en rad normala och neoplastiska vävnadstyper som utvärderades under utveckling av primära antikroppar.

Reproducerbarhet: Reproducerbarheten

av Biocares detektionssystem och systemreagens verifieras genom en mätning av mellanprecision där olika reagenslots testades under en längre tidsperiod med hjälp av olika operatörer, analytiker, reagenslots, vävnadsprover och utrustning. Färgningen som erhölls för varje detektionsreagens som utvärderades var konsekvent och utfördes som förväntat.

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 (använd peroxidasblock) eller överskott av icke-specific proteininteraktion (använd 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 appliceras 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.
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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Swedish

BIOCARE
M E D I C A L

15. 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.
16. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Turkish

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Kullanım Amacı:

İçin *İn vitro* Tani Amaçlı Kullanım

MACH 4 Universal AP Polimer Kiti, bir alkalin fosfataz (AP) polimer tek veya iki adımlı uygulama yöntemi kullanan manuel veya otomatik İmmünohistokimya (IHC) boyama protokollerinde kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Bu mikro polimer saptama kiti, IHC boyama işlemi sırasında formalinle sabitlenmiş, parafine gömülü (FFPE) dokularındaki hedef抗ijenlere bağlanan fare IgG ve IgM veya tavşan IgG birincil antikorlarının saptanması için tasarlanmıştır. Herhangi bir lekelenmenin veya yokluğunun klinik yorumu, morfolojik çalışmalar ve uygun kontroller ile tamamlanmalı ve hastanın klinik öyküsü ve diğer teshis testleri bağlamında kalifiye bir patolog tarafından değerlendirilmelidir.

Özet ve Açıklama:

MACH 4 Evrensel AP Polimer Kiti, bir antikor-enzim kompleksi oluşturmak üzere fare ve/veya tavşan birincil antikorlarını saptamak için tek adımlı veya iki adımlı bir yöntem kullanılarak tasarlanmıştır. Bu kompleks daha sonra uygun bir substrat/kromojen kullanılarak görselleştirilir. Tek adımlı yöntemde, mikro-polimere doğrudan bağlı bir ikincil antikor uygulanırken, iki adımlı yöntemde ikincil antikor etiketsizdir ve ilave bir enzime bağlı polimer etiketli reaktif sırayla uygulanır. İki adımlı yöntem, düşük eksprese edici antijenlerin olduğu durumlarda saptamayı güçlendirmek için tasarlanmıştır. Aşağıdaki US Pat. No. 6,686,461; 6,800,728; 7,102,024; 7,173,125; 7,462,689.

Prosedür Prensibi:

Bu mikro polimer saptama kiti, formalinle sabitlenmiş, parafine gömülü doku bölgelerinin İmmünohistokimya testinde kullanılabilir. Genel olarak İmmünohistokimyasal (IHC) boyama teknikleri, antijenlerin sıralı uygulanması yoluyla görselleştirilmesine izin verir. Antijene spesifik antikor (birincil antikor), birincil antikora ikincil bir antikor (isteğe bağlı ikinci antikor/prob), bir enzim kompleksi ve araya giren yıkama adımları olan bir kromogenik substrat. Kromogenin enzimatik aktivasyonu, antijen bölgesinde görünür bir reaksiyon ürünü ile sonuçlanır. Numune daha sonra zıt boyanabilir ve lamel kaydırılabilir. Sonuçlar bir ışık kullanılarak yorumlanır mikroskop ve patofizyolojik süreçlerin ayırcı tanısında yardımcı olabilir veya belirli bir antijen ile ilişkili olmayabilir.

Malzemeler ve Yöntemler:

Sağlanan Reaktifler:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

Sulandırma, Karıştırma, Seyreltme, Titrasyon:

Mikro polimer saptama kiti reaktif(ler)i optimize edilmiştir ve Biocare antikorları ve yardımcı reaktiflerle kullanıma hazırır. Sulandırma, karıştırma, seyreltme veya titrasyon gerekmeyez.

Bilinen Uygulamalar:

İmmünohistokimya (formalinle fikse edilmiş parafine gömülü dokular)

Tür Reaktivite:

Fare ve Tavşan IgG ağır ve hafif zincirleri

Temin

MACH 4 Universal AP Probu – UP536

Bir protein taşıyıcı ve koruyucu olarak %0,1'den az sodyum azid koruyucu içeren, pH 7,2-7,4 olan tamponlu salın solusyonu. Ek ayrıntılar için Güvenlik Veri Sayfasına bakın.

MACH 4 Universal AP Polimeri – MRAP536

Bir protein taşıyıcı ve koruyucu olarak %0,01'den az ProClin 300 ve/veya %0,5'ten az ProClin 950 içeren tamponlu salın solusyonu, pH 7,6-7,8. Ek ayrıntılar için Güvenlik Veri Sayfasına bakın.

Gerekli Ancak Sağlanmayan Malzemeler ve Reaktifler:

İamları, pozitif yüklü ve negatif doku kontrolleri

Desert Chamber*

Pozitif

Mikroskop

benzeri

veya

Yıkama tamponu*

Ön tedavi reaktifleri* (isteğe bağlı)

Enzim sindirimleri* (isteğe bağlı)

Peroksızda bloğu* (isteğe bağlı)

Protein bloğu* (isteğe bağlı)

Birincil antikor*

Negatif kontrol reaktifleri*

Kromojenler*

Hematoksiilen* (karşı boyama)

Bluing reaktifi*

Montaj ortamı*

Lamel

İşik Mikroskopu (40-400X büyütme)

* Biocare Medikal Ürünleri: Katalog numaraları ve sipariş ile ilgili daha fazla bilgi için <http://biocare.net> adresinde bulunan Biocare Medical web sitesine bakın. Yukarıda listelenen belirli reaktifler, kullanılan özel uygulamaya ve algılama sistemine dayalıdır.

Saklama ve Stabilite:

2°C ile 8°C'de saklayın. Ürün, bu koşullar altında saklandığında flakon etiketinde yazılı olan son kullanma tarihine kadar stabildir. Son kullanma tarihinden sonra kullanmayın. Belirtilenler dışındaki herhangi bir koşulda depolama doğrulanmalıdır. Kit reaktif(ler)i kullanıma hazırır ve seyretilmemelidir. Kullanıcı tarafından seyretilmiş reaktifin stabilitesi Biocare tarafından belirlenmemiştir.

Pozitif ve negatif kontroller, tüm hasta numuneleriyle aynı anda yapılmalıdır. Laboratuvar prosedürlerindeki değişikliklerle açıklanamayan beklenmedik bir

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

101/114



TP v2 (02/09/2023)

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

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Turkish

BIOCARE
M E D I C A L

lekelemeye gözlemlenirse ve antikorla ilgili bir sorundan şüpheleniliyorsa, 1-800-542-2002 numaralı telefondan veya biocare.net'te sağlanan teknik destek bilgileri aracılığıyla Biocare'in Teknik Desteği ile iletişime geçin.

Numune Hazırlama:

Formalin içinde fiks edilmiş dokular, parafine gömmeden önce kullanıma uygundur. Doku kesimini kolaylaştmak ve mikrotom bıçaklarının zarar görmesini önlemek için doku işlemeden önce kemikli dokuların kireci giderilmelidir.^{1,2}

Belirtilen antijen hedefini ifade eden uygun şekilde sabitlenmiş ve gömülü dokular serin bir yerde saklanmalıdır. 1988 tarihli Klinik Laboratuvar İyileştirme Yasası (CLIA), 42 CFR §493.1259(b)'de "Laboratuvar, lekeli lamları, onay tarihinden itibaren en az on yıl saklamalıdır. inceleyin ve numune bloklarını inceleme tarihinden itibaren en az iki yıl saklayın."³

Boyamadan Önce Dokuların Tedavisi:

Aşağıda önerilen protokole göre Isı Kaynaklı Epitop Toplama (HIER) gerçekleştirsiniz. IHC'den önce HIER'in rutin kullanımının tutarsızlığı en azı indirdiği ve boyamayı standartlaştırdığı gösterilmiştir.^{4,5}

Uyarı ve Önlemler:

- Kit reaktif(ler)i %0,1'den az sodyum azit içerir. %0,1'in altındaki konsantrasyonlar US 29 CFR 1910.1200, OSHA Tehlike iletişimi ve EC Direktifi 91/155/EC'ye göre bildirilebilir tehlaklı maddeler değildir. sodyum azit (NaN₃) olarak kullanılan Sodyum azit kurşun ve bakır tesisatla reaksiyonu girerek yüksek oranda patlayıcı metal azitler oluşturabilir. İmha edildikten sonra, tesisatta azit birikmesini önlemek için bol miktarda su ile yıkayın. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶
- Kit reaktifleri %0,05'ten az ProClin 300 ve/veya %1'den az ProClin 950 içerir. ProClin tıraş edici olarak sınıflandırıldığından ve cilt temasında hassasiyete neden olabileceğinden eldiven ve koruyucu kıyafet giyin ve kullanırken makul önlemler alın. Göz, cilt ve mukoza zarları temasından kaçının.
- İnsan veya hayvan kaynaklı malzemeleri potansiyel olarak biyolojik olarak tehlaklı olarak kullanın ve bu tür malzemeleri uygun önlemlerle atın. Maruz kalma durumunda, kullanıldığı yerde sorumlu makamların sağlık direktiflerine uyın.^{7,8}
- Fiksasyondan önce ve sonra numuneler ve bunlara maruz kalan tüm materyaller enfeksiyon bulaşılabilir gibi ele alınmalı ve uygun önlemler alınarak imha edilmelidir. Reaktifleri asla ağız yoluyla pipetlemeyin ve reaktifler ve örneklerle cilt ve mukoza zarlarına temas etmekten kaçının. Reaktifler veya numuneler hassas alanlarla temas ederse bol miktarda su ile yıkayın.⁹
- Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonu spesifik olmayan boyamada artışa neden olabilir.
- Belirtilenlerin dışındaki inkübasyon süreleri veya sıcaklıklar hatalı sonuçlar verebilir. Kullanıcı bu tür değişiklikleri doğrulamalıdır.
- Reaktifi flakonun üzerinde yazılı olan son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
- Mikro polimer saptama kiti reaktif(ler)i optimize edilmiş ve Biocare antikorları ve yardımcı reaktiflerle kullanıma hazırdir. Önerilen protokoller ve kullanım koşulları için birincil antikor ve diğer yardımcı reaktif kullanım talimatlarına bakın.
- Bertaraf etme yöntemi için yerel ve/veya eyalet makamlarının gerekliliklerine uyın.
- SDS istek üzerine mevcuttur ve <http://biocare.net> adresinde.
- Bu cihazla ilgili herhangi bir ciddi olayı, yerel Biocare temsilcisi ve Üye Devlet veya kullanıcının bulunduğu ülkenin geçerli yetkili makamı ile iletişime geçerek bildirin.

Bu mikro polimer algılama kiti, 1272/2008 Sayılı Yönetmeliğe (EC) göre aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde sınıflandırılan bileşenler içerir.

tehlike	Code	Tehlike Bildirimi
	H317	Alerjik cilt reaksiyonuna neden olabilir.
N/A	H402 H412	Su yaşamı için zararlıdır. Uzun süreli etkileri ile sudaki yaşam için zararlıdır.

Kullanım Talimatları:

Mikro polimer saptama kiti reaktif(ler)i optimize edilmiş ve Biocare antikorları ve yardımcı reaktiflerle kullanıma hazırdir. Önerilen protokoller ve kullanım koşulları için birincil antikor ve diğer yardımcı reaktif kullanım talimatlarına bakın. Kuluçka süreleri ve sıcaklıklar, izlenen spesifik antikor protokolüne bağlı olarak değişecektir.

Otomatik bir boyama aleti kullanırken, ilgili aletin kullanım kılavuzuna ve çalışma parametreleri için kullanım talimatlarına bakın.

IHC gerçekleştirmek için genel prosedür adımları:

- Parafinden arındırın: Slaytları Slide Brite veya ksilen içinde parafinden arındırın. Slaytları bir dizi dereceli alkolde suya hidratlayın.
- Peroksit Bloğu (İsteğe Bağlı): Peroxized 1 ile 5 dakika bloke edin.
- Ön Muamele Solüsyonu/Protokolü: Önerilen ön muamele solüsyonu ve protokolü için lütfen ilgili birincil antikor veri sayfasına bakın.
- Protein Bloğu (İsteğe Bağlı): Background Punisher ile oda sıcaklığında (RT) 5-10 dakika inkübe edin.
- Birincil Antikor: Kuluçka süresi için lütfen ilgili birincil antikor veri sayfasına bakın.
- Prob (yalnızca fare antikorları): MACH 4 Universal AP Probe ile oda sıcaklığında 5-15 dakika inkübe edin.
- Polimer: Oda sıcaklığında MACH 4 MR AP Polimer ile fare antikorları için 10-20 dakika veya tavşan antikorları için 30 dakika inkübe edin.
- Kromojen: Çözgü Kırmızısı ile oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edin.
- Karşı boyama: Hematoksilen ile karşı boyama. Deionize su ile durulayın. Tacha'nın Bluing Solüsyonunu 1 dakika süreyle uygulayın. Deionize su ile durulayın.

Teknik Notlar:

- TBS'yi yalnızca yıkama adımları için kullanın. PBS yıkama tamponları, alkanlin fosfataz lekelemesini önleyecektir.
- Protein bloğu olarak keçi serumu kullanmayın. Background Eraser veya Background Terminator kullanmayın.

Kalite Kontrol:

İmmünonhistokimya Testlerinin Tasarımı ve Uygulanması için CLSI Kalite Standartlarına bakın; Onaylı Kılavuz-İkinci baskı (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA ABD (www.clsi.org). 2011¹⁰

Pozitif Doku Kontrolü:

Harici Pozitif kontrol malzemeleri, hasta numune(ler)ıyla aynı şekilde en kısa sürede sabitlenmiş, işlenmiş ve gömülü taze numuneler olmalıdır. Pozitif doku kontrolleri, doğru hazırlanmış dokuların ve uygun boyama tekniklerinin göstergesidir. Her test koşulu seti için bir pozitif harici doku kontrolü, her boyama işlemine dahil edilmelidir.

Harici pozitif kontrol materyalleri için kullanılan dokular, zayıf pozitif boyama veren pozitif hedef aktivitenin iyi karakterize edilmiş düşük seviyelerine sahip

Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

102/114



TP v2 (02/09/2023)

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

EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

BIOCARE
M E D I C A L

Turkish

hasta numunelerinden seçilmelidir. Harici pozitif kontroller için düşük pozitiflik düzeyi, IHC metodolojisindeki istikrarsızlık veya sorunlardan kaynaklanan birincil antikor duyarlılığındaki ince değişiklıkların saptanmasını sağlayacak şekilde tasarlanmıştır. Ticari olarak temin edilebilen doku kontrol slaytları veya hasta numunelerinden farklı şekilde işlenmiş numuneler, yalnızca reaktif performansını doğrular ve doku hazırlığını doğrulamaz.

Bilinen pozitif doku kontrolleri, hasta numunelerinin belirli bir teşhisini formüle etmeye yardımcı olmaktan ziyade, yalnızca işlenmiş dokuların ve test reaktiflerinin doğru performansını izlemek için kullanılmalıdır. Pozitif doku kontrolleri pozitif boyanmayı gösteremezse, test örnekleriyle alınan sonuçlar geçersiz kabul edilmelidir.

Negatif Doku Kontrolü:

IHC birincil antikorun özgülüğünü doğrulamak için her boyama çalışmada hasta numune(ler)yle 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 kesitinde bulunan farklı hücre tiplerinin çeşitliliği, laboratuvar tarafından IHC'nin performansını doğrulamak için dahili negatif kontrol alanları olarak kullanılabilir 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 alınan sonuçlar geçersiz kabul edilmelidir.

Spesifik Olmayan Negatif Reaktif Kontrolü: Spesifik

İçin her hasta örneğinin bir bölümü ile birincil antikor yerine spesifik olmayan bir negatif reaktif kontrolü kullanın ve antijen bölgesindeki spesifik boyamanın daha iyi yorumlanması sağlanmak ideal olarak, bir negatif reaktif kontrolü, birincil antikorla aynı şekilde kullanılmak üzere üretilmiş ve hazırlanmış (yani aynı seyreltici kullanılarak aynı konsantrasyona seyrletilmiş) bir antikor içerir, ancak Biocare antikor ile aynı matris/çözelti içinde insan dokularıyla spesifik bir reaktivite sergilemez. Tek başına seyreltici, daha önce açıklanan negatif reaktif kontrollerine göre daha az tercih edilen bir alternatif olarak kullanılabilir. Negatif reaktif kontrolü için inkübasyon süresi, birincil antikorunkine karşılık gelmelidir.

Seri kesitlerde birkaç antikordan oluşan paneller kullanıldığından, bir slaydin negatif boyanan alanları, diğer antikorlar için negatif/spesifik olmayan bağlanma arka plan kontrolü görevi görebilir. Endojen enzim aktivitesini veya enzimlerin spesifik olmayan bağlanması spesifik immünoreaktiviteden ayırt etmek için ilave hasta dokuları, sırasıyla substrat-kromojen veya enzim kompleksleri (PAP, avidin-biotin, streptavidin) ve substrat-kromojen ile özel olarak boyanabilir.

Tahlil Doğrulaması:

Tanışal bir prosedürde bir antikor veya boyama sisteminin ilk kullanımından önce kullanıcı, antikorun özgülüğünü, bilinen pozitif ve negatif dokuları temsil eden bilinen immünohistokimyasal performans özelliklerine sahip bir dizi kurum içi doku üzerinde test ederek doğrulamalıdır. Ürün prospektüsünün bu bölümünde daha önce özetlenen kalite kontrol prosedürlerine ve İmmünohistokimya için CAP Sertifikasyon Programı¹¹ ve/veya NCCLS IHC kilavuzu^{12,13}. Bu kalite kontrol prosedürleri, her yeni antikor lotu için veya tahlil parametrelerinde bir değişiklik olduğunda tekrarlanmalıdır. Performans Özellikleri bölümünde listelenen dokular test doğrulaması için uygundur.

Sorun Giderme:

Sağlanan veri sayfasına göre antikora özgü protokol önerilerini izleyin. Alışmadık sonuçlar ortaya çıkarsa, 1-800-542-2002 numaralı telefondan Biocare'in Teknik Desteği ile iletişime geçin.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

103/114



TP v2 (02/09/2023)

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

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

Boyamanın Yorumlanması:

MACH 4 Universal AP Polimer Kiti, birincil antikor tarafından lokalize edilen antijen bölgelerinde kırmızı renk reaksiyonu üretir. Hasta sonuçlarının yorumlanmasıından önce, kontrollerin boyanması kalifiye bir patolog tarafından değerlendirilmelidir. Negatif kontroller değerlendirilir ve gözlenen herhangi bir lekelenmenin spesifik olmayan etkileşimlerin bir sonucu olmadığından emin olmak için lekeli slaytlarla karşılaşılır.

Pozitif Doku Kontrolü:

Belirtilen antikorla boyanmış pozitif doku kontrolü, tüm reaktiflerin düzgün çalıştığından emin olmak için önce incelenmelidir. Hedef hücrelerin uygun şekilde boyanması (yukarıda belirtildiği gibi), pozitif reaktivitenin göstergesidir. Pozitif doku kontrolleri pozitif boyanmayı gösteremezse, test numuneleri ile elde edilen tüm sonuçlar geçersiz kabul edilmelidir.

Reaksiyon ürününün rengi, kullanılan substrat kromojenlerine bağlı olarak değişebilir. Beklenen rengi reaksiyonları için alt tabaka prospektüslerine bakın. Ayrıca, boyama yönteminin varyasyonlarında metakromazi görülebilir.¹³ Bir karşı boyama kullanıldığında, kullanılan karşı boyamanın inkübasyon uzunluğuna ve gücüne bağlı olarak, karşı boyama hücre çekirdeklerinin renklenmesine neden olur. Aşırı veya eksiksiz zıt boyama, sonuçların doğru yorumlanmasıını tehlikeye atabilir. Önerilen karşı boyama için protokol(ler) bakın.

Negatif Doku Kontrolü:

Primer antikor tarafından hedef antijenin etiketlenmesinin özgülüğünü doğrulamak için pozitif doku kontrolünden sonra negatif doku kontrolü incelenmelidir. Negatif doku kontrolünde spesifik lekelenmenin olmaması, hücrelere/hücresel bileşenlere karşı antikor çapraz reaktivitesinin olmadığını doğrular. Negatif dış doku kontrolünde spesifik boyama (yanlış pozitif boyama) meydana gelirse, hasta örneğinden alınan sonuçlar geçersiz kabul edilmelidir.

Spesifik olmayan boyama varsa, genellikle dağınık bir görünüm sahiptir. Aşırı formalinle sabitlenmiş dokulardan alınan kesitlerde bağ dokusunun sporadik boyanması da gözlenebilir. Boyama sonuçlarının yorumlanması için bozulmamış hücreleri kullanın. Nekrotik veya dejeneratif hücreler genellikle spesifik olmayan şekilde boyanır.

Hasta Dokusu:

Belirtilen antikorla boyanmış hasta örneklerini inceleyin geçen. Pozitif boyama yoğunluğu, negatif reaktif kontrolünün herhangi bir spesifik olmayan arka plan boyaması bağlamında değerlendirilmelidir. Herhangi bir immünohistokimyasal teste olduğu gibi, negatif bir sonuç, antijenin test edilen hücrelerde/dokuda bulunmadığı anlamına gelmez, antijenin saptanmadığı anlamına gelir. Gerekirse, yanlış negatif reaksiyonları belirlemek için bir antikor paneli kullanın.

Belirtilen antikor immünoreaktivitesine ilişkin özel bilgiler için Özeti ve Açıklama, Sınırlamalar ve Performans Özelliklerine bakın.

Kısıtlamalar:

Genel Kısıtlamalar:

1. *In vitro* diagnostik (IVD) Kullanım
2. içindir Bu ürün yalnızca profesyonel kullanım içindir: İmmünohistokimya, uygun reaktiflerin seçiminde özel eğitim içeren çok adımlı bir teşhis sürecidir; doku seçimi, sabitleme ve işleme; IHC slaytinın hazırlanması; ve boyama sonuçlarının yorumlanması.
3. Sadece doktor reçetesile kullanılmalıdır. (Yalnızca Rx)
4. Doku boyama, boyamadan önce dokunun kullanılmasına ve işlenmesine bağlıdır. Uygun olmayan fiksasyon, dondurma, çözme, yıkama, kurutma,

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

Turkish

BIOCARE
M E D I C A L

- isıtma, kesit alma veya diğer dokular veya sıvılarla kontaminasyon artefaktlara, antikor yakalamaya veya yanlış negatif sonuçlara neden olabilir. Tutarlı sonuçlar, fiksasyon ve gömme yöntemlerindeki farklılıklardan veya doku içindeki doğal düzensizliklerden kaynaklanabilir.¹⁴
5. Aşırı veya eksik zit boyama, sonuçların doğru yorumlanması tehlikeye atabilir.
 6. Herhangi bir pozitif veya negatif boyamanın klinik yorumu, klinik sunum, morfoloji ve diğer histopatolojik kriterler bağlamında 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 kullanılmışına așina olan kalifiye bir patoloğun sorumluluğundadır.
 7. Belirli bir uygulama için optimum protokoller değişimdir. Bunlar arasında, bunlarla sınırlı olmamak üzere, fiksasyon, ısı geri alma yöntemi, inkübasyon süreleri, antikor dilüsyonu, doku kesit kalınlığı ve kullanılan tespit kiti yer alır. Önerilen protokoller ve kullanım koşulları için birincil antikor ve diğer yardımcı reaktif kullanım talimatlarına bakın. Veri sayfası önerileri ve protokoller, Biocare ürünlerinin özel kullanımına dayanmaktadır. Nihayetinde, optimal koşulları belirlemek araştırmacının sorumluluğundadır.
 8. Bu ürün, akış sitometrisinde kullanılmak üzere tasarlanmamıştır. 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 peroksidaz ile spesifik olmayan lekelenme sergileyebilir.¹⁵
 10. Reaktifler, önceden test edilmemiş dokularda beklenmeyen reaksiyonlar gösterebilir. Neoplazmalar veya diğer patolojik dokularda antijen ekspresyonunun biyolojik değişkenliği nedeniyle, test edilen doku gruplarında bile beklenmeyen reaksiyon olasılığı tamamen ortadan kaldırılmıştır.¹⁶ Biocare'in Teknik Desteği ile 1-800-542-2002 numaralı telefondan veya biocare.net'te sağlanan teknik destek bilgileri aracılığıyla, belgelendirilmiş beklenmeyen reaksiyon(lar) ile iletişime geçin.
 11. Bloke etme adımlarında kullanılan sekonder 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 tipine bağlı olarak psödo peroksidaz aktivitesi (eritrositler), endojen peroksidaz aktivitesi (sitokrom C) veya endojen biotin (örn. karaciğer, meme, beyin, böbrek) neden olabilir.¹⁴
 13. Negatif sonuç, antijenin inceleen hücrelerde veya dokuda bulunmadığı anlamına gelmez, antijenin tespit edilmemiği anlamına gelir.

Ürüne Özgü Sinirlamalar:

Ürüne özgü ek sınırlamalar yoktur.

Performans Özellikleri:

Boyama, antikora özgü kullanım talimatlarında sağlanan protokoller kullanılarak veya belirtildiği şekilde gerçekleştirildi. Boyamanın duyarlılığı ve özgüllüğü, birincil antikorların gelişimi sırasında değerlendirilen bir dizi normal ve neoplastik doku tipinde değerlendirildi.

Tekrar

üretilenebilirlik: Biocare'in saptama sistemlerinin ve sistem reaktiflerinin tekrar üretilenebilirliği, çeşitli operatörler, analistler, reaktif lotları, doku numuneleri ve ekipman kullanılarak uzun bir süre boyunca çeşitli reaktif lotlarının test edildiği bir ara kesinlik ölçümlü doğrulanır. Değerlendirilen her tespit reaktifi için elde edilen boyama tutarlıydı ve bekendiği gibi yapıldı.

Sorun Giderme:

1. Herhangi bir slaytta boyanma yok – Uygun pozitif kontrol dokusu, antikor ve algılama ürünlerinin kullanıldığını belirlemek için kontrol edin. Eksik veya yanlış mum çıkarma veya ön işlem olup olmadığını kontrol edin.
2. Tüm slaytların zayıf boyanması – Uygun pozitif kontrol dokusu, antikor ve algılama ürünlerinin kullanıldığını belirlemek için kontrol edin.
3. Tüm slaytlarda aşırı arka plan – Yüksek seviyelerde endojen biyotin (biyotin bazlı tespit ürünlerini kullanılıyorsa), kromogeni renkli son ürünü dönüştüren endojen HRP aktivitesi (peroksidaz bloğu kullanın) veya aşırı spesifik olmayan protein etkileşimi (bir protein kullanımın) olabilir serum veya kazein bazlı bloke edici solüsyon gibi).
4. İnkübasyon sırasında lamları doku bölümleri yıkayarak aşındırır – Pozitif yüklü olduklarından emin olmak için lamları kontrol edin.
5. Spesifik boyama çok koyu – Slaya uygun antikor titresinin uygulanıp uygulanmadığını ve ayrıca tüm reaktifler için uygun inkübasyon sürelerini belirlemek için protokolü kontrol edin. Ek olarak, inkübasyon adımları tamamlandıktan sonra protokolün fazla reaktifleri çıkarmak için yeterli yıkama adımına sahip olduğunu 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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
15. 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.
16. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.



60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

104/114



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

French

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Utilisation prévue :

Pour *in vitro* usage diagnostique

Le kit MACH 4 Universal AP Polymer est destiné à être utilisé dans les protocoles de coloration immunohistochimique (IHC) manuels ou automatisés utilisant une méthode d'application en une ou deux étapes du polymère de phosphatase alcaline (AP). Ce kit de détection en micropolymère est conçu pour la détection des anticorps primaires IgG et IgM de souris et/ou IgG de lapin 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 de diagnostic par un pathologiste qualifié.

Résumé et explication :

Le kit MACH 4 Universal AP Polymer est conçu à l'aide d'une méthode en une ou deux étapes pour détecter les anticorps primaires de souris et/ou de lapin afin de former un complexe anticorps-enzyme. Ce complexe est ensuite visualisé à l'aide d'un substrat/chromogène approprié. Dans la méthode en une étape, un anticorps secondaire directement lié au micropolymère est appliqué tandis que dans la méthode en deux étapes, l'anticorps secondaire n'est pas marqué, et un réactif supplémentaire marqué par un polymère lié à une enzyme est appliquée séquentiellement. La méthode en deux étapes est conçue pour amplifier la détection dans les cas d'antigènes à faible expression. Couvert par un ou plusieurs des brevets américains suivants. n° 6 686 461; 6 800 728; 7 102 024; 7 173 125; 7 462 689.

Principe de la procédure :

Ce kit de détection de micropolymères peut être utilisé dans les tests immunohistochimiques de coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine. En général, immunohistochimie (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 éventuel anticorps/sonde), un complexe enzymatique et un substrat chromogénique avec étapes de lavage interposées. L'activation enzymatique du chromogène se traduit par un produit de réaction visible au site de l'antigène. L'échantillon peut ensuite être contre-coloré et recouvert. 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.

Matériaux et méthodes :

Réactifs fournis :

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL
	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
M4U536H	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL
M4U536G20	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

Reconstitution, Mélange, Dilution, Titrage :

Le ou les réactifs du kit de détection de micro-polymères sont optimisés et prêts à l'emploi avec les anticorps et réactifs auxiliaires Biocare. Aucune reconstitution, mélange, dilution ou titrage n'est nécessaire.

Applications connues :

Immunohistochimie (tissus fixés au formol et inclus en paraffine)

Réactivité des espèces :

Chaînes lourdes et légères d'IgG de souris et de lapin

Fourni comme :

Sonde AP universelle MACH 4 – UP536

Solution saline tamponnée, pH 7,2-7,4, contenant un vecteur protéique et moins de 0,1 % d'azoture de sodium comme conservateur. Voir la fiche de données de sécurité pour plus de détails.

Polymère AP universel MACH 4 – MRAP536

Solution saline tamponnée, pH 7,6-7,8, contenant un vecteur 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.

Matériel et réactifs nécessaires mais non fournis :

Lames de microscope, chargées

positivement Témoins de tissus positifs et négatifs

Chambre du désert* ou similaire Étuve de séchage (facultatif)

Xylène ou substitut de xylène

Éthanol ou alcool réactif

Chambre de désocclusion* ou autocuiseur similaire (facultatif)

Eau déminéralisée ou distillée

Tampon de lavage*

Réactifs de prétraitement* (facultatif)

Digestion enzymatique* (facultatif)

Bloc de peroxydase* (facultatif)

Bloc de protéines* (facultatif)

Anticorps primaire*

Réactifs de contrôle négatif

*

* (contre-

Réactif

*

Hématoxyline

Microscope(grossissement 40-400X)

* Produits médicaux Biocare : consultez le site Web de Biocare Medical à l'adresse <http://biocare.net> pour plus d'informations sur les numéros de catalogue et les commandes. Certains réactifs énumérés ci-dessus sont basés sur l'application spécifique et 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

105/114



Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

TP v2 (02/09/2023) | Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

EC REP EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

French

BIOCARE
M E D I C A L

conditions autres que celles spécifiées doit être vérifié. Les réactifs 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 exécutés 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 support technique de Biocare au 1-800-542-2002 ou via les informations de support technique fournies sur biocare.net.

Préparation des échantillons : Les

tissus fixés dans le formol conviennent à une utilisation avant l'inclusion de 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.^{4,5}

Les tissus correctement fixés et intégrés exprimant la cible antigénique spécifiée doivent être conservés dans un endroit frais. Le Clinical Laboratory Improvement Act (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 l'examen et conserver les blocs d'échantillons au moins deux ans à compter de la date de l'examen.³

Traitement des tissus avant la coloration :

Effectuez une récupération d'épitope 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 normalise la coloration.^{4,5}

Avertissements et précautions:

- Les réactifs du kit contiennent moins de 0,1 % d'azoture de sodium. Les concentrations inférieures à 0,1 % ne sont pas des matières dangereuses à signaler selon US 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard communication et EC Directive 91/155/EC. L'azide de sodium (NaN₃) utilisé comme agent de conservation est毒ique en cas d'ingestion. L'azoture de sodium peut réagir avec la plomberie en plomb et en cuivre pour former des azotures métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer à grande eau pour éviter l'accumulation d'azide dans la plomberie. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶
- Les réactifs du kit contiennent moins de 0,05 % de ProClin 300 et/ou moins de 1 % de ProClin 950. Portez des gants et des vêtements de protection et prenez des précautions raisonnables lors de la manipulation car ProClin est classé comme irritant et peut provoquer une sensibilisation par contact cutané. Evitez le contact avec les yeux, la peau et les muqueuses.
- Manipulez les matériaux d'origine humaine ou animale comme potentiellement dangereux pour la biologie et éliminez ces matériaux avec les précautions appropriées. En cas d'exposition, suivre les directives sanitaires des autorités responsables du lieu d'utilisation.^{7,8}
- Les échantillons, avant et après fixation, et tous les matériaux qui y sont exposés doivent être manipulés comme s'ils pouvaient transmettre une infection et éliminés avec les précautions appropriées. Ne jamais pipeter les réactifs à la bouche et évitez tout contact de la peau et des muqueuses avec les réactifs et les échantillons. Si des réactifs ou des échantillons entrent en contact avec des zones sensibles, laver abondamment à l'eau.⁹
- La contamination microbienne des réactifs peut entraîner une augmentation de la coloration non spécifique.
- Des durées d'incubation ou des températures autres que celles spécifiées peuvent donner des résultats erronés. L'utilisateur doit valider un tel changement.
- Ne pas utiliser de réactif après la date de péremption imprimée sur le flacon.
- Le ou les réactifs du kit de détection des micropolymères sont optimisés et prêts à l'emploi avec les anticorps et réactifs auxiliaires Biocare. Reportez-vous aux instructions d'utilisation de l'anticorps primaire et des autres réactifs

auxiliaires pour connaître les protocoles et les conditions d'utilisation recommandés.

9. Suivez les exigences des autorités locales et/ou nationales pour la méthode d'élimination.

10. La FDS est disponible sur demande et se trouve sur <http://biocare.net>.

11. Signalez tout incident grave lié à cet appareil en contactant le représentant local de Biocare et l'autorité compétente applicable de l'État membre ou du pays où se trouve l'utilisateur.

Ce kit de détection de micro-polymères contient des composants classés comme indiqué dans le tableau ci-dessous conformément au règlement (CE) n° 1272/2008.

Danger	Code	Mention de danger
	H317	Peut provoquer une réaction allergique cutanée.
N/A	H402 H412	Nocif pour la vie aquatique. Nocif pour la vie aquatique avec des effets durables.

Mode d'emploi :

Le(s) réactif(s) du kit de détection de micro-polymères sont optimisés et prêts à l'emploi avec les anticorps et réactifs auxiliaires Biocare. Reportez-vous aux instructions d'utilisation de l'anticorps primaire et des autres réactifs auxiliaires pour connaître les protocoles et les conditions d'utilisation recommandés. Les temps et les températures d'incubation varient en fonction du protocole d'anticorps spécifique suivi.

Lors de l'utilisation d'un instrument de coloration automatisé, consulter 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 :

- Déparaffinage : déparaffiner les lames dans du Slide Brite ou du xylène. Hydratez les lames dans une série d'alcools gradués à l'eau.
- Bloc peroxyde (facultatif) : Bloquer pendant 5 minutes avec Peroxidized 1.
- Solution/protocole de prétraitement : Veuillez vous reporter à la fiche technique respective de l'anticorps primaire pour connaître la solution et le protocole de prétraitement recommandés.
- Bloc protéique (facultatif) : Incuber pendant 5 à 10 minutes à température ambiante (RT) avec Background Punisher.
- Anticorps primaire : Veuillez vous référer à la fiche technique respective de l'anticorps primaire pour le temps d'incubation.
- Sonde (anticorps de souris uniquement) : Incuber pendant 5 à 15 minutes à température ambiante avec la sonde AP universelle MACH 4.
- Polymère : Incuber pendant 10 à 20 minutes pour les anticorps de souris ou 30 minutes pour les anticorps de lapin à température ambiante avec le polymère MACH 4 MR AP.
- Chromogène : incuber pendant 5 minutes à température ambiante avec Warp Red.
- Contre-coloration : Contre-coloration à l'hématoxyline. Rincer à l'eau déminéralisée. Appliquez la solution de bleuisissement de Tacha pendant 1 minute. Rincer à l'eau déminéralisée.

Notes techniques :

- Utilisez le TBS uniquement pour les étapes de lavage. Les tampons de lavage PBS inhiberont la coloration à la phosphatase alcaline.
- Ne pas utiliser de sérum de chèvre comme bloc protéique. N'utilisez pas Background Eraser ou Background Terminator.

Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

106/114



TP v2 (02/09/2023)

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

EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

French

BIOCARE
MEDICAL

Contrôle de la qualité :

se référer aux normes de qualité du CLSI pour la conception et la mise en œuvre des tests d'immunohistochimie ; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011¹⁰

Contrôle tissulaire positif :

Les matériaux de contrôle positif externe doivent être des échantillons frais fixés, traités et enrobés dès que possible de la même manière que les échantillons de patients. 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 cycle 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 de l'activité cible positive qui donne une faible coloration positive. Le faible niveau de positivité des contrôles positifs externes est conçu pour assurer 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 des tissus disponibles dans le commerce ou les échantillons traités différemment des échantillons du patient valident uniquement les performances des réactifs 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 comme une aide à la formulation d'un diagnostic spécifique d'échantillons de patients. Si les contrôles de tissus positifs ne présentent pas de coloration positive, les résultats avec les échantillons de test doivent être considérés comme non valides.

Contrôle tissulaire négatif :

utilisez un contrôle tissulaire négatif fixé, traité et enrobé de manière identique à l'échantillon ou aux échantillons de patient avec chaque cycle de coloration pour vérifier la spécificité de l'anticorps primaire IHC pour démonstration de l'antigène cible, et pour fournir une indication de coloration de fond spécifique (coloration faussement positive). En outre, la variété des différents types de cellules présentes dans la plupart des coupes de tissus peut être utilisé par le laboratoire comme site de contrôle négatif interne pour vérifier la performance de l'IHC Caractéristiques. Les types et les sources d'échantillons qui peuvent être utilisés pour les tissus négatifs Les commandes sont répertoriées dans la section Caractéristiques de performance.

Si une coloration spécifique (coloration faussement positive) se produit dans le tissu de contrôle négatif, les résultats avec les échantillons de patients doivent être considérés comme non valides.

Contrôle de réactif négatif non spécifique :

Utilisez un contrôle de 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 de réactif négatif contient un anticorps produit et préparé (c'est-à-dire dilué à la même concentration en utilisant le même diluant) pour une utilisation 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 une alternative moins souhaitable aux contrôles réactifs négatifs décrits précédemment. La période d'incubation du contrôle de 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 enzymatique (PAP, avidine-biotine, streptavidine) et substrat-chromogène, respectivement.

Vérification du test :

avant l'utilisation initiale 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 avec des caractéristiques de performance immunohistochimiques connues représentant des tissus positifs et négatifs connus. Reportez-vous aux procédures de contrôle de la qualité décrites précédemment dans cette section de la notice du produit et aux recommandations de contrôle de la qualité du programme de certification CAP¹¹ pour l'immunohistochimie et/ou de la directive NCCLS IHC¹². Ces procédures de contrôle de la 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 dosage.

Dépannage :

Suivez les recommandations de protocole spécifiques aux anticorps conformément à la fiche technique fournie. Si des résultats atypiques se produisent, contactez le support technique de Biocare au 1-800-542-2002.

Interprétation de la coloration :

Le kit MACH 4 Universal AP Polymer produit une réaction de couleur rouge 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 s'assurer 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 d'abord être examiné 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 de tissus positifs ne présentent pas de coloration positive, tous les résultats avec les échantillons de test doivent être considérés comme non valides.

La couleur du produit de réaction peut varier en fonction des substrats chromogènes utilisés. Reportez-vous aux notices d'emballage du substrat pour les réactions de couleur attendues. De plus, une métachromasie peut être observée dans des variantes de la méthode de coloration.¹³

Lorsqu'un contre-colorant est utilisé, selon la durée d'incubation et la puissance du contre-colorant utilisé, 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 la contre-coloration recommandée.

Tissu de contrôle:

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

107/114



MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

French

BIOCARE
M E D I C A L

La coloration non spécifique, si elle est présente, a généralement un aspect diffus. Une coloration sporadique du tissu conjonctif peut également être observée dans les coupes de tissus excessivement fixés au formol. Utiliser des cellules intactes pour l'interprétation des résultats de coloration. Les cellules nécrotiques ou dégénérées se colorent souvent de manière non spécifique.

Tissu patient :

Examiner les échantillons de patients colorés avec l'anticorps indiqué dernière. 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 des cellules/tissus testés. Si nécessaire, utilisez un panel d'anticorps pour identifier les réactions faussement négatives.

Reportez-vous à Résumé et explication, Limites et Caractéristiques de performance pour des informations spécifiques concernant l'immunoréactivité des anticorps indiquée.

Limitations : Limitations

générales :

1. Pour *in vitro* (IVD)
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 l'interprétation des résultats de coloration.
3. À utiliser uniquement sur prescription médicale. (Rx uniquement)
4. La coloration des tissus dépend de la manipulation et du traitement du tissu avant la coloration. Une fixation, une congélation, une décongélation, un lavage, un séchage, un chauffage, une coupe ou une contamination inappropriés avec d'autres tissus ou fluides peuvent produire des artefacts, un piégeage d'anticorps ou des résultats faussement négatifs. Des résultats incohérents peuvent être dus à des variations dans les méthodes de fixation et d'enrobage, ou à des irrégularités inhérentes au tissu.¹⁴
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 est familiarisé avec 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, mais sans s'y limiter, la fixation, la méthode de récupération de la chaleur, les temps d'incubation, la dilution des anticorps, l'épaisseur de la coupe de tissu et le kit de détection utilisé. Reportez-vous aux instructions d'utilisation de l'anticorps primaire 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'investigateur 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 (HBsAg) peuvent présenter une coloration non spécifique à la peroxydase de raifort.¹⁵
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 pas être complètement éliminée en raison de la variabilité biologique de l'expression de l'antigène dans les néoplasmes ou d'autres tissus pathologiques.¹⁶ Contactez l'assistance technique de Biocare au 1-800-542-2002, ou via les informations d'assistance technique fournies sur biocare.net, avec les 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 entraîner 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 de la liaison non immunologique des protéines ou des produits de réaction du substrat. Ils peuvent également être causés par une pseudo-activité peroxydase (érythrocytes), une activité endogène de peroxydase (cytochrome C) ou une biotine endogène (p. ex., foie, sein, cerveau, rein) selon le type d'immunocolorant utilisé.¹⁴
13. Un résultat négatif signifie que l'antigène n'a pas été détecté, et non que l'antigène était absent des cellules ou des tissus examinés.

Limitations spécifiques au produit :

aucune limitation supplémentaire spécifique au produit.

Caractéristiques de performance :

La coloration a été effectuée en utilisant les protocoles fournis dans les instructions d'utilisation spécifiques à 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 au cours du développement d'anticorps primaires.

Reproductibilité :

La reproductibilité des systèmes de détection et des réactifs du système de Biocare est vérifiée par une mesure de précision intermédiaire dans laquelle divers lots de réactifs ont été testés sur une longue période de temps 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 pour déterminer si des tissus de contrôle positif, des anticorps et des produits de détection appropriés ont été utilisés. Vérifiez l'élimination ou le prétraitement de la cire incomplets ou inappropriés.
2. Faible coloration de toutes les lames – Vérifier pour déterminer si des tissus de contrôle positif, des anticorps et des 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 un excès d'interaction protéique non spécifique (utilisez une protéine bloc, comme une solution de blocage à base de sérum ou de caséine).
4. Les coupes de tissus lavent les lames pendant l'incubation – Vérifier les lames pour s'assurer qu'elles sont chargées positivement.
5. Coloration spécifique trop sombre – 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

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

108/114



TP v2 (02/09/2023)

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

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

French

BIOCARE
MEDICAL

lavage pour éliminer les réactifs en excès une fois les étapes d'incubation terminées.

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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
15. 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.
16. Herman GE and Elfent EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

German

BIOCARE
MEDICAL

Available Product Formats

Catalog Number	Volume
M4U536G	6.0 mL
M4U536H	25 mL
M4U536L	100 mL
M4U536G20	20 mL

Verwendungszweck:

Zur *In-vitro* Diagnostik

Das MACH 4 Universal AP Polymer Kit ist für die Verwendung in manuellen oder automatisierten Immunhistochemie (IHC)-Färbeprotokollen unter Verwendung einer ein- oder zweistufigen Applikationsmethode für ein alkalisches Phosphatase (AP)-Polymer vorgesehen. Dieses Mikropolymer-Nachweiskit dient zum Nachweis von Maus-IgG und -IgM und/oder Kaninchen-IgG-Primärantikörpern, die während des IHC-Färbeverfahrens an Zielantigene in Formalin-fixierten, Paraffin-eingebetteten (FFPE) Geweben gebunden sind. Die klinische Interpretation einer Verfärbung oder ihres Fehlens sollte durch morphologische Studien und geeignete Kontrollen ergänzt und im Zusammenhang mit der Krankengeschichte des Patienten und anderen diagnostischen Tests durch einen qualifizierten Pathologen bewertet werden.

Zusammenfassung und Erläuterung:

Das MACH 4 Universal AP Polymer Kit wurde unter Verwendung einer einstufigen oder zweistufigen Methode zum Nachweis von Maus- und/oder Kaninchen-Primärantikörpern entwickelt, um einen Antikörper-Enzym-Komplex zu bilden. Dieser Komplex wird dann unter Verwendung eines geeigneten Substrats/Chromogens sichtbar gemacht. Bei dem Ein-Schritt-Verfahren wird ein direkt an das Mikropolymer gebundener sekundärer Antikörper aufgetragen, während beim Zwei-Schritt-Verfahren der sekundäre Antikörper unmarkiert ist und ein zusätzliches, mit einem Enzym verbundenes, polymermarkiertes Reagenz nacheinander aufgetragen wird. Die zweistufige Methode wurde entwickelt, um den Nachweis in Fällen von schwach exprimierenden Antigenen zu verstärken. Von einem oder mehreren der folgenden US-Patente abgedeckt. Nr. 6,686,461; 6.800.728; 7.102.024; 7.173.125; 7.462.689.

Verfahrensprinzip:

Dieses Mikropolymer-Nachweiskit kann für immunhistochemische Tests von formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden. Im Allgemeinen immunhistochemisch (IHC) Färbearten ermöglichen die Visualisierung von Antigenen durch die sequentielle Anwendung von a spezifischer Antikörper gegen das Antigen (primärer Antikörper), ein sekundärer Antikörper gegen den primären Antikörper (optionale Verknüpfung Antikörper/Sonde), ein Enzymkomplex und ein chromogenes Substrat mit zwischengeschalteten Waschschritten. Die enzymatische Aktivierung des Chromogens führt zu einem sichtbaren Reaktionsprodukt an der Antigenstelle. Die Probe kann dann gegengefärbt und abgedeckt werden. Die Ergebnisse werden mit einem Licht interpretiert Mikroskop und Hilfe bei der Differentialdiagnose von pathophysiologischen Prozessen, die können oder möglicherweise nicht mit einem bestimmten Antigen assoziiert.

Materialien und Methoden

Mitgelieferte Reagenzien:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536G	UP536G	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 6 mL

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
M4U536H	MRAP536G	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 6 mL
	UP536H	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 25 mL
	MRAP536H	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 25 mL
M4U536L	UP536L	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 100 mL
	MRAP536L	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 100 mL
	UP536G20	MACH 4 Universal AP Probe	1 x 20 mL
M4U536G20	MRAP536G20	MACH 4 MR AP Polymer	1 x 20 mL

Rekonstitution, Mischen, Verdünnen, Titration:

Die Reagenzien des Mikropolymer-Nachweiskits sind optimiert und gebrauchsfertig mit Biocare-Antikörpern und Hilfsreagenzien. Es ist keine Rekonstitution, Mischung, Verdünnung oder Titration erforderlich.

Bekannte Anwendungen:

Immunhistochemie (Formalin-fixierte, in Paraffin eingebettete Gewebe)

Speziesreakтивität:

Schwere und leichte IgG-Ketten von Maus und Kaninchen

Geliefert als:

MACH 4 Universal AP-Sonde – UP536

Gepufferte Kochsalzlösung, pH 7,2–7,4, enthält einen Proteinträger und weniger als 0,1 % Natriumazid-Konservierungsmittel. Weitere Einzelheiten finden Sie im Sicherheitsdatenblatt.

MACH 4 Universal AP Polymer – MRAP536

Gepufferte Kochsalzlösung, pH 7,6–7,8, 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 mitgelieferte Materialien und Reagenzien:

Objektträger, positiv geladen

Positive und negative Gewebekontrollen

Wüstenkammer* oder ähnliches Trockenofen (optional)

Xylo oder

Ethanol oder

Reagenzalkohol Enthüllungskammer* oder ähnlicher Schnellkochtopf (optional)

Deionisiertes oder destilliertes Wasser

Waschpuffer*

Vorbehandlungsreagenzien* (optional)

Enzymverdau* (optional)

Peroxidaseblock* (optional)

Proteinblock* (optional)

Primärer Antikörper*

Negativkontrollreagenzien*

Chromogene*

Hämatoxylin* (Gegenfärbung)

Bläuungsreagenz

*

Eindeckmedium

Lichtmikroskop (40-400-fache Vergrößerung)

* Produkte von Biocare Medical: Weitere Informationen zu Katalognummern und Bestellungen 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.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

German

BIOCARE
MEDICAL

Lagerung und Stabilität:

Bei 2 °C bis 8 °C lagern. Das Produkt ist bei Lagerung unter diesen Bedingungen bis zum auf dem Fläschchenetikett aufgedruckten Verfallsdatum haltbar. Nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Die Lagerung unter anderen als den angegebenen Bedingungen muss überprüft werden. Die Kit-Reagenzien sind gebrauchsfertig und sollten nicht verdünnt werden. Die Stabilität des vom Benutzer verdünnten Reagenz wurde von Biocare nicht nachgewiesen.

Positiv- und Negativkontrollen sollten gleichzeitig mit allen Patientenproben durchgeführt werden. Wenn eine unerwartete Färbung beobachtet wird, die nicht durch Variationen 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 Informationen zum technischen Support auf biocare.net.

Probenvorbereitung:

Formalinfixierte Gewebe sind zur Verwendung vor der Paraffineinbettung geeignet. Knochengewebe sollte vor der Gewebeverarbeitung entkalkt werden, um das Schneiden des Gewebes zu erleichtern und eine Beschädigung der Mikrotomklingen zu vermeiden.^{1,2}

Korrekt fixierte und eingebettete Gewebe, die das angegebene Zielantigen exprimieren, sollten an einem kühlen Ort gelagert werden. Das Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) von 1988 fordert in 42 CFR §493.1259(b), dass „das Labor gefärbte Objekträger mindestens zehn Jahre ab dem Datum aufbewahren muss Prüfung und Probenblöcke mindestens zwei Jahre ab Prüfungsdatum aufzubewahren.“³

vor dem Färben:

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

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:

- Kit-Reagenzien enthalten weniger als 0,1 % Natriumazid. Konzentrationen unter 0,1 % sind keine meldepflichtigen Gefahrstoffe gemäß US 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication und EG-Richtlinie 91/155/EC. Natriumazid (NaN₃) ist bei Einnahme giftig. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferleitungen reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung mit großen Wassermengen spülen, um eine Azidbildung in den Rohrleitungen zu verhindern. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶
- Kit-Reagenzien enthalten weniger als 0,05 % ProClin 300 und/oder weniger als 1 % ProClin 950. Tragen Sie Handschuhe und Schutzkleidung und treffen Sie bei der Handhabung angemessene Vorsichtsmaßnahmen, da ProClin als reizend eingestuft ist und eine Sensibilisierung bei Hautkontakt verursachen kann. Kontakt mit Augen, Haut und Schleimhäuten vermeiden.
- Behandeln Sie Materialien menschlichen oder tierischen Ursprungs als potenziell biologisch gefährlich und entsorgen Sie solche Materialien mit den entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen. Befolgen Sie im Falle einer Exposition die Gesundheitsvorschriften der zuständigen Behörden, sofern verwendet.^{7,8}
- Proben vor und nach der Fixierung sowie alle ihnen ausgesetzten Materialien sollten so behandelt werden, als ob sie Infektionen übertragen könnten, und mit angemessenen Vorsichtsmaßnahmen entsorgt werden. Reagenzien niemals mit dem Mund pipettieren und Haut- und Schleimhautkontakt mit Reagenzien und Proben vermeiden. Wenn Reagenzien oder Proben mit empfindlichen Bereichen in Kontakt kommen, mit reichlich Wasser waschen.⁹
- Eine mikrobielle Kontamination von Reagenzien kann zu einer Zunahme unspezifischer Färbungen führen.

6. Andere als die angegebenen Inkubationszeiten oder -temperaturen können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Der Benutzer muss jede solche Änderung bestätigen.

7. Reagenz nach Ablauf des auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

8. Die Reagenzien des Mikropolymer-Nachweiskits sind optimiert und gebrauchsfertig mit Biocare-Antikörpern und Hilfsreagenzien. Die empfohlenen Protokolle und Anwendungsbedingungen finden Sie in den Gebrauchsanweisungen für den primären Antikörper und andere Hilfsreagenzien.

9. Befolgen Sie die Vorschriften der örtlichen und/oder staatlichen Behörden für die Entsorgungsmethode.

10. Das Sicherheitsdatenblatt ist auf Anfrage erhältlich und befindet sich unter <http://biocare.net>.

11. Melden Sie alle schwerwiegenden 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.

Dieses Mikropolymer-Nachweiskit enthält Komponenten, die gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 wie in der folgenden Tabelle aufgeführt klassifiziert sind.

Gefahr	Code	Gefahrenhinweis
	H317	Kann eine allergische Hautreaktion hervorrufen.
N/A	H402 H412	Schädlich für Wasserlebewesen. Schädlich für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung.

Gebrauchsanweisung:

Die Reagenzien des Mikropolymer-Nachweiskits sind optimiert und gebrauchsfertig mit Biocare-Antikörpern und Hilfsreagenzien. Die empfohlenen Protokolle und Anwendungsbedingungen finden Sie in den Gebrauchsanweisungen für den primären Antikörper und andere Hilfsreagenzien. Die Inkubationszeiten und -temperaturen variieren je nach spezifischem Antikörperprotokoll, das befolgt wird.

Wenn Sie ein automatisches Färbeinstrument verwenden, konsultieren Sie die Bedienungsanleitung und die Gebrauchsanweisung des jeweiligen Instruments für die Betriebsparameter.

Allgemeine Verfahrensschritte zur Durchführung von IHC:

- Entparaffinierung: Objekträger in Slide Brite oder Xylol entparaffinieren. Objekträger in einer Reihe von abgestuften Alkoholen zu Wasser hydratisieren.
- Peroxid-Blockierung (optional): 5 Minuten lang mit Peroxidized 1 blockieren.
- Vorbehandlungslösung/Protokoll: Die empfohlene Vorbehandlungslösung und das empfohlene Protokoll entnehmen Sie bitte dem Datenblatt des jeweiligen primären Antikörpers.
- Proteinblock (optional): 5-10 Minuten bei Raumtemperatur (RT) mit Background Punisher inkubieren.
- Primärantikörper: Die Inkubationszeit entnehmen Sie bitte dem Datenblatt des jeweiligen Primärantikörpers.
- Sonde (nur Maus-Antikörper): 5-15 Minuten bei RT mit der MACH 4 Universal AP-Sonde inkubieren.
- Polymer: 10-20 Minuten für Maus-Antikörper oder 30 Minuten für Kaninchen-Antikörper bei RT mit MACH 4 MR AP Polymer inkubieren.
- Chromogen: 5 Minuten bei RT mit Warp Red inkubieren.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

German

BIOCARE
M E D I C A L

9. Gegenfärbung: Gegenfärbung mit Hämatoxylin. Mit deionisiertem Wasser spülen. Tragen Sie Tacha's Bläuungslösung 1 Minute lang auf. Mit deionisiertem Wasser spülen.

Technische Hinweise:

1. Verwenden Sie TBS nur für Waschschritte. PBS-Waschpuffer hemmen die Färbung durch alkalische Phosphatase.
2. Verwenden Sie kein Ziegenserum als Proteinblock. Verwenden Sie nicht Background Eraser oder Background Terminator.

Qualitätskontrolle:

Siehe CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Genehmigte Richtlinie – Zweite Ausgabe (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011¹⁰

Positive Gewebekontrolle:

Externe Positivkontrollmaterialien 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 vorbereitete Gewebe und geeignete Färbetechniken hin. Eine positive externe Gewebekontrolle für jeden Satz von Testbedingungen sollte in jedem Färbedurchgang enthalten sein.

Die für die externen positiven Kontrollmaterialien verwendeten Gewebe sollten aus Patientenproben mit gut charakterisierten niedrigen Konzentrationen der positiven Zielaktivität ausgewählt werden, die eine schwach positive Färbung ergibt. Die geringe Positivität für externe Positivkontrollen ist so konzipiert, dass der Nachweis geringfügiger Änderungen der Empfindlichkeit des primären Antikörpers aufgrund von Instabilität oder Problemen mit der IHC-Methodik gewährleistet ist. Kommerziell erhältliche Objektträger zur Gewebekontrolle oder Proben, die anders als die Patientenprobe(n) verarbeitet wurden, validieren nur die Leistung der Reagenzien und verifizieren nicht die Gewebevorbereitung.

Bekannte positive Gewebekontrollen sollten nur zur Überwachung der korrekten Leistung von verarbeiteten Geweben 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 Färbedurchgang eine negative Gewebekontrolle, die in identischer Weise wie die Patientenprobe(n) fixiert, verarbeitet und eingebettet wurde, um die Spezifität des primären IHC-Antikörpers für zu überprüfen Demonstration des Zielantigens und um einen Hinweis auf eine spezifische Hintergrundfärbung zu liefern (Falsch-Positiv-Färbung). Auch die Vielzahl unterschiedlicher Zelltypen, die in den meisten Gewebschnitten vorhanden sind, kann vom Laboratorium als interne negative Kontrollstellen verwendet werden, um die Leistung des IHC zu überprüfen Spezifikationen. Die Arten und Quellen von Proben, die für negatives Gewebe verwendet werden können Steurelemente 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 eine unspezifische Negativreagenzkontrolle anstelle des primären Antikörpers mit einem Schnitt jeder Patientenprobe, um die unspezifische Färbung zu bewerten und

eine bessere Interpretation der spezifischen Färbung an der Antigenstelle zu ermöglichen. Idealerweise enthält eine negative Reagenzkontrolle einen Antikörper, der auf die gleiche Weise wie der primäre Antikörper hergestellt und hergestellt (dh auf die gleiche Konzentration mit dem gleichen Verdünnungsmittel verdünnt) wurde, aber keine spezifische Reaktivität mit menschlichen Geweben in der gleichen Matrix/Lösung wie der Biocare-Antikörper zeigt. Verdünnungsmittel allein kann als weniger wünschenswerte Alternative zu den zuvor beschriebenen negativen Reagenzkontrollen verwendet werden. Die Inkubationszeit der Negativkontrolle sollte der des Primärantikörpers entsprechen.

Wenn Panels mit mehreren Antikörpern auf seriellen Schnitten 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 weitere Patientengewebe ausschließlich mit Substrat-Chromogen oder Enzymkomplexen (PAP, Avidin-Biotin, Streptavidin) bzw. Substrat-Chromogen gefärbt werden.

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

German

BIOCARE
MEDICAL

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 von hausinternen Geweben mit bekannten immunhistochemischen Leistungsmerkmalen testet, die bekannte positive und negative Gewebe darstellen. Beachten Sie die zuvor in diesem Abschnitt der Produktbeilage beschriebenen Qualitätskontrollverfahren und die Qualitätskontrollempfehlungen des CAP-Zertifizierungsprogramms¹³ für Immunhistochemie und/oder der NCCLS-IHC-Richtlinie¹⁴. Diese Qualitätskontrollverfahren sollten für jede neue Antikörpercharge oder bei jeder Änderung der Testparameter wiederholt werden. Die im Abschnitt „Leistungsmerkmale“ aufgeführten Gewebe sind für die Assay-Verifizierung geeignet.

Fehlerbehebung:

Befolgen Sie die antikörperspezifischen 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 MACH 4 Universal AP Polymer Kit erzeugt eine rote Farbreaktion an den vom primären Antikörper lokализierten Antigenstellen. Vor der Interpretation der Patientenergebnisse muss die Färbung der Kontrollen von einem qualifizierten Pathologen bewertet werden. Negativkontrollen werden bewertet und mit gefärbten Objektträgern verglichen, um sicherzustellen, dass beobachtete Färbungen nicht auf unspezifische Wechselwirkungen zurückzuführen sind.

Positive Gewebekontrolle:

Die mit dem angegebenen Antikörper gefärbte positive Gewebekontrolle sollte zuerst 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 je nach verwendeten Substrachromogenen variieren. Siehe Packungsbeilagen des Substrats für erwartete Farbreaktionen. Darüber hinaus kann Metachromasie bei Variationen der Färbemethode beobachtet werden.¹⁵

Wenn eine Gegenfärbung verwendet wird, führt die Gegenfärbung je nach Inkubationsdauer und Potenz der verwendeten Gegenfärbung zu einer Färbung der Zellkerne. Übermäßige oder unvollständige Gegenfärbung kann die korrekte Interpretation der Ergebnisse beeinträchtigen. Siehe Protokoll(e) für empfohlene Gegenfärbung.

Negative:

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

Unspezifische Färbungen, falls vorhanden, haben normalerweise ein diffuses Erscheinungsbild. Sporadische Färbungen des Bindegewebes können auch in Schnitten von übermäßig formalinfixiertem Gewebe beobachtet werden. Verwenden Sie zur Interpretation der Färbeergebnisse intakte Zellen. Nekrotische oder degenerierte Zellen färben sich oft unspezifisch.

Patientengewebe:

Mit dem angegebenen Antikörper gefärbte Patientenproben untersuchen letzte. 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, nicht, dass das Antigen in den getesteten Zellen/Geweben nicht vorhanden war. Verwenden Sie bei Bedarf ein Panel von Antikörpern, um falsch-negative Reaktionen zu identifizieren.

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

Einschränkungen:

Allgemeine Einschränkungen:

1. Zur *in vitro* Diagnostik (IVD)
2. Dieses Produkt ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt: Die Immunhistochemie ist ein mehrstufiges diagnostisches Verfahren, das aus einer speziellen Ausbildung in der Auswahl der geeigneten Reagenzien besteht; Gewebeauswahl, -fixierung und -verarbeitung; Vorbereitung der IHC-Folie; und Interpretation der Färbeergebnisse.
3. Nur zur Verwendung auf ärztliche Verschreibung. (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 Abweichungen bei den Fixierungs- und Einbettungsmethoden oder auf inhärente Unregelmäßigkeiten innerhalb des Gewebes zurückzuführen sein.¹⁴
5. Übermäßige oder unvollständige Gegenfärbung kann die korrekte Interpretation der Ergebnisse beeinträchtigen.
6. Die klinische Interpretation einer positiven oder negativen Färbung sollte im Zusammenhang mit dem klinischen Erscheinungsbild, der Morphologie und anderen histopathologischen Kriterien bewertet werden. Die klinische Interpretation einer 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 zur Vorbereitung und Interpretation der endgültigen IHC-Präparation verwendeten Schritte zu interpretieren.
7. Die optimalen Protokolle für eine bestimmte Anwendung können variieren. Dazu gehören unter anderem Fixierung, Wärmerückgewinnungsverfahren, Inkubationszeiten, Antikörperfürdünnung, Gewebeschichtdicke und verwandelter Nachweiskit. Die empfohlenen Protokolle und Anwendungsbedingungen finden Sie in den Gebrauchsanweisungen für den primären Antikörper und andere Hilfsreagenzien. Die Empfehlungen und Protokolle des Datenblatts basieren auf der ausschließlichen Verwendung von Biocare-Produkten. Letztendlich liegt es in der Verantwortung des Ermittlers, optimale Bedingungen zu bestimmen.
8. Dieses Produkt ist nicht für die Verwendung in der Durchflusszytometrie vorgesehen. Für die Durchflusszytometrie wurden keine Leistungsmerkmale ermittelt.
9. Gewebe von Personen, die mit dem Hepatitis-B-Virus infiziert sind und das Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAg) enthalten, können eine unspezifische Färbung mit Meerrettichperoxidase aufweisen.¹⁵
10. Reagenzien können unerwartete Reaktionen in zuvor nicht getesteten Geweben zeigen. Die Möglichkeit unerwarteter Reaktionen selbst in getesteten Gewebegruppen kann aufgrund der biologischen Variabilität

MACH 4™ Universal AP Polymer Kit

Micro-polymer detection
901-M4U536-080123

German

BIOCARE
M E D I C A L

der Antigenexpression in Neoplasmen oder anderen pathologischen Geweben nicht vollständig ausgeschlossen werden.¹⁶ Wenden Sie sich mit dokumentierten unerwarteten Reaktionen unter 1-800-542-2002 oder über die technischen Supportinformationen auf biocare.net an den technischen Support von Biocare.

11. Normale/Nicht-Immunseren aus derselben tierischen Quelle wie sekundäre Antiseren, die in Blockierungsschritten verwendet werden, können aufgrund von Autoantikörpern oder natürlichen Antikörpern falsch-negative oder falsch-positive Ergebnisse verursachen.
12. Falsch-positive Ergebnisse können aufgrund einer nicht-immunologischen Bindung von Proteinen oder Substratreaktionsprodukten auftreten. Sie können auch durch Pseudoperoxidase-Aktivität (Erythrozyten), endogene Peroxidase-Aktivität (Cytochrom C) oder endogenes Biotin (z. B. Leber, Brust, Gehirn, Niere) verursacht werden, je nach Art des verwendeten Immunfarbstoffs.¹⁴
13. Ein negatives Ergebnis bedeutet, dass das Antigen nicht nachgewiesen wurde, nicht, dass das Antigen in den untersuchten Zellen oder Geweben fehlte.

Produktspezifische Einschränkungen:

Keine zusätzlichen produktspezifischen Einschränkungen.

Leistungsmerkmale:

Die Färbung wurde unter Verwendung von Protokollen durchgeführt, die in den antikörperspezifischen Gebrauchsanweisungen oder wie angegeben angegeben sind. Sensitivität und Spezifität der Färbung wurden für eine Reihe von normalen und neoplastischen Gewebetypen bewertet, die während der Entwicklung von Primärantikörpern bewertet wurden.

Reproduzierbarkeit:

Die Reproduzierbarkeit der Nachweissysteme und Systemreagenzien von Biocare wird durch eine Messung der Zwischenpräzision verifiziert, bei der verschiedene Reagenzienchargen über einen längeren Zeitraum mit verschiedenen Bedienern, Analytikern, Reagenzienchargen, Gewebeproben und Geräten getestet wurden. Die für jedes bewertete Nachweisreagenz erhaltene Färbung war konsistent und verlief wie erwartet.

Fehlerbehebung:

1. Keine Färbung der Objektträger – Überprüfen Sie, ob geeignetes Positivkontrollengewebe, Antikörper und Nachweisprodukte verwendet wurden. Auf unvollständige oder unsachgemäße Wachsentfernung oder Vorbehandlung prüfen.
2. Schwache Färbung aller Objektträger – Überprüfen Sie, ob geeignetes Positivkontrollengewebe, Antikörper und Nachweisprodukte verwendet wurden.
3. Übermäßiger Hintergrund aller Objektträger – Es können hohe Konzentrationen an endogenem Biotin (bei Verwendung biotinbasierter Nachweisprodukte), endogene HRP-Aktivität, die Chromogen in farbiges Endprodukt umwandelt (Peroxidase-Blockierung verwenden), oder übermäßige unspezifische Proteininteraktion (Verwendung eines Proteins) vorliegen Blockierung wie Blockierungslösung auf Serum- oder Kaseinbasis).
4. Gewebeschritte werden während der Inkubation von den Objektträgern abgewaschen – Objektträger überprüfen, 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, sowie die richtigen Inkubationszeiten für alle Reagenzien. Stellen Sie außerdem sicher, dass das Protokoll genügend Waschschritte enthält, um überschüssige Reagenzien zu entfernen, nachdem die Inkubationsschritte abgeschlossen sind.

Referenzen:

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. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts.
7. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
8. 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.
9. 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.
10. 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
11. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
12. 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.
13. 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.
14. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
15. 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.
16. Herman GE and Elfond EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.