

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

English

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Intended Use:

For *in vitro* Diagnostic Use

The MACH 2 Mouse AP-Polymer is intended for use in either manual or automated Immunohistochemistry (IHC) staining protocols using an alkaline phosphatase (AP) polymer one-step application method. This micro-polymer detection kit is designed for the detection of mouse IgG primary antibodies bound to target antigens in the formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissues during the IHC staining process. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies and proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Summary and Explanation:

The MACH 2 Mouse AP-Polymer is designed using a one-step method for detecting mouse primary antibodies to form an antibody-enzyme complex. This complex is then visualized using an appropriate substrate/chromogen. In the one-step method a secondary antibody directly linked to the micro-polymer is applied.

Principle of Procedure:

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

Materials and Methods:

Reagents Provided:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 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 IgG heavy and light chains

Supplied As:

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}

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}

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123


English

BIOCARE
M E D I C A L

Warning and Precautions:

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

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. Polymer: Incubate for 30 minutes at RT with MACH 2 Mouse AP-Polymer.
7. Chromogen: Incubate for 5-7 minutes at RT with Warp Red.

8. 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. PBS wash buffers will inhibit alkaline phosphatase staining.
2. Blocking for endogenous peroxidase is not required; however, immersing slides in Peroxidized 1 bleaches tissues and red blood cells which produces better contrast for alkaline phosphatase staining procedures.

Quality Control:

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

Positive Tissue Control:

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

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

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

Negative Tissue Control:

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

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

Nonspecific Negative Reagent Control:

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

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

English

BIOCARE
M E D I C A L

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

Assay Verification:

Prior to initial use of an antibody or staining system in a diagnostic procedure, the user should verify the antibody's specificity by testing it on a series of in-house tissues with known immunohistochemical performance characteristics representing known positive and negative tissues. Refer to the quality control procedures previously outlined in this section of the product insert and to the quality control recommendations of the CAP Certification Program¹⁰ for Immunohistochemistry and/or the NCCLS IHC guideline¹¹. These quality control procedures should be repeated for each new antibody lot, or whenever there is a change in assay parameters. Tissues listed in the Performance Characteristics section are suitable for assay verification.

Troubleshooting:

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

Interpretation of Staining:

The MACH 2 Mouse AP-Polymer 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.¹²

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

Negative Tissue Control:

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

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

Patient Tissue:

Examine patient specimens stained with indicated antibody last. Positive staining intensity should be assessed within the context of any nonspecific background staining of the negative reagent control. As with any

immunohistochemical test, a negative result means that the antigen was not detected, not that the antigen was absent in the cells/tissue assayed. If necessary, use a panel of antibodies to identify false-negative reactions. Refer to Summary and Explanation, Limitations, and Performance Characteristics for specific information regarding indicated antibody immunoreactivity.

Limitations:

General Limitations:

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

Product Specific Limitations:

No additional product specific limitations.

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

English

BIOCARE
M E D I C A L

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

14. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Dutch

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Beoogd gebruik:

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik

De MACH 2 Mouse AP-Polymer is bedoeld voor gebruik in handmatige of geautomatiseerde immunohistochemie (IHC)-kleuringsprotocollen met behulp van een eenstaps-aanbrengmethode voor alkalische fosfatase (AP)-polymer. Deze micropolymer detectiekit is ontworpen voor de detectie van primaire IgG-antilichamen van de muis gebonden aan doelantigenen in de formaline-gefixeerde, in paraffine ingebedde (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 2 Mouse AP-Polymer is ontworpen met behulp van een eenstapsmethode voor het detecteren van primaire muisantilichamen 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 micropolymer aangebracht.

Principe van de procedure:

Deze micropolymerdetectiekit kan worden gebruikt bij immunohistochemische tests van met formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde weefselcouples. In het algemeen immunohistochemisch (IHC) kleuringstechnieken maken de visualisatie van antigenen mogelijk via de sequentiële toepassing van een specifiek antilichaam tegen het antigeen (primaire 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 antigeenplaats. 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 antigeen.

Materialen en methoden:

Geleverde reagentia:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 mL

Reconstitutie, mengen, verdunnen, titratie:

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

Bekende toepassingen:

Immunohistochemie (formaline-gefixeerde in paraffine ingebedde weefsels)

Species Reactiviteit:

Muis IgG zware en lichte ketens

Geleverd als:

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:

Microscopglaasjes, positief geladen
Positieve en negatieve weefselcontroles
Woestijnkamer* of vergelijkbaar
xyleenvervanger
Ethanol of
reagensalcohol Onthullingskamer* of vergelijkbaar snelkookpan (optioneel)
Gedeïoniseerd 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.

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 verdund. De stabiliteit van door de gebruiker verdund reagens is niet vastgesteld door Biocare.

Positieve en negatieve controles moeten gelijktijdig met alle patiëntspecimens 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.

Vorbereiding van het monster:

Weefsels gefixeerd in formaline zijn geschikt voor gebruik voorafgaand aan het inbedden in paraffine. Botweefsel moet voorafgaand aan

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Dutch

BIOCARE
M E D I C A L

weefselverwerking worden ontkalkt om het snijden van weefsel te vergemakkelijken en schade aan microtoombladen te voorkomen.^{1,2}

Correct gefixeerde en ingebedde weefsels die het gespecificeerde antigeendoel tot expressie brengen, moeten op een koele plaats worden bewaard. De Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) van 1988 vereist in 42 CFR §493.1259(b) dat "Het laboratorium gekleurde objectglasjes 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 inconsistente minimaliseert en kleuring standaardiseert.^{4,5}

Waarschuwing en voorzorgsmaatregelen:

1. 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 geclassificeerd is als irriterend en huidcontactsensibilisatie kan veroorzaken. Vermijd contact met ogen, huid en slijmvliezen.
2. 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.^{6,7}
3. 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.⁸
4. Microbiële verontreiniging van reagentia kan resulteren in een toename van niet-specifieke kleuring.
5. Andere incubatietijden of -temperaturen dan gespecificeerd kunnen foutieve resultaten opleveren. De gebruiker moet een dergelijke wijziging valideren.
6. Gebruik het reagens niet meer na de vervaldatum die op de flacon is gedrukt.
7. De reagens(s) van de micropolymeerdetectiekit(s) 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.
8. Volg de lokale en/of landelijke vereisten voor de verwijderingsmethode.
9. Het veiligheidsinformatieblad is op verzoek verkrijgbaar en is te vinden op <http://biocare.net>.
10. 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 micropolymeer detectiekit bevat componenten die zijn geclassificeerd 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. Deparaffinisatie: deparaffineer objectglasjes in Slide Brite of xyleen. Hydrateer dia's in een reeks gesorteerde alcoholen tot water.
2. Peroxideblok (optioneel): Blokkeer gedurende 5 minuten met Peroxidazed 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. Primaire antilichaam: Raadpleeg het respectievelijke gegevensblad over het primaire antilichaam voor de incubatietijd.
6. Polymeer: Incubeer gedurende 30 minuten bij RT met MACH 2 Mouse AP-Polymer.
7. Chromogeen: Incubeer gedurende 5-7 minuten bij RT met Warp Red.
8. Tegenkleuring: Tegenkleuring met hematoxyline. Spoel met gedemineraliseerd water. Breng Tacha's Blueing Solution aan gedurende 1 minuut. Spoel met gedemineraliseerd water.

Technische opmerkingen:

1. Gebruik TBS voor wasstappen. PBS-wasbuffers zullen alkalische fosfatasekleuring remmen.
2. Blokkering voor endogene peroxidase is niet vereist; het onderdompelen van objectglasjes in Peroxidazed 1 bleekt echter weefsels en rode bloedcellen, wat een beter contrast oplevert voor kleuringsprocedures met alkalische fosfatase.

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). 2011⁹

Positieve weefselcontrole:

externe positieve controlematerialen 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 geprepareerde weefsels en juiste kleurtechnieken. In elke kleuringrun moet één positieve externe weefselcontrole voor elke reeks testomstandigheden worden opgenomen.

De weefsels die voor de externe positieve controlematerialen worden gebruikt, moeten worden gekozen uit patiëntspecimens 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 subtiel veranderingen in de gevoeligheid van het primaire antilichaam door instabiliteit of problemen met de IHC-methodologie worden gedetecteerd. In de handel verkrijgbare objectglasjes voor weefselcontrole of monsters die op een andere manier

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Dutch

BIOCARE
M E D I C A L

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

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 patiëntmonsters. Als de positieve weefselcontroles geen positieve kleuring vertonen, moeten de resultaten met de testmonsters als ongeldig worden beschouwd.

Negatieve weefselcontrole:

gebruik bij elke kleuringrun 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 doelantigeen 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 patiëntspecimens als ongeldig worden beschouwd.

Gebruik een niet-specifieke negatieve reagenscontrole in plaats van het primaire antilichaam met een sectie van elk patiëntspecimen om niet-specifieke kleuring te evalueren en een betere interpretatie van specifieke kleuring op de antigeenplaats mogelijk te maken. Idealiter bevat een negatieve reagenscontrole een geproduceerd en bereid antilichaam (dwz verdund tot dezelfde concentratie met hetzelfde verdunningsmiddel) voor gebruik op dezelfde manier als het primaire antilichaam, maar vertoont geen specifieke reactiviteit met menselijke weefsels in dezelfde matrix/oplossing als de 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 negatief kleurende gebieden van één objectglaasje dienen als een negatieve/niet-specifieke bindende achtergrondcontrole voor andere antilichamen. Om endogene enzymactiviteit of niet-specifieke 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 productbijsluiters en de aanbevelingen voor kwaliteitscontrole van het CAP-certificeringsprogramma³⁰ voor immunohistochemie en/of de NCCLS IHC-richtlijn³¹. 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 2 Mouse AP-Polymer veroorzaakt een rode kleurreactie op de antigeenplaatsen 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-specifieke 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 substraatchromogenen. Raadpleeg de bijsluiters van de substraatverpakking voor de verwachte kleurreacties. Verder kan metachromasie worden waargenomen in variaties van de kleuringmethode.³²

Wanneer een tegenkleuring wordt gebruikt, zal de tegenkleuring, afhankelijk van de incubatietijd en de kracht van de gebruikte tegenkleuring, leiden tot een verkleuring van de celkernen. Overmatige of onvolledige tegenkleuring 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-specifieke kleuring, indien aanwezig, heeft meestal een diffuus uiterlijk. Sporadische kleuring van bindweefsel kan ook worden waargenomen in secties van overmatig met formaline gefixeerde weefsels. Gebruik intacte cellen voor interpretatie van kleuringresultaten. Necrotische of gedegenerende cellen kleuren vaak niet-specifiek.

geduldig weefsel:

Onderzoek patiëntspecimens gekleurd met aangegeven antilichaam laatst. Positieve kleuringintensiteit moet worden beoordeeld binnen de context van eventuele niet-specifieke 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:



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

7/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Dutch

BIOCARE
M E D I C A L

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 aan 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, bevroering, 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.¹³
5. Overmatige of onvolledige tegenkleuring kan de juiste interpretatie van de resultaten in gevaar brengen.
6. De klinische interpretatie van elke positieve of negatieve kleuring moet worden beoordeeld binnen de context van 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, warmterugwinningsmethode, incubatietijden, antilichaamverduunning, dikte van weefselcoupes en gebruikte detectiekits. Raadpleeg de gebruiksaanwijzing voor het primaire antilichaam en andere hulpreagens voor de aanbevolen protocollen en gebruiksvaardigheden. 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-specifieke kleuring vertonen met mierikswortelperoxidase.¹⁴
10. Reagentia kunnen onverwachte reacties vertonen in niet eerder geteste weefsels. De mogelijkheid van onverwachte reacties, zelfs in geteste weefselgroepen, kan niet volledig worden uitgesloten vanwege biologische variabiliteit van antigeenexpressie in neoplasmata of andere pathologische weefsels.¹⁵ Neem contact op met de technische ondersteuning van Biocare op 1-800-542-2002, of via de technische ondersteuningsinformatie op biocare.net, met gedocumenteerde onverwachte reactie(s).
11. Normale/niet-immune sera 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 (erythrocyten), endogene peroxidase-activiteit (cytochrom C) of endogene biotine (bijv. lever, borst, hersenen, nier), afhankelijk van het type immunokleuring dat wordt gebruikt.¹³
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 intermediaire 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) of overmatige niet-specifieke eiwitinteractie (gebruik een blokker, zoals een op serum of caseïne gebaseerde blokkeringsoplossing).
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 antilichaamtiter op het objectglaasje 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 17163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. *J Histotechnol*. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. *Biotech Histochem*. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition* CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

8/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Dutch

BIOCARE
M E D I C A L

10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

9/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Bulgarian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Употреба по предназначение:

За *in vitro* диагностична употреба

MACH 2 Mouse AP-Polymer е предназначен за използване в протоколи за ръчно или автоматизирано имунохистохимично (ИНС) оцветяване, като се използва едноетапен метод за нанасяне на полимер на алкална фосфатаза (AP). Този комплект за откриване на микрополимер е предназначен за откриване на миши IgG първични антитела, свързани с таргетни антигени във фиксирани във формалин, вградени в парафин (FFPE) тъкани по време на процеса на ИНС 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 2 Mouse AP-Polymer е проектиран с помощта на едноетапен метод за откриване на миши първични антитела за образуване на комплекс антитяло-ензим. След това този комплекс се визуализира с помощта на подходящ субстрат/хромоген. При едноетапния метод се прилага вторично антитяло, директно свързано с микрополимера.

Принцип на процедурата:

Този комплект за откриване на микрополимер може да се използва при имунохистохимични тестове на фиксирани във формалин, вградени в парафин тъканни срезове. Като цяло имунохистохимичните (ИНС) 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 свързано антитяло/сонда), ензимен комплекс и хромогенен субстрат с вмъкнати 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 покривно стъкло. Резултатите се интерпретират с помощта на светлинна микроскоп и помощ 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 Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 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 (фиксирана във формалин тъкани, вградени в парафин)

Видова реактивност:

Миши IgG тежки и леки вериги

Доставя се като:

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, но неосигурени материали и реагенти:

Микроскопски предметни стъкла, положително заредени Положителни и отрицателни тъканни контроли
Пустинна камера* или подобна Сушилна пещ (по избор)
Ксилен или заместител на ксилен
Етанол или реагентен алкохол
Камера за демаскиране* или подобна тенджерка 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* (противооцветяване)
*
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.

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 разреждания от потребителя реагент не е установена от Biocare.

Положителните и отрицателните контроли трябва да се провеждат едновременно с всички проби от пациенти. Ако се наблюдава неочаквано оцветяване, което не може да се обясни с вариации в лабораторните 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 проби:

Тъканите се фиксират във формалин са подходящи за използване преди парафиново вграждане. Костните тъкани трябва да бъдат декалцифицирани преди обработката на тъканите, за да се улесни

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Bulgarian

BIOCARE
M E D I C A L

разрязването на тъканите и да се предотврати повреда на остриетата на микротомата.^{1,2}

Правилно фиксирани 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 проби най-малко две години от датата на изследването.“³


Третиране на тъкани преди оцветяване:

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

Предупреждения и предпазни мерки:

- 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 сенсibiliзация при контакт с кожата. Избягвайте контакт с очите, кожата и лигавиците.
- Работете с материали от човешки или животински произход като потенциално биологично опасни и извървяйте такива материали с подходящи предпазни мерки. В случай на излагане, следвайте здравните директиви на отговорните органи, където се използва.^{6,7}
- Пробите преди и след фиксиране и всички материали, изложени на тях, трябва да се третират така, сякаш могат да пренесат инфекция, и да се извървят с подходящи предпазни мерки. Никога не пиптирайте реагенти с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реагенти и проби. Ако реактиви или проби влязат в контакт с чувствителни зони, измийте ги с обилно количество вода.⁸
- Микробното замърсяване на реагентите може да доведе до увеличаване на неспецифичното оцветяване.
- Инкубационни времена или температури, различни от посочените, могат да дадат грешни резултати. Потребителят трябва да потвърди всяка такава промяна.
- Не използвайте реагент след срока на годност, отпечатан върху флакона.
- Реагентът(ите) на комплекта за откриване на микрополимери са оптимизирани и готови за използване с антигела на Biocare и спомагателни реагенти. Обърнете се към инструкциите за първично антигело и други спомагателни реагенти за употреба за препоръчителните протоколи и условия за употреба.
- Следвайте изискванията на местните и/или държавните органи за метода на извървяне.
- ИЛБ е достъпен при поискване и се намира на <http://biocare.net>.
- Докладвайте за всички сериозни инциденти, свързани с това устройство, като се свържете с местния представител на Biocare и съответния компетентен орган на държавата членка или държавата, където се намира потребителят.

Този комплект за откриване на микрополимер съдържа компоненти, класифицирани както е посочено в таблицата по-долу в съответствие с Регламент (ЕО) № 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 антигела на Biocare и спомагателни реагенти. Обърнете се към инструкциите за първично антигело и други спомагателни реагенти за употреба за препоръчителните протоколи и условия за употреба. Времената и температурите на инкубация ще варират в зависимост от следвания специфичен протокол за антигела.

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 извървяне на IHC:

- Депарафинизация: Депарафинизирайте предметните стъкла в Slide Bite или ксилен. Хидратът се плъзга в серия градиращи 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 антигело 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 антигело: Моля, вижте съответния лист с данни за първично антигело за времето на инкубация.
- Полимер: Инкубирайте за 30 минути при RT с MACH 2 Mouse AP-Polymer.
- Хромоген: Инкубирайте за 5-7 минути при RT с Warp Red.
- Контраоцветяване: Контраоцветяване с хематоксилин. Изплакнете с дейонизирана вода. Нанесете Tacha's Bluing Solution за 1 минута. Изплакнете с дейонизирана вода.

Технически бележки:

- Използвайте TBS за стъпките на измиване. PBS промивните буфери ще инхибират оцветяването с алкална фосфатаза.
- Не е необходимо блокиране на ендогенната пероксидаза; обаче, потапянето на предметни стъкла в Peroxidized 1 избелва тъканите и червените кръвни клетки, което създава по-добър контраст за процедурите за оцветяване с алкална фосфатаза.

Контрол на качеството:

Обърнете се към стандартите за качество на CLSI за проектиране и прилагане на имунохистохимични анализи; Одобрено ръководство-второ издание (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA CAЦ (www.clsi.org). 2011⁹

Положителна тъканна контрола:

Материалите за външна положителна контрола трябва да бъдат пресни проби, фиксирани, обработени и вградени възможно най-скоро по същия начин, както пробата(ите) на пациента. Положителните тъканни контроли са показателни за правилно подготвени 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 проби 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 антигело от нестабилност или проблеми с IHC методологията. Предлаганите в търговската мрежа предметни стъкла за контрол на тъкани или проби,

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Bulgarian

BIOCARE
M E D I C A L

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 помощ при формулиране на конкретна диагноза на проби от пациенти. Ако положителните тъканни контроли не успеят да покажат положително оцветяване, резултатите с тестовите проби 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 ИНС първичното анти тяло 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 ИНС спецификации. Типовете и източниците на проби, 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 анти тяло с разрез от всяка проба от пациент, за да оцените неспецифичното оцветяване и да позволите по-добро тълкуване на специфичното оцветяване на мястото на антигена. В идеалния случай отрицателната реагентна контрола съдържа произведено и приготвено анти тяло (т.е. разрежено до същата концентрация с помощта на същия разреждател) за използване по същия начин като първичното анти тяло, но не проявява специфична реактивност с човешки тъкани в същата матрица/разтвор като Biocare анти тяло. Само разреждател може да се използва като по-малко желана алтернатива на описаните по-горе отрицателни реактивни контроли. Инкубационният период за отрицателната реактивна контрола трябва да съответства на този на първичното анти тяло.

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

Проверка на анализа:

Преди първоначалното използване на анти тяло или система за оцветяване в диагностична процедура, потребителят трябва да провери специфичността на анти тялото, като го тества върху серия от вътрешни тъкани с известни имунохистохимични 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 CAP® за имунохистохимия и/или насоките за ИНС на NCCLS¹. Тези процедури за контрол на качеството трябва да се повтарят за всяка нова партида анти тяло 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 анти тела съгласно предоставения лист с данни. Ако възникнат нетипични резултати, свържете се с техническата поддръжка на Biocare на 1-800-542-2002.

Тълкуване на оцветяването:

Мишият AP-полимер MACH 2 произвежда червена цветна реакция в антигенните места, локализиращи от първичното анти тяло. 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 анти тяло, трябва първо да се изследва, за да се установи, че всички реагенти функционират правилно. Подходящото оцветяване на прицелните клетки (както е посочено по-горе) е показателно за положителна реактивност. Ако положителните тъканни контроли не успеят да покажат положително оцветяване, всички резултати с тестовите проби трябва да се считат за невалидни.

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

Отрицателна тъканна контрола:

Отрицателната тъканна контрола трябва да се изследва след положителната тъканна контрола, за да се провери специфичността на маркирането на целевия антиген от първичното анти тяло. Липсата на специфично оцветяване в отрицателната тъканна контрола потвърждава липсата на кръстосана реактивност на анти тела към клетъчни/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 фиксирани с формалин тъкани. Използвайте непокътнати клетки за тълкуване на резултатите от оцветяването. Некротичните или дегенерирани клетки често се оцветяват неспецифично.

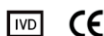
Тъкан на пациента:

Изследвайте проби от пациенти, оцветени с посоченото анти тяло 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 антигенът не е открит, а не че антигенът липсва в изследваните клетки/тъкан. Ако е необходимо, използвайте панел от анти тела за идентифициране на фалшиво-отрицателни реакции.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

12/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Bulgarian

BIOCARE
M E D I C A L

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

Ограничения:

Общи ограничения:

1. за *in vitro* диагностика (IVD)
2. 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.
3. За употреба само по лекарско предписание. (Само Rx)
4. 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 антигенов или фалшиво отрицателни резултати. Непоследователните резултати може да се дължат на вариации в методите за фиксиране и вграждане или на присъщи нередности в тъканта.¹³
5. Прекомерното или непълно контраоцветяване може да компрометира правилната интерпретация на резултатите.
6. 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 антигенов, реагенти и методи, е да интерпретира всички стъпки, използвани за подготовка и тълкуване на крайния IHC препарат.
7. Оптималните протоколи за конкретно приложение могат да варират. Те включват, но не се ограничават до фиксация, метод за измиване на топлина, времена на инкубация, разреждане на антигенов, дебелина на тъканния участък и използван комплект за откриване. Обърнете се към инструкциите за първично антигенов и други спомагателни реагенти за употреба за препоръчителните протоколи и условия за употреба. Препоръките и протоколите в информационния лист се основават на изключителното използване на продуктите Biocare. В крайна сметка отговорност на изследователя е да определи оптималните условия.
8. Този продукт не е предназначен за използване в поточна цитометрия. Характеристиките на ефективността не са определени за поточна цитометрия.
9. Тъкани от хора, заразени с вируса на хепатит В и съдържащи повърхностен антиген на хепатит В (HBsAg), могат да проявят неспецифично оцветяване с пероксидаза от хрян.¹⁴
10. Реагентите могат да покажат неочаквани реакции в нетествани преди това тъкани. Възможността за неочаквани реакции дори в тествани тъканни групи не може да бъде напълно елиминирана поради биологичната вариабилност на експресията на антиген в неоплазми или други патологични тъкани.¹⁵ Свържете се с техническата поддръжка на Biocare на 1-800-542-2002 или чрез информацията за техническа поддръжка, предоставена на biocare.net, с документираните неочаквани реакции.
11. 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 автоантигенов или естествени антигенов.
12. 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 С) или ендогенен биотин (напр. черен дроб, гърди, мозък, бъбрек) в зависимост от вида на използваното имунооцветяване.¹³

13. Отрицателен резултат означава, че антигенът не е открит, а не че антигенът 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 антигенов 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 антигенов.

Възпроизводимост:

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

Отстраняване на неизправности:

1. Няма оцветяване на предметни стъкла – Проверете, за да определите дали са използвани подходяща тъкан за положителна контрола, антигенов 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, антигенов и продукти за откриване.
3. Прекомерен фон на всички слайдове – 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 излишно 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 антигенов, както и правилните времена на инкубация за всички реагенти. Освен това се уверете, че протоколът има достатъчно стъпки на промиване, за да се отстранят излишните реагенти след приключване на стъпките на инкубация.

Литература:

1. Kiernan JA. Хистологични и хистохимични методи: теория и практика. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC и Hrapchak BB. Теория и практика на хистотехнологията. Сейнт Луис: CV Mosby Co. 1980 г.
3. Поправки за подобряване на клиничната лаборатория от 1988 г.: окончателно правило, 57 FR 7163, 28 февруари 1992 г.
4. Shi SR, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 септември;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 януари;71(5):263-70.

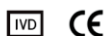


60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

13/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Bulgarian

BIOCARE
M E D I C A L

6. Стандарти за безопасност и здраве при работа: професионална експозиция на опасни химикали в лаборатории. (29 CFR част 1910.1450). Fed. Регистрирам.
7. Директива 2000/54/ЕО на Европейския парламент и на Съвета от 18 септември 2000 г. относно защитата на работниците от рискове, свързани с експозиция на биологични агенти по време на работа.
8. Институт за клинични и лабораторни стандарти (CLSI). Защита на лаборантите от професионални инфекции; Одобрена насока – Четвърто издание на документ на CLSI M29-A4 Wayne, PA 2014 г.
9. Стандарти за качество на CLSI за проектиране и прилагане на имунохистохимични анализи; Одобрено ръководство-второ издание (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA САЩ (www.clsi.org). 2011
10. Програма за сертифициране на колежа на американските патолози (CAP) за имунохистохимия. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Осигуряване на качеството на имуноцитохимията; Предложена насока. MM4-P. Национален комитет за клинични лабораторни стандарти (NCCLS). Уейн, Пенсилвания. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I и Moller P. Метахромазия на 3-амино-9-етилкарбазол (АЕС) и нейното предотвратяване в имунопероксидазни техники. Хистохимия 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Имунопероксидаза, част I: техниките и нейните капани. Lab Med 1983; 14:767.
14. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Неимунологично свързване на пероксидаза от хрян с повърхностен антиген на хепатит В: възможен източник на грешка в имунохистохимията. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
15. Nerman GE и Elfont EA. Укротяването на имунохистохимията: новата ера на качеството контрол. Biotech & Histochem 1991; 66:194.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

14/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Croatian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Namjena:

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu

MACH 2 mišji AP-polimer namijenjen je za upotrebu u protokolima ručnog ili automatiziranog imunohistokemijskog (IHC) bojenja koristeći metodu primjene polimera alkalne fosfataze (AP) u jednom koraku. Ovaj komplet za detekciju mikropolimera dizajniran je za detekciju primarnih protutijela mišjih IgG vezanih na ciljane antigene u tkivima fiksiranim u formalinu, umetnutim u parafin (FFPE) tijekom procesa IHC bojenja. Kliničko tumačenje bilo kakvog bojenja ili njegovog izostanka trebalo bi nadopuniti morfološkim studijama i odgovarajućim kontrolama te bi ga kvalificirani patolog trebao procijeniti u kontekstu pacijentove kliničke povijesti i drugih dijagnostičkih testova.

Sažetak i objašnjenje:

MACH 2 mišji AP-polimer dizajniran je pomoću metode u jednom koraku za otkrivanje mišjih primarnih antitijela kako bi se formirao kompleks antitijelo-enzim. Ovaj kompleks se zatim vizualizira pomoću odgovarajućeg supstrata/kromogena. U metodi u jednom koraku primjenjuje se sekundarno protutijelo izravno povezano s mikropolimerom.

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 suprotno i prekriti stakalcem. Rezultati se tumače pomoću svjetla mikroskop i pomoć u diferencijalnoj dijagnozi patofizioloških procesa, koji mogu ili ne moraju biti povezani s određenim antigenom.

Materijali i metode:

reagensi:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 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 fiksirana u formalinu u parafinu)

Reaktivnost vrste:

mišji IgG teški i laki lanci

Isporučuje se kao:

Puferirana slana 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 Pečnica za sušenje (po izboru)
Ksilen 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* (izborno)
Enzimski probava* (izborno)
Blok peroksidaze* (izborno)
Blok proteina* (izborno)
Primarno antitijelo*
Reagensi negativne kontrole*
Kromogeni*
Hematoksin* (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:

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

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

Priprema uzorka:

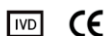
Tkiva fiksirana u formalinu prikladni su za upotrebu prije ugradnje parafina. Koštana tkiva treba dekalificirati prije obrade tkiva kako bi se olakšalo rezanje tkiva i spriječilo oštećenje oštrica mikrotoma.^{1,2}

Ispravno fiksirana i ugrađena tkiva koja ekspiriraju 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 ispitivanje i čuvati blokove uzoraka najmanje dvije godine od datuma ispitivanja.”³



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

15/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Croatian

BIOCARE
M E D I C A L


Obrada tkiva prije bojenja:

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

Upozorenje i mjere opreza:

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

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 variraju 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 (izborna): Blokiranje 5 minuta s Peroxidazed 1.
3. Otopina/protokol predtretmana: Pogledajte odgovarajući list s podacima o primarnim antitijelima za preporučenu otopinu i protokol predtretmana.

4. Proteinski blok (izborna): 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. Polimer: Inkubirajte 30 minuta na sobnoj temperaturi s MACH 2 mišjim AP-polimerom.
7. Kromogen: Inkubirajte 5-7 minuta na sobnoj temperaturi s Warp Red.
8. Kontrabojenje: Kontrabojenje hematoksilinom. Isprati deioniziranom vodom. Nanesite Tachinu Bluing otopinu na 1 minutu. Isprati deioniziranom vodom.

Tehničke napomene:

1. Koristite TBS za korake pranja. PBS puferi za ispiranje će inhibirati bojenje alkalnom fosfatizacijom.
2. Blokiranje endogene peroksidaze nije potrebno; međutim, uranjanje stakalca u Peroxidazed 1 izbjeljuje tkiva i crvene krvne stanice što proizvodi bolji kontrast za postupke bojenja alkalnom fosfatizacijom.

Kontrola kvalitete:

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

Pozitivna kontrola tkiva:

Materijali za vanjsku pozitivnu kontrolu trebaju biti 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.

Tkiva koja se koriste za materijale za vanjsku pozitivnu kontrolu trebaju se odabrati iz uzoraka pacijenata s dobro karakteriziranim niskim razinama pozitivne ciljane 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 uzoraka pacijenata. Ako pozitivne kontrole tkiva ne pokažu pozitivno bojenje, rezultate testnih uzoraka treba smatrati nevažecima.

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 demonstraciju ciljnog antigena i davanje indikacije specifičnog pozadinskog bojenja (lažno pozitivno bojenje). Također, raznolikost različitih tipova stanica prisutnih u većini dijelova tkiva može koristiti ih laboratorij kao mjesta interne negativne kontrole za provjeru rada IHC-a tehnički podaci. Vrste i izvori uzoraka koji se mogu koristiti za negativno tkivo kontrole su navedene u odjeljku Karakteristike izvedbe.

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

Nespecifična negativna kontrola reagensa:

Upotrijebite nespecifičnu negativnu kontrolu reagensa umjesto primarnog antitijela s dijelom svakog pacijentovog uzorka kako biste procijenili nespecifično bojenje i



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

16/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Croatian

BIOCARE
M E D I C A L

omogućili bolje tumačenje specifičnog bojenja na mjestu antigena. Idealno, negativna kontrola reagensa sadrži proizvedeno i pripremljeno protutijelo (tj. razrijeđeno na istu koncentraciju pomoću istog razrijeđivača) za upotrebu na isti način kao primarno protutijelo, ali ne pokazuje specifičnu reaktivnost s ljudskim tkivima u istoj matrici/otopini kao i Biocare antitijela. Sam razrijeđivač 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/nеспецифична pozadinska kontrola za druga protutijela. Kako bi se razlikovala endogena aktivnost enzima ili nespecifično vezanje enzima od specifične imunoreaktivnosti, dodatna tkiva bolesnika mogu se obojiti isključivo supstrat-kromogenom ili enzimskim kompleksima (PAP, avidin-biotin, streptavidin) odnosno supstrat-kromogenom.

Provjera 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 koji su prethodno navedeni u ovom odjeljku uputa za proizvod i preporuke za kontrolu kvalitete Programa certifikacije CAP[®] za imunohistokemiju i/ili NCCLS IHC smjernice¹¹. Ove postupke kontrole kvalitete treba ponoviti za svaku novu seriju antitijela ili kad god dođe do promjene parametara testa. Tkiva navedena u odjeljku Karakteristike izvedbe prikladna su za provjeru analize.

Rješavanje problema:

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

Tumačenje bojenja:

MACH 2 mišji AP-polimer proizvodi reakciju crvene boje na mjestima antigena 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 funkcioniraju. 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 nevažecima.

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

Negativna kontrola tkiva:

Negativnu kontrolu tkiva treba ispitati nakon pozitivne kontrole tkiva kako bi se potvrdila specifičnost označavanja ciljnih antigena 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 nevažecima.

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 intaktne stanice za tumačenje rezultata bojenja. Nekrotične ili degenerirane stanice često se boje nespecifično.

Tkivo pacijenta:

Pogledajte uzorke 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 otkriven, 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 indiciranom imunoreaktivnošću protutijela.

Ograničenja:

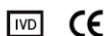
Opća ograničenja:

1. Za *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.
3. Za korištenje samo prema liječničkom receptu. (Samo Rx)
4. Bojanje tkiva ovisi o rukovanju i obradi tkiva prije bojenja. Neodgovarajuće fiksiranje, zamrzavanje, odmrzavanje, pranje, sušenje, zagrijavanje, rezanje ili kontaminacija drugim tkivima ili tekućinama može proizvesti artefakte, hvatanje antitijela ili lažno negativne rezultate. Nedosljedni rezultati mogu biti posljedica varijacija u metodama fiksacije i ugradnje ili inherentnih nepravilnosti unutar tkiva.¹³
5. Pretjerano ili nepotpuno kontrastno bojenje može ugroziti pravilno tumačenje rezultata.
6. Kliničku interpretaciju bilo kojeg pozitivnog ili negativnog bojenja treba procijeniti u kontekstu kliničke slike, morfologije i drugih histopatoloških kriterija. Kliničku interpretaciju bilo kojeg pozitivnog ili negativnog bojenja treba nadopuniti morfološkim studijama uz korištenje odgovarajućih pozitivnih i negativnih unutarnjih i vanjskih kontrola, kao i drugih dijagnostičkih testova. Odgovornost je kvalificiranog patologa koji je upoznat s pravilnom upotrebom IHC protutijela, reagensa i metoda za tumačenje svih koraka korištenih za pripremu i tumačenje konačnog IHC pripravka.
7. Optimalni protokoli za određenu aplikaciju mogu varirati. To uključuje, ali nije ograničeno na fiksaciju, metodu povrata topline, vrijeme inkubacije, razrjeđivanje antitijela, 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 upotrebi 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.¹⁴
10. Reagensi mogu pokazati neočekivane reakcije u prethodno netestiranim tkivima. Mogućnost neočekivanih reakcija čak ni u ispitivanim skupinama tkiva ne može se u potpunosti eliminirati zbog biološke varijabilnosti ekspresije antigena u novotvorinama, odnosno drugim patološkim tkivima.¹⁵ Obratite se Biocare tehničkoj podršci na 1-800-542-2002 ili putem informacija o tehničkoj podršci na biocare.net, s dokumentiranom neočekivanom reakcijom(ama).
11. Normalni/neimunni serumi iz istog životinjskog izvora kao i sekundarni antiserumi korišteni u koracima blokiranja mogu izazvati lažno



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

17/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Croatian

BIOCARE
M E D I C A L

negativne ili lažno pozitivne rezultate zbog autoantitijela ili prirodnih antitijela.

- 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, mozak, bubreg) ovisno o vrsti korištenog imunološkog bojenja.¹³
- Negativan rezultat znači da antigen nije otkriven, 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 mjerenjem 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:

- 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.
- Slabo bojenje svih stakalca – Provjerite jesu li korištena odgovarajuća pozitivna kontrola tkiva, antitijela i proizvoda za otkrivanje.
- Prevelika pozadina svih stakalca – Mogu postojati visoke razine endogenog biotina (ako se koriste proizvodi za detekciju na bazi biotina), endogena HRP aktivnost koja pretvara kromogen u obojeni krajnji proizvod (koristite blok peroksidaze) ili prekomjerna nespecifična interakcija proteina (koristite protein blok, kao što je otopina za blokiranje na bazi seruma ili kazeina).
- Dijelovi tkiva ispiru se sa stakalca tijekom inkubacije – Provjerite stakalca kako biste bili sigurni da su pozitivno nabijena.
- 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:

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

- 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.
- 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
- College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
- 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.
- Koretz 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.
- Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
- Omata M, Liew CT, Ashcavi 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.
- 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

18/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Czech

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Zamýšlené použití:

Pro *in vitro* diagnostické použití

MACH 2 Mouse AP-Polymer je určen pro použití v manuálních nebo automatických imunohistochemických (IHC) protokolech barvení pomocí jednorázové aplikační metody polymeru alkalické fosfatázy (AP). Tato mikropolymerová detekční souprava je navržena pro detekci myších primárních protilátek IgG navázaných na cílové antigeny ve formalínem fixovaných tkáních zalitých v parafínu (FFPE) během procesu barvení IHC. Klinická interpretace jakéhokoli zbarvení nebo jeho nepřítomnosti by měla být doplněna morfologickými studii a řádnými kontrolami a měla by být vyhodnocena v kontextu pacientovy klinické anamnézy a dalších diagnostických testů kvalifikovaným patologem.

Shrnutí a vysvětlení:

MACH 2 Mouse AP-Polymer je navržen pomocí jednorázové metody pro detekci myších primárních protilátek za vzniku komplexu protilátka-enzym. Tento komplex je poté vizualizován pomocí vhodného substrátu/chromogenu. V jednorázové metodě se aplikuje sekundární protilátka přímo spojená s mikropolymerem.

Princip postupu:

Tuto mikropolymerní detekční soupravu lze použít při imunohistochemickém testování tkáňových řezů fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu. Obecně platí, že imunohistochemické (IHC) techniky barvení umožňují vizualizaci antigenů prostřednictvím sekvenční aplikace a specifická protilátka k antigenu (primární protilátka), sekundární protilátka k primární protilátce (volitelná vazba protilátka/sonda), enzymový komplex a chromogenní substrát s vloženými promývacími kroky. Enzymatická aktivace chromogenu vede k viditelnému reakčnímu produktu v místě antigenu. Vzorek pak může být kontrastně obarven a zakryt krycím sklíčkem. 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 Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 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.

Znamé aplikace:

Imunohistochemie (tkáňě zalité v parafínu fixované ve formalínu)

Druhá reaktivita:

Myši těžké a lehké řetězce IgG

Dodáváno jako:

Pufrovaný 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 nabitá
Pozitivní a negativní tkáňové kontroly
Pouštní komora* nebo podobná Sušící pec (volitelná)
Náhrada xylenu nebo xylenu
Etanol nebo alkohol s reagensii
Decloaking Chamber* nebo podobný tlakový hrnc (volitelně)
Deionizovaná nebo destilovaná voda
Promývací pufr*
Činidla pro předúpravu* (volitelně)
Enzymové štěpení* (volitelně)
Peroxidázový blok* (volitelně)
Proteinový blok* (volitelně)
Primární protilátka*
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 použitím detekčním systémem.

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 uživatelem nařazeného činidla nebyla společností Biocare stanovena.

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

Příprava vzorku:

Tkáňě fixované ve formalínu jsou vhodné pro použití před zalitím parafínem. Kostní tkáň by měla být před zpracováním tkáňě odvápněna, aby se usnadnilo řezání tkáňě a zabránilo se poškození čepelí mikrotomu.^{1,2}

Správně fixované a zapuštěné tkáňě exprimující specifický 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

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Czech

BIOCARE
M E D I C A L


Ošetření tkání před barvením:

Proveďte teplem indukované vyhledávání epitopu (HIER) podle doporučeného protokolu níže. Ukázalo se, že rutinní použití HIER před IHC minimalizuje nekonzistenci a standardizuje barvení.⁴⁵

Varování a bezpečnostní opatření:

- 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, kůží a sliznicemi.
- Zacházejte s materiály lidského nebo zvířecího původu jako s potenciálně biologicky nebezpečnými a likvidujte je s náležitými opatřeními. V případě expozice se řiďte zdravotními směrnicemi odpovědných úřadů, kde byly použity.^{6,7}
- Se vzorky před a po fixaci a se všemi materiály, které jsou jim vystaveny, by se mělo zacházet jako s těmi, které mohou přenášet infekci, a měly by se likvidovat podle náležitých opatření. Nikdy nepipetujte reagentie ústy a vyhněte se kontaktu kůže a sliznic s reagentiemi a vzorky. Pokud se činidla nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody.⁸
- Mikrobiální kontaminace reagentií může vést ke zvýšení nespecifického zbarvení.
- Jiné než specifikované doby inkubace nebo teploty mohou vést k chybným výsledkům. Uživatel musí každou takovou změnu potvrdit.
- Nepoužívejte činidlo po uplynutí doby použitelnosti vytištěné na lahvičce.
- Činidla mikropolymerové detekční soupravy jsou optimalizována a připravena k použití s protilátkami Biocare a pomocnými činidly. Doporučené protokoly a podmínky použití naleznete v pokynech k použití primární protilátky a dalších pomocných činidel.
- 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 členského 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:

Reagentie mikropolymerové detekční soupravy jsou optimalizovány a připraveny k použití s protilátkami Biocare a pomocnými reagentiemi. Doporučené protokoly a podmínky použití naleznete v pokynech k použití primární protilátky a dalších pomocných činidel. Inkubační doby a teploty se budou lišit v závislosti na specifickém protokolu protilátek. Při použití automatického barvicího 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 (volitelné): Blokuje 5 minut pomocí Peroxidazed 1.
- Roztok/protokol pro předběžnou úpravu: Doporučený roztok a protokol pro předúpravu naleznete v příslušném datovém listu primární protilátky.

- Proteinový blok (volitelné): Inkubujte po dobu 5-10 minut při pokojové teplotě (RT) pomocí Background Punisher.
- Primární protilátka: Inkubační dobu naleznete v příslušném datovém listu primární protilátky.
- Polymer: Inkubujte 30 minut při teplotě místnosti s MACH 2 Mouse AP-Polymer.
- Chromogen: Inkubujte 5-7 minut při teplotě místnosti s Warp Red.
- Kontrabarva: Kontrabarva hematoxylinem. Opláchněte deionizovanou vodou. Aplikujte Tacha's Blueing Solution na 1 minutu. Opláchněte deionizovanou vodou.

Technické poznámky:

- Pro promývací kroky použijte TBS. Promývací pufrы PBS budou inhibovat barvení alkalickou fosfatázou.
- Blokování endogenní peroxidázy není vyžadováno; avšak ponoření sklíček do Peroxidazed 1 bělí tkáň a červené krvinky, což vytváří lepší kontrast pro postupy barvení alkalickou fosfatázou.

Kontrola kvality:

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

Pozitivní tkáňová kontrola:

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

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

Znamé 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 specifitu primární protilátky IHC pro prokázání cílového antigenu a poskytnutí indikace specifického barvení pozadí (falešně pozitivní barvení). Také může být rozmanitost různých typů buněk přítomných ve většině tkáňových řezů být používány laboratoří jako interní negativní kontrolní místa k ověření výkonu IHC Specifikace. Typy a zdroje vzorků, které lze použít pro negativní tkáň ovládací prvky jsou uvedeny v části Výkonové charakteristiky.

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

Nespecifická negativní reagenční kontrola:

Použijte nespecifickou negativní reagenční kontrolu místo primární protilátky s řezem každého vzorku pacienta, abyste vyhodnotili nespecifické zbarvení a

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Czech

BIOCARE
M E D I C A L

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

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

Ověření testu:

Před prvním použitím protilátky nebo barvicího 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 CAP[®] pro imunohistochemii a/nebo směrnice NCCLS IHC¹. Tyto postupy kontroly kvality by se měly opakovat pro každou novou šarži protilátek nebo kdykoli dojde ke změně parametrů testu. Tkáně uvedené v části Výkonnostní 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:

MACH 2 Mouse AP-Polymer vytváří červenou barevnou reakci na místech antigenu lokalizovaných primární protilátkou. Před interpretací výsledků pacienta musí barvení kontrol vyhodnotit kvalifikovaný patolog. Negativní kontroly se vyhodnotí a porovnájí s obarvenými sklíčky, aby se zajistilo, že jakékoli pozorované zbarvení není výsledkem nespecifických interakcí.

Pozitivní tkáňová kontrola:

Pozitivní tkáňová kontrola obarvená indikovanou protilátkou by měla být nejprve vyšetřena, aby se zjistilo, že všechna činidla 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 naleznete v příbalových informacích substrátu. Dále může být ve variantách způsobu barvení pozorována metachromázie.¹²

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

Negativní tkáňová kontrola:

Negativní tkáňová kontrola by měla být vyšetřena po pozitivní tkáňové kontrole, aby se ověřila specifita značení cílového antigenu primární protilátkou. Absence specifického barvení v negativní tkáňové kontrole potvrzuje nedostatek zkřížené reaktivity protilátek s buňkami/buněčnými

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

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

Pacientská tkáň:

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

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

Omezení:

Obecná omezení:

1. Pro *in vitro* (IVD)
2. Tento produkt je určen pouze pro profesionální použití: Imunohistochemie je víceokrový diagnostický proces, který se skládá 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 falešně negativní výsledky. Nekonzistentní výsledky mohou být způsobeny odchylkami v metodách fixace a zalévání nebo přirozenými nepravidelnostmi v tkáni.¹³
5. Nadměrné nebo neúplné kontrastní barvení může ohrozit správnou interpretaci výsledků.
6. Klinická interpretace jakéhokoli pozitivního nebo negativního zbarvení by měla být vyhodnocena v kontextu klinické prezentace, morfologie a dalších histopatologických kritérií. Klinická interpretace jakéhokoli pozitivního nebo negativního zbarvení by měla být doplněna morfologickými studii 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 konkrétní 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 naleznete 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 křenuvou peroxidázou.¹⁴
10. Reagencie mohou vykazovat neočekávané reakce v dříve netestovaných tkáních. Možnost neočekávaných reakcí i u testovaných



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

21/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Czech

BIOCARE
M E D I C A L

- skupin tkání nelze zcela eliminovat z důvodu biologické variability exprese antigenu v novotvarech nebo jiných patologických tkáních.¹⁵ Kontaktujte technickou podporu společnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002 nebo prostřednictvím informací o technické podpoře na biocare.net se zdokumentovanými neočekávanými reakcemi.
11. Normální/neimunizní 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.¹³
 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 specifita barvení byla hodnocena v celé řadě normálních a neoplastických typů tkání hodnocených během vývoje primárních protilátek.

Reprodukovatelnost:

Reprodukovatelnost detekčních systémů a systémových reagentů Biocare je ověřena měřeními střední přesnosti, při kterém byly různé šarže reagentů testovány po delší dobu pomocí různých operátorů, analytiků, šarží reagentů, vzorků tkání a vybavení. Barvení získané pro každé hodnocené detekční činidlo bylo konzistentní a provedlo se podle očekávání.

Odstraňování problémů:

1. Žádné zbarvení sklíček – Zkontrolujte, zda byla použita vhodná tkáň pro pozitivní kontrolu, protilátka a detekční produkty. Zkontrolujte neúplné nebo nesprávné odstranění vosku nebo předúpravu.
2. Slabé zbarvení 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 nabitá.
5. Specifické barvení je příliš tmavé – Zkontrolujte protokol, abyste zjistili, zda byl na podložní sklíčko aplikován správný titr protilátek, a také správné inkubační doby pro všechna činidla. Dále zajistěte, aby protokol obsahoval dostatek promývacích kroků k odstranění přebytečných činidel po dokončení inkubačních kroků.

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



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

22/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Danish

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Tiltænkt brug:

Til *in vitro* diagnostisk brug

MACH 2 Mouse AP-Polymer er beregnet til brug i enten manuel eller automatiseret immunhistokemi (IHC) farvningsprotokoller ved brug af en alkalisk fosfatase (AP) polymer et-trins påføringsmetode. Dette mikropolymerdetektionskit er designet til påvisning af primære muse-IgG-antistoffer bundet til målantigener i det formalinfixerede, paraffinindlejrede (FFPE) væv under IHC-farvningsprocessen. Den kliniske fortolkning af enhver farvning eller dens fravær 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 2 Mouse AP-Polymeren er designet ved hjælp af en et-trins metode til påvisning af primære museantistoffer for at danne et antistof-enzymkompleks. Dette kompleks visualiseres derefter under anvendelse af et passende substrat/kromogen. I et-trinsmetoden påføres et sekundært antistof direkte forbundet med mikropolymeren.

Procedureprincip:

Dette mikropolymerdetektionskit kan bruges til immunhistokemisk testning af formalinfixerede, 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 kromogent substrat med indskudte vasketrin. Den enzymatiske aktivering af kromogenet resulterer i et synligt reaktionsprodukt på antigenstedet. Prøven kan derefter modfarves og dækglas. Resultater fortolkes ved hjælp af et lys mikroskop og hjælp til differentialdiagnose af patofysiologiske processer, som evt er muligvis ikke forbundet med et bestemt antigen.

Materialer og metoder:

Medfølgende reagenser:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 mL


rekonstitution, blanding, fortynding, titrering:

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

Kendte anvendelser:

Immunhistokemi (formalinfixeret paraffin-indlejret væv)

Artsreaktivitet:

 Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

23/102



TP v2 (02/09/2023)

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

 EMERGO EUROPE

Westervoortsewijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

Muse IgG tunge og lette kæder

Leveres som:

Bufret saltvandsopløsning, 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 hætteglasetiketten, når det opbevares under disse forhold. Må ikke bruges efter udløbsdatoen. Opbevaring under alle andre forhold end de specificerede skal verificeres. Kit-reagenserne er klar til brug og bør ikke fortyndes. Stabiliteten af brugerfortyndet reagens er ikke blevet fastslået af Biocare.

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

Prøveforberedelse:

Væv fikseret i formalin er velegnet 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 specificerede antigenmål, skal opbevares på et køligt 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

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Danish

BIOCARE
M E D I C A L


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:

1. 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.
2. 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.^{6,7}
3. 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. Pipetter aldrig reagenser gennem munden, og undgå at komme i kontakt med hud og slimhinder med reagenser og prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal du vaske med rigelige mængder vand.⁸
4. Mikrobiel kontaminering af reagenser kan resultere i en stigning i uspecifik farvning.
5. Andre inkubationstider eller temperaturer end de angivne kan give fejlagtige resultater. Brugeren skal validere enhver sådan ændring.
6. Brug ikke reagens efter den udløbsdato, der er trykt på hætteglasset.
7. Mikropolymerdetektionsreagenserne er optimeret og klar til brug med Biocare-antistoffer og hjælpereagenser. Se instruktionerne til det primære antistof og andre hjælpereagenser til brug for anbefalede protokoller og betingelser for brug.
8. Følg lokale og/eller statslige myndigheders krav til bortskaftelsesmetode.
9. SDS er tilgængeligt efter anmodning og findes på <http://biocare.net>.
10. Rapportér 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 befinder 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 virkninger.

Brugsanvisning:

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

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

Generelle proceduretrin for udførelse af IHC:

1. Afparaffinering: Afparaffiner objektglas i Slide Brite eller xylene. Hydrat objektglas i en række graderede alkoholer til vand.
2. Peroxidblok (valgfrit): Bloker i 5 minutter med Peroxidized 1.

3. Forbehandlingsopløsning/-protokol: Se venligst det respektive primære antistofdatablad for anbefalet forbehandlingsopløsning og protokol.
4. Proteinblok (valgfrit): Inkuber i 5-10 minutter ved stuetemperatur (RT) med Background Punisher.
5. Primært antistof: Se venligst det respektive primære antistofdatablad for inkubationstid.
6. Polymer: Inkuber i 30 minutter ved stuetemperatur med MACH 2 Mouse AP-Polymer.
7. Chromogen: Inkuber i 5-7 minutter ved stuetemperatur med Warp Red.
8. Modfarvning: Modfarvning med hæmatoxylin. Skyl med deioniseret vand. Påfør Tacha's Blueing Solution i 1 minut. Skyl med deioniseret vand.

Tekniske noter:

1. Brug TBS til vasketrin. PBS vaskebuffer vil hæmme alkalisk fosfatasefarvning.
2. Blokering for endogen peroxidase er ikke påkrævet; Men nedsænkning af objektglas i Peroxidized 1 blegger væv og røde blodlegemer, hvilket giver bedre kontrast til alkalisk fosfatase-farvningsprocedurer.

Kvalitetskontrol:

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

Positiv vævskontrol:

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

De væv, der anvendes til de eksterne positive kontrolmaterialer, bør vælges fra patientprøver med velkarakteriserede lave niveauer af den positive måltaktivitet, 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

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Danish

BIOCARE
M E D I C A L

tillade bedre fortolkning af specifik farvning på antigenstedet. Ideelt set indeholder en negativ reagenskontrol et antistof produceret og forberedt (dvs. fortyndet til samme koncentration ved hjælp af samme fortyndingsmiddel) til brug på samme måde som det primære antistof, men udviser ingen specifik reaktivitet med humant væv i samme matrix/opløsning som Biocare antistof. Fortyndingsmidlet alene kan anvendes som et mindre ønskeligt alternativ til de tidligere 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 immunreaktivitet, kan yderligere patientvæv udelukkende farves med henholdsvis substrat-chromogen eller enzymkomplekser (PAP, avidin-biotin, streptavidin) og substrat-chromogen.

Assayverifikation:

Før den første brug af et antistof eller farvningssystem 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 Program[®] for Immunohistochemistry og/eller NCCLS IHC guideline[™]. Disse kvalitetskontrolprocedurer bør gentages for hvert nyt antistofflot, eller når der er en ændring i assayparametrene. Væv, der er angivet i afsnittet Ydelsesegenskaber, er egnede til assayverifikation.

Fejlfinding:

Følg de antistofspecifikke protokolbefalinger 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 2 Mouse AP-polymer 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 farvningsmetoden.¹²

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 formalinfixeret væv. Brug intakte celler til fortolkning af farvningsresultater. Nekrotiske eller degenererede celler farves ofte uspecifikt.

Patientvæv:

Undersøg patientprøver farvet med angivet antistof sidst. Positiv farvningsintensitet bør vurderes i sammenhæng med enhver uspecifik baggrundsfarvning af den negative reagenskontrol. Som med enhver immunhistokemisk test betyder et negativt resultat, at antigenet ikke blev påvist, ikke at antigenet var 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 ydeevnekaraktistika for specifik information vedrørende indiceret antistof-immunreaktivitet.

Begrænsninger:

Generelle begrænsninger:

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



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

25/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Danish

BIOCARE
M E D I C A L

antigenekspression i neoplasmer eller andre patologiske væv.¹⁵ 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. Normale/ikke-immune sera fra samme dyrekilde som sekundære antisera, der anvendes i blokeringsstrin, kan forårsage falsk-negative eller falsk-positive resultater på grund af autoantistoffer eller naturlige antistoffer.
12. Falsk-positive resultater kan ses på grund af ikke-immunologisk binding af proteiner eller substratreaktionsprodukter. De kan også være forårsaget af pseudoperoxidaseaktivitet (erythrocytter), endogen peroxidaseaktivitet (cytochrom C) eller endogen biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) afhængigt af den anvendte type immunfarvning.¹³
13. Et negativt resultat betyder, at antigenet ikke blev påvist, ikke at antigenet var fraværende i de undersøgte celler eller væv.

Produktspecifikke begrænsninger:

Ingen yderligere produktspecifikke begrænsninger.

Ydeevnekaraktistika:

Farvning blev udført ved hjælp af protokoller, der er angivet i den antistofspecifikke brugsanvisning eller som specificeret. Sensitivitet og specificitet 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.

Fejlfinding:

1. Ingen farvning af nogen objektglas – Tjek for at fastslå, om der er brugt passende positivt kontrolvæv, antistof og detektionsprodukter. Tjek for ufuldstændig eller ukorrekt voks fjernelse 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 blokerings, såsom serum- eller kaseinbaseret blokeringsopløsning).
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 afgøre, 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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

26/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Estonian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Kasutusotstarve:

In *vitro* diagnostiliseks kasutamiseks

MACH 2 Mouse AP-Polymer on ette nähtud kasutamiseks kas käsitsi või automatiseeritud immunohistokeemia (IHC) värvimisprotokollides, kasutades leeliselise fosfataasi (AP) polümeeri üheastmelist pealekandmismeetodit. See mikropolümeeride tuvastamise komplekt on mõeldud hiire IgG primaarsete antikehade tuvastamiseks, mis on seotud IHC värvimisprotsessi käigus formaliiniga fikseeritud, parafiiniga varjatud (FFPE) kudedes sihtantigeenidega. Mis tahes värvimise või selle puudumise kliinilist tõlgendamist peaksid täiendama morfoloogilised uuringud ja nõuetekohased kontrollid ning kvalifitseeritud patoloog peaks seda hindama patsiendi kliinilise ajaloo ja muude diagnostiliste testide kontekstis.

Kokkuvõte ja selgitus:

MACH 2 Mouse AP-Polymer on loodud kasutades üheastmelist meetodit hiire primaarsete antikehade tuvastamiseks, et moodustada antikeha-ensüümi kompleks. Seejärel visualiseeritakse see kompleks sobiva substraadi/kromogeeni abil. Üheetapilise meetodi puhul rakendatakse sekundaarset antikeha, mis on otseselt seotud mikropolümeeriga.

Menetluse põhimõte:

sesta mikropolümeeride tuvastamise komplekti võib kasutada formaliiniga fikseeritud parafiiniga manustatud koelõikude immunohistokeemia testimisel. Üldiselt immunohistokeemiline (IHC) värvimistehnikad võimaldavad visualiseerida antigeene, kasutades järjestikku a antigeeni vastane spetsiifiline antikeha (primaarne antikeha), primaarse antikeha sekundaarne antikeha (valikuline linkantikeha/sond), ensüümikompleks ja kromogeenne substraat, millesse on paigutatud pesemisetapid. Kromogeeni ensümaatilise aktiveerimine annab antigeeni kohas nähtava reaktsiooniproducti. Seejärel võib proovi värvida ja katta katteklasaiga. Tulemusi tõlgendatakse valguse abil mikroskoopi ja abi patofüsioloogiliste protsesside diferentsiaaldiagnostikas, mis võivad või ei pruugi olla seotud konkreetse antigeeniga.

Materjalid ja meetodid:

Kaasasolevad reaktiivid:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 mL

Lahustamine, 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 parafiiniga kaetud koed)

Liigid Reaktsioonivõime:

Hiire IgG rasked ja kerged ahelad

Tarnitakse järgmiselt:

Puhverdatud soolalahus, pH 7,6-7,8, mis sisaldab valgukandjat ja vähem kui 0,01% ProClin 300 ja/või vähem kui 0,5% ProClin 950 säilitusainena. Lisateabe saamiseks vaadake ohutuskaarti.

Vajalikud materjalid ja reaktiivid, mida pole kaasas:

positiivse laenguga mikroskoobi slaidid
Positiivsed ja negatiivsed
sarnane Kuivatusahvi (valikuline)
Ksüleeni või ksüleeni asendaja
Etanool või reagenti alkohol
Decloaking Chamber* või sarnane kiirkeeduk (valikuline)
Deioniseeritud või destilleeritud vesi
Pesupuhver*
Eeltötlusreaktiivid* (valikuline)
Ensüümi seedimine* (valikuline)
Peroksidaasi plokk* (valikuline)
* (valikuline)
Primaarne antikeha*
Negatiivsed kontrollreagentid*
Kromogeenid*
Hematoküliin* (vastuvärv)
Sinine reaktiiv*
Paigalduskeskkond*
Katteklaasi
valgus mikroskoop (40–400-kordne suurendus)

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

Säilitamine ja stabiilsus:

Hoida temperatuuril 2°C kuni 8°C. Toode on sellistes tingimustes säilitamisel stabiilne kuni vialli 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.

Positiivsed ja negatiivsed kontrollid tuleb läbi viia samaaegselt kõigi patsiendi proovidega. Kui täheldatakse ootamatut värvimist, mida ei saa seletada erinevustega laboratoorses 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 kudedes töötlemist katlakivi eemaldada, et hõlbustada kudedes lõikamist ja vältida mikrotoomi labade kahjustamist.^{1,2}

Korralikult fikseeritud ja sisestatud kudesid, mis ekspresseerivad määratud sihtmärkantigeeni, tuleb hoida jahedas. 1988. aasta Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) nõuab artiklis 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

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Estonian

BIOCARE
M E D I C A L


Kudede töötlemine enne värvimist:

Tehke kuumuse poolt põhjustatud epitopide otsimine (HIER) vastavalt allolevale soovitatud protokollile. On näidatud, et HIER-i rutiinne kasutamine enne IHC-d vähendab ebakõlasid ja standardiseerib värvimist.⁴⁵

Hoiaus ja ettevaatusabinõud:

1. Komplekti reaktiivid sisaldavad alla 0,05% ProClin 300 ja/või vähem kui 1% ProClin 950. Kandke kindaid ja kaitseriietust ning võtke käsitsemisel kasutusele mõistlikud ettevaatusabinõud, kuna ProClin on klassifitseeritud ärritavaks ja võib põhjustada nahakontakti ülitundlikkust. Vältida kokkupuudet silmade, naha ja limaskestadega.
2. Käsitsege inim- või loomset päritolu materjale kui potentsiaalselt bioloogilisel ohtlike materjale ja kõrvaldage need materjalid asjakohaste ettevaatusabinõudega. Kokkupuute korral järgige kasutamise korral vastutavate asutuste tervisejuhiseid.⁶⁷
3. Proove enne ja pärast fikseerimist ning kõiki nendega kokkupuutuvaid materjale tuleb käsitseda nii, nagu need oleksid võimelised nakkust edasi kandma, ning kõrvaldada asjakohaste ettevaatusabinõudega. Ärge kunagi pipeteerige reaktiive suu kaudu ning vältige reaktiivide ja proovidega kokkupuudet naha ja limaskestadega. Kui reaktiivid või proovid puutuvad kokku tundlike piirkondadega, peske neid rohke veega.⁸
4. Reaktiivide mikroobne saastumine võib põhjustada mittespetsiifilise värvumise suurenemist.
5. Määratletud erinevad inkubatsiooniajad või temperatuurid võivad anda ekslikke tulemusi. Kasutaja peab kõik sellised muudatused kinnitama.
6. Ärge kasutage reaktiivi pärast viaalile trükitud kõlblikkusaega.
7. Mikropolümeeride tuvastamise komplekti reaktiiv(id) on optimeeritud ja valmis kasutamiseks koos Biocare'i antikehade ja abireaktiividega. Soovitatavate protokollide ja kasutustingimuste kohta vaadake esmase antikeha ja teiste lisareaktiivide kasutusjuhiseid.
8. Järgige kõrvaldamismeetodi osas kohalike ja/või riigiasutuste nõudeid.
9. Ohutuskart on saadaval nõudmisel ja asub aadressil <http://biocare.net>.
10. Teatage kõigist selle seadmega seotud tõsisest vahejuhtumitest, võttes ühendust kohaliku Biocare'i esindaja ja kasutaja asukohaliikmesriigi või riigi pädeva asutusega.

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

Oht	Code	Ohuavaldus
	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 lisareaktiivide kasutusjuhiseid. Inkubatsiooniajad ja temperatuurid varieeruvad sõltuvalt järgitavast spetsiifilisest antikehade protokollist.

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

Üldised protseduuritapid IHC teostamiseks:

1. Deparaffiini eemaldamine: Deparaffineerige objektiklaasid Slide Brite'is või ksüleenis. Hüdraatiseerige slaidid sorteeritud alkoholide seerias vette.
2. Peroksidplokk (valikuline): blokeerige 5 minutit Peroxidized 1-ga.

3. Eeltötluslahus/-protokoll: soovitatud eeltötluslahuse ja -protokolli leiate vastava primaarse antikeha andmelehel.

4. Protein Block (valikuline): inkubeerige 5-10 minutit toatemperatuuril (RT) Background Punisheriga.

5. Primaarne antikeha: inkubatsioonaja kohta vaadake vastavat primaarset antikeha andmelehte.

6. Polümeer: inkubeerige 30 minutit toatemperatuuril MACH 2 Mouse AP-polümeeriga.

7. Kromogeen: inkubeerige 5-7 minutit toatemperatuuril Warp Rediga.

8. Vastuvärv: hematoksüliniga vastuvärv. Loputage deioniseeritud veega. Kandke 1 minutiks Tacha sinistamislahust. Loputage deioniseeritud veega.

Tehnilised märkused:

1. Kasutage pesemisetappideks TBS-i. PBS pesupuhvid inhibeerivad leeliselise fosfataasi värvimist.

2. Endogeense peroksidaasi blokeerimine ei ole vajalik; aga slaidide sukeldamine Peroxidized 1-sse pleegitab kudesid ja punaseid veribleksid, mis annab leeliselise fosfataasiga värvimisprotseduuride jaoks parema kontrasti.

Kvaliteedikontroll:

vaadake CLSI kvaliteedistandardeid immunohistokeemiliste analüüside kavandamiseks ja rakendamiseks; Heakskiidetud juhiste teine väljaanne (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁸

Positiivne koekontroll:

Välised positiivse kontrolli materjalid 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 värvimistsükklisse tuleks lisada üks positiivne väline koekontroll iga katsetingimuste komplekti kohta.

Välise positiivsete kontrollmaterjalide jaoks kasutatavad koed tuleks valida patsiendi proovidest, millel on hästi iseloomustatud madal positiivse sihtaktiivsuse tase, mis annab nõrga positiivse värvumise. Välise positiivsete kontrollide madal positiivse tase on loodud selleks, et tagada ebastabiilsusest või IHC meetodikaga 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.

Teadaolevaid positiivseid koekontrole tuleks kasutada ainult töödeldud kudede 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 värvimistsükli puhul negatiivset koekontrolli, mis on fikseeritud, töödeldud ja sisestatud patsiendi proovi(de)ga identsel viisil, et kontrollida IHC primaarse antikeha spetsiifilisust. sihtantigeeni demonstreerimine ja spetsiifilise taustavärvimise indikaator (valepositiivne värvimine). Samuti võivad enamikus koesades esinevad erinevad rakutüübid labori poolt kasutada sisemiste negatiivsete kontrollikohtadena, et kontrollida IHC toimivust spetsifikatsioonid. Negatiivse koe jaoks kasutatavate proovide tüübid ja allikad juhtelemendid on loetletud jaotises Toimivusnäitajad.

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

Mittespetsiifilise negatiivse reaktiivi kontroll:

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Estonian

BIOCARE
M E D I C A L

kasutage primaarse antikeha asemel mittespetsiifilist negatiivset reagendi kontrolli koos iga patsiendi proovi osaga, et hinnata mittespetsiifilist värvumist ja

võimaldada spetsiifilise värvumise paremat tõlgendamist antigeeni saidil. Ideaalis sisaldab negatiivne reaktiiv 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 kudede samas maatriksis/lahuses Biocare antikehad. Ainuüksi lahjendit võib kasutada vähem soovitava alternatiivina 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 täiendavalt patsiendi kudesid värvida ainult substraat-kromogeeni või ensüümi kompleksidega (PAP, avidiin-biotiin, streptavidiin) ja substraat-kromogeeni.

Analüüsi kontrollimine:

enne antikeha või värvimissüsteemi esmast kasutamist diagnostilises protseduuris peaks kasutaja kontrollima antikeha spetsiifilisust, testides seda ettevõttesesest kudedega, millel on teadaolevad immunohistokeemilised omadused, mis esindavad teadaolevaid positiivseid ja negatiivseid kudesid. Vaadake eelnevalt tootelehe selles jaotises kirjeldatud kvaliteedikontrolli protseduure ja CAP sertifitseerimisprogrammi¹⁰ immunohistokeemia ja/või NCCLS IHC juhiste¹¹. Neid kvaliteedikontrolli protseduure tuleks korrata iga uue antikehapartii puhul või alati, kui analüüsiparameetrid muutuvad. Katse kontrollimiseks sobivad koed, mis on loetletud jaotises Performance Characteristics.

Veotsing:

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

Värvimise tõlgendamine:

MACH 2 hiire AP-polümeer tekitab primaarse antikeha poolt lokaliseeritud antigeeni saitudes punase värvuse reaktsiooni. Enne patsiendi tulemuste tõlgendamist peab kvalifitseeritud patoloog kontrollide värvimist hindama. Negatiivseid kontrole hinnatakse ja võrreldakse värvitud objektiklaasidega, et tagada, et täheldatud värvumine ei ole mittespetsiifiliste interaktsioonide tagajärg.

Positiivne koekontroll:

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

Reaktsiooniproducti värvus võib varieeruda sõltuvalt kasutatud substraadi kromogeenidest. Oodatavate värvireaktsioonide kohta vaadake aluspinna pakendi infolehti. Lisaks võib metakromaatid täheldada värvimismeetodi variatsioonides.¹²

Vastuvärv kasutamisel, olenevalt kasutatud vastuvärv inkubatsiooni pikkusest ja tugevusest, põhjustab vastuvärvimine raku tuumade värvumist. Liigne või mittetäielik vastuvärvimine võib kahjustada tulemuste õiget tõlgendamist. Soovitatud vastuvärvimise kohta vaadake protokolliprotokeerimis.

Negatiivne koekontroll:

tuleks uurida pärast positiivset koekontrolli, et kontrollida sihtantigeeni märgistamise spetsiifilisust primaarse antikehaga. Spetsiifilise värvumise

puudumine negatiivses koekontrollis kinnitab antikehade ristreaktiivsuse puudumist rakkude/rakukomponentide suhtes. Kui negatiivse väliskoe kontrolli korral ilmneb spetsiifiline värvumine (valepositiivne värvumine), tuleb patsiendi proovi tulemusi lugeda kehtetuks.

Mittespetsiifiline värvumine, kui see on olemas, on tavaliselt hajusa välimusega. Sidekoe juhuslikku värvumist võib täheldada ka liigselt formaliiniga fikseeritud kudede lõikudes. Värvimistulemuste tõlgendamiseks kasutage terveid rakke. Nekrootilised või degenereerunud rakud värvuvad sageli mittespetsiifiliselt.

Patsiendi kude:

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

Täpsemat teavet näidatud antikehade immunoreaktiivsuse kohta leiata jaotises 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 koosneb erikoolitusest sobivate reaktiivide valimisest; kudede valik, fikseerimine ja töötlemine; IHC slaidi ettevalmistamine; ja värvimistulemuste tõlgendamine.
3. Kasutamiseks ainult arsti retsepti alusel. (Ainult Rx)
4. Kudede värvimine sõltub koe käsitsemisest ja töötlemisest enne värvimist. Ebaõige fikseerimine, külmutamine, sulatamine, pesemine, kuivatamine, kuumutamine, lõikamine või saastumine teiste kudede või vedelikega võib põhjustada artefakte, antikehade kinnijäämist või valenegatiivseid tulemusi. Ebajärjekindlad tulemused võivad olla tingitud fikseerimis- ja kinnistamismeetodite erinevustest või koe omastest ebakorrapärasustest.¹³
5. Liigne või mittetäielik vastuvärvimine võib kahjustada tulemuste õiget tõlgendamist.
6. Iga positiivse või negatiivse värvumise kliinilist tõlgendust tuleks hinnata kliinilise pildi, morfoloogia ja muude histopatoloogiliste kriteeriumide kontekstis. Positiivse või negatiivse värvumise kliinilist 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, vastutab kõigi IHC lõpliku preparaadi ettevalmistamiseks ja tõlgendamiseks kasutatud etappide tõlgendamise eest.
7. Konkreetse rakenduse optimaalsed protokollid võivad erineda. Nende hulka kuuluvad (kuid mitte ainult) fikseerimine, kuumuse taastamise meetod, inkubatsiooniajad, antikehade lahjendamine, koelõike paksus ja kasutatud tuvastamiskomplekt. Soovitatavate protokollide ja kasutustingimuste kohta vaadake esmase antikeha ja teiste lisareaktiivide kasutusjuhiseid. Andmelehe soovitused ja protokollid põhinevad ainult Biocare toodete kasutamisel. Lõppkokkuvõttes vastutab uurija optimaalsete tingimuste kindlaksmääramise eest.
8. See toode ei ole ette nähtud kasutamiseks voolutsütomeetrias. Voolutsütomeetria jõudlusnäitajaid ei ole määratud.
9. B-hepatiidi viirusega nakatunud ja B-hepatiidi pinnaantigeeni (HBsAg) sisaldavate inimeste kudedel võib ilmneda mädarõika peroksüdaasiga mittespetsiifiline värvumine.¹⁴



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

29/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortseidijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Estonian

BIOCARE
M E D I C A L

10. Reaktiivid võivad avaldada ootamatuid reaktsioone varem testimata kudedes. Ootamatute reaktsioonide võimalust isegi testitud koerühmades ei saa täielikult välistada antigeeni ekspresiooni bioloogilise varieeruvuse tõttu kasvajates või muudes patoloogilistes kudedes.¹⁵ Dokumenteeritud ootamatu(te) reaktsiooni(de)ga võtke ühendust Biocare'i tehnilise toega numbril 1-800-542-2002 või veebisaidil biocare.net pakutava tehnilise toe teabe kaudu.
11. Normaalsed/mitteimmuunsed seerumid, mis pärinevad samast loomsest 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 reaktsiooniproduktide mitteimmunoloogilise seondumise tõttu. Need võivad olla põhjustatud ka pseudoperoksidaasi aktiivsusest (erütrotsüüdid), endogeense peroksidaasi aktiivsusest (tsütokroom C) või endogeensest biotiinist (nt maks, rind, aju, neer), olenevalt kasutatud immunovärvide tüübist.¹³
13. Negatiivne tulemus tähendab, et antigeeni ei tuvastatud, mitte seda, et uuritud rakkudes või koes antigeen puudus.

Tootepõhised piirangud:

täiendavaid tootespetsiifilisi piiranguid pole.

Toimivuskarakteristikud:

Värvimine viidi läbi, kasutades protokolle, mis on toodud antikehaspetsiifilistes kasutusjuhistes või vastavalt täpsustatule. Värvimise tundlikkust ja spetsiifilisust hinnati mitmesuguste normaalsete ja neoplastiliste koetüüpide puhul, mida hinnati primaarsete antikehade väljatöötamise ajal.

Reprodutseeritavus:

Biocare'i tuvastamissüsteemide ja süsteemireaktiivide reprodutseeritavust kontrollitakse keskmise täpsusega mõõtmise teel, mille käigus testiti erinevaid reaktiivpartisiidid pikema aja jooksul, kasutades erinevaid operaatoreid, analüütikuid, reaktiivpartisiidid, koeproove ja seadmeid. Iga hinnatud tuvastamisreagendi värvimine oli järjepidev ja viidi läbi ootuspäraselt.

Veotsing:

1. objektiklaasid ei värvunud – Kontrollige, kas on kasutatud sobivat positiivset kontrollkudet, antikehi ja tuvastamistooteid. Kontrollige, kas vaha eemaldamine või eeltöötlemine on puudulik või vale.
2. Kõigi objektiklaaside nõrk värvumine – 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 lõpptooteks (kasutage peroksidaasi plokki), või võib esineda liigne mittespetsiifiline valgu interaktsioon (kasutage valku). blokk, nagu seerumi- või kaseiinipõhine blokeeriv lahendus).
4. Koeosad pesevad slaididelt inkubeerimise ajal maha – Kontrollige slaidid, et veenduda, et need on positiivselt laetud.
5. Spetsiifiline värvumine on liiga tume – kontrollige protokollid, et teha kindlaks, kas objektiklaasile on rakendatud õige antikehade tiiter, samuti kõigi reaktiivide õiged inkubatsiooniajad. Lisaks veenduge, et protokollis 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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

30/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsewijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Finnish

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Käyttötarkoitus:

In *vitro* diagnostiseen käyttöön

MACH 2 Mouse AP-Polymer on tarkoitettu käytettäväksi joko manuaalisissa tai automatisoiduissa immunohistokemian (IHC) värjäyskäytännöissä, joissa käytetään alkalisen fosfaasi (AP) polymeerin yksivaiheista levitysmenetelmää. Tämä mikropolymeerien havaitsemisarja on suunniteltu hiiren primääristen IgG-vasta-aineiden havaitsemiseen, jotka ovat sitoutuneet kohdeantigeeneihin formaliinilla kiinnitetyissä, parafiiniin upotetuissa (FFPE) kudoksissa IHC-värjäysprosessin aikana. Mahdollisen värjäytymisen tai sen puuttumisen kliinistä tulkintaa tulisi täydentää morfologisilla tutkimuksilla ja asianmukaisilla kontrolleilla, ja pätevän patologin tulee arvioida potilaan kliinisen historian ja muiden diagnostisten testien yhteydessä.

Yhteenveto ja selitys:

MACH 2 Mouse AP-polymeeri on suunniteltu käyttämällä yksivaiheista menetelmää hiiren primääristen vasta-aineiden havaitsemiseksi vasta-aine-entsyymikompleksin muodostamiseksi. Tämä kompleksi visualisoidaan sitten käyttämällä sopivaa substraattia/kromogeenia. Yksivaiheisessa menetelmässä käytetään sekundaarista vasta-ainetta, joka on liitetty suoraan mikropolymeeriin.

Menettelyn periaate:

Tätä mikropolymeerien havaitsemisarjaa voidaan käyttää formaliinilla kiinnitettyjen, parafiiniin upotettujen kudosteikkien immunohistokemian testaamiseen. Yleensä immunohistokemiallinen (IHC) värjästekniikat mahdollistavat antigeenien visualisoinnin soveltamalla peräkkäin a spesifinen vasta-aine antigeenille (primaarinen vasta-aine), sekundaarinen vasta-aine primaariselle vasta-aineelle (valinnainen linkkivasta-aine/koetin), entsyymikompleksi ja kromogeeninen substraatti, jossa on pesuvaiheet. Kromogeenin entsyymaattinen aktivaatio johtaa näkyvään reaktiotuotteeseen antigeenikohdassa. Näyte voidaan sitten vastavärjätä ja peittää. Tulokset tulkitaan valon avulla mikroskoopi ja apu patofysiologisten prosessien erotusdiagnoosissa, jotka voivat tai olla ei välttämättä liity tiettyyn antigeeniin.

Materiaalit ja menetelmät:

Mukana tulevat reagenssit:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 mL

Liuottaminen, sekoitus, laimennus, titraus:

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

Tunnetut sovellukset:

Immunohistokemia (formaliiniin kiinnitetty parafiiniin upotetut kudokset)

Laji Reaktiivisuus:

Hiiren IgG:n raskaat ja kevyet ketjut

Toimitetaan nimellä:

Puskuroitu suolaliuos, pH 7,6-7,8, sisältää proteiinikantajaa ja alle 0,01 % ProClin 300:a ja/tai vähemmän kuin 0,5 % ProClin 950 säilöntäaineena. Katso lisätietoja käyttöturvallisuustiedotteesta.

Tarvittavat materiaalit ja reagenssit, joita ei toimiteta:

mikroskoopin objektilasit, positiivisesti varautuneet
Positiiviset ja negatiiviset kudokset
Desert Chamber* tai vastaava Kuivausuuni (valinnainen)
Ksyleeni tai ksyleenin korvike
Etanoli tai reagenssialkoholi
Decloaking Chamber* tai vastaava painekattila (valinnainen)
Deionisoitu tai tislattu vesi
Pesupuskuri*
Esikäsitteilyreagenssit* (valinnainen)
Entsyymihajotus* (valinnainen)
Peroksidaasiblokki* (valinnainen)
Proteiiniblokki* (valinnainen)
Ensisijainen vasta-aine*
Negatiiviset kontrollireagenssit*
Kromogeenit*
* (vastavärjäys)
Sinimisreagenssi*
Kiinnitysaine*
Peitelasivalo
Mikroskooppi (40-400X suurennus)

* Biocare Medical -tuotteet: Katso Biocare Medical -sivustolta <http://biocare.net> lisätietoja luettelonumeroista ja tilauksesta. Tietty edellä luettellut 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 käyttövalmiita, eikä niitä saa laimentaa. Biocare ei ole vahvistanut käyttäjän laimennetun reagenssin stabiilisuutta.

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

Näytteen valmistelu:

Kudokset kiinnitetään formaliiniin soveltuvat käytettäväksi ennen parafiiniin upottamista. Luukudokset tulee poistaa kalkki ennen kudosten käsittelyä kudoksen leikkaamisen helpottamiseksi ja mikrotomin terien vaurioitumisen estämiseksi.^{1,2}

Asianmukaisesti kiinnitetty ja upotetut kudokset, jotka ilmentävät määritettyä antigeenikohdetta, tulee säilyttää viileässä paikassa. Vuoden 1988 Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) -lain 42 CFR §493.1259(b) edellyttää, että "Laboratorion on säilytettävä värjätty objektilasit vähintään kymmenen

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Finnish

BIOCARE
M E D I C A L

vuotta niiden päivämäärästä lukien. tutkia ja säilyttää näytekappaleet vähintään kaksi vuotta tutkimuspäivästä.³


Kudosten käsittely ennen värjäystä:

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

Varoitus ja varoitoimet:

1. Sarjan reagenssit sisältävät alle 0,05 % ProClin 300:aa ja/tai alle 1 % ProClin 950. Käytä käsitellessäsi ja suojavaatetusta ja ryhdy kohtuullisiin varotoimiin käsitellessäsi, koska ProClin on luokiteltu ärsyttäväksi ja voi aiheuttaa ihokosketuksen herkistymistä. Vältä joutumista silmiin, iholle ja limakalvoille.
2. Käsittele ihmis- tai eläinperäisiä materiaaleja mahdollisesti biologisesti vaarallisina ja hävitä tällaiset materiaalit asianmukaisin varotoimin. Noudata altistumistapauksessa vastaavien viranomaisten antamia terveysmääräyksiä.^{6,7}
3. Näytteitä ennen kiinnitystä ja sen jälkeen sekä kaikkia niille altistettuja materiaaleja tulee käsitellä 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 runsaalla vedellä.⁸
4. Reagenssien mikrobikontaminaatio voi johtaa epäspesifisen värjäytymisen lisääntymiseen.
5. Muut kuin ilmoitetut inkubointiajat tai lämpötilat voivat antaa virheellisiä tuloksia. Käyttäjän on vahvistettava kaikki tällaiset muutokset.
6. Älä käytä reagenssia pulloon painetun viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.
7. 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.
8. Noudata paikallisten ja/tai valtion viranomaisten vaatimuksia hävitysmenettelystä.
9. Käyttöturvallisuustiedote on saatavilla pyynnöstä, ja se sijaitsee osoitteessa <http://biocare.net>.
10. Ilmoita kaikista tähän laitteeseen liittyvistä vakavista tapahtumista ottamalla yhteyttä paikalliseen Biocaren edustajaan ja sen jäsenvaltion tai maan toimivaltaiseen viranomaiseen, jossa käyttäjä sijaitsee.

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 vesieläinoille. Haitallista vesieläinoille, pitkäaikaisia 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. Inkubointiajat ja -lämpötilat vaihtelevat noudatetun spesifisen vasta-aineprotokollan mukaan. Kun käytät automaattista värjäysinstrumenttia, katso laitteen käyttöoppaasta ja käyttöohjeista käyttöparametreja.

Yleiset menettelyvaiheet IHC:n suorittamiseksi:

1. Paraffinointi: Poista paraffinointi objektilasit Slide Brite- tai ksyleenissä. Hydratoi liukulevyt sarjassa luokiteltuja alkoholeja veteen.
2. Peroksidiblokki (valinnainen): Lopeta 5 minuutin ajan Peroxidized 1:llä.
3. Esikäsitteilylius/protokolla: Katso suositeltu esikäsitteilylius 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 primäärivasta-aineesta.
6. Polymeeri: Inkuboi 30 minuuttia huoneenlämpötilassa MACH 2 Mouse AP-polymeerin kanssa.
7. Kromogeeni: Inkuboi 5-7 minuuttia huoneenlämpötilassa Warp Redin kanssa.
8. Vastavärjäys: Vastavärjäys hematoksyliinillä. Huuhtelee deionisoidulla vedellä. Levitä Tacha's Bluing -liuosta 1 minuutin ajan. Huuhtelee deionisoidulla vedellä.

Tekniset huomautukset:

1. Käytä pesuvaiheissa TBS:ää. PBS-pesupuskurit estävät alkalisen fosfaatin värjäytymistä.
2. Endogeenisen peroksidaasin estämistä ei vaadita; objektilasien upottaminen Peroxidized 1:een kuitenkin valkaisee kudoksia ja punasoluja, mikä tuottaa paremman kontrastin alkalisen fosfaatin värjäystoimenpiteissä.

Laadunvalvonta:

Katso CLSI-laatustandardit immunohistokemiallisten määritysten suunnittelua ja toteutusta varten; Hyväksytty Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁹

Positiivisten kudosten kontrolli:

Ulkoisten positiivisten kontrollimateriaalien tulee olla tuoreita näytteitä, jotka on kiinnitetty, käsitelty ja upotettu mahdollisimman pian samalla tavalla kuin potilasnäytteet. Positiiviset kudokset osoittavat oikein valmistettuja kudoksia ja asianmukaisia värjäystekniikoita. Yksi positiivinen ulkoinen kudokset kontrolli jokaista testiolosuhteita kohden tulisi sisällyttää jokaiseen värjäysajoon.

Ulkoisiin positiivisiin kontrollimateriaaleihin käytetyt 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 herkkydessä epästabiilisuudesta tai IHC-metodologian ongelmista. Kaupallisesti saatavilla olevat kudokset kontrolloivat tai näytteet, jotka on käsitelty eri tavalla kuin potilasnäyte(t), validoivat vain reagenssin suorituskyvyn, eivätkä ne varmista kudosten valmistelua.

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

Negatiivinen kudokset kontrolli:

Käytä negatiivista kudokset kontrollia, joka on kiinnitetty, käsitelty ja upotettu identtisellä tavalla kuin potilasnäyte(t) jokaisessa värjäysajossa varmistaaksesi IHC:n primaarisen vasta-aineen spesifisyyden. Kohdeantigeenin osoittamiseen ja spesifisen taustavärjäytymisen osoittamiseen (väärä positiivinen värjäys). Myös useimmat eri solutyypit, joita esiintyy useimmissa kudokset leikkeissä, voivat laboratorio käyttää niitä sisäisinä negatiivisina kontrollipaikkoina IHC:n suorituskyvyn tarkistamiseen

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Finnish

BIOCARE
M E D I C A L

tekniset tiedot. Näytetyypit ja -lähteet, joita voidaan käyttää negatiiviseen kudokseen säätimet on lueteltu Suorituskykyominaisuudet-osiossa.

Jos negatiivisessa kudoksentrollissa 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 tuotettu ja valmistettu (eli laimennettu samaan pitoisuuteen käyttäen samaa laimennusainetta) käytettäväksi samalla tavalla kuin primaarinen 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 reagenssikontrolleille. Negatiivisen reagenssikontrollin inkubaatioajan tulee vastata primaarisen vasta-aineen inkubaatioaikaa.

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

Määrityksen varmistus:

Ennen vasta-aineen tai värjäysjärjestelmän ensimmäistä käyttöä diagnostisessa toimenpiteessä käyttäjän tulee varmistaa vasta-aineen spesifisyys testaamalla se sarjalla talon sisäisiä kudoksia, joilla on tunnetut immunohistokemialliset suorituskykyominaisuudet ja jotka edustavat tunnettuja positiivisia ja negatiivisia kudoksia. Katso laadunvalvontamenettelyt, jotka on kuvattu aiemmin tässä tuoteselosteen osassa, ja CAP-sertifiointiohjelman¹⁰ immunohistokemian laadunvalvontasuosituksia ja/tai NCCLS IHC -ohjetta¹¹. Nämä laadunvalvontatoimenpiteet on toistettava jokaiselle uudelle vasta-aineerälle tai aina, kun määritysparametreissa tapahtuu muutoksia. Suorituskykyominaisuudet-osiossa luetellut kudokset soveltuvat määrityksen todentamiseen.

Vianetsintä:

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

Värjäyksen tulkinta:

MACH 2 Mouse AP-polymeeri tuottaa punaisen värireaktion primaarisen vasta-aineen paikantamisessa antigeenikohdissa. Ennen potilastulosten tulkintaa pätevän patologin on arvioitava kontrollien värjäys. Negatiiviset kontrollit arvioidaan ja niitä verrataan värjäytyihin objektilaseihin sen varmistamiseksi, että havaittu värjäytyminen ei ole seurausta epäspesifisistä vuorovaikutuksista.

Positiivinen kudoksentrolli:

Osoitetuilla vasta-aineilla värjätty positiivinen kudoksentrolli tulee ensin tutkia sen varmistamiseksi, että kaikki reagenssit toimivat oikein. Kohdesolujen asianmukainen värjäys (kuten edellä on osoitettu) osoittaa positiivista reaktiivisuutta. Jos positiiviset kudoksentrollit eivät osoita

positiivista värjäytymistä, testinäytteillä saatuja tuloksia on pidettävä virheellisinä.

Reaktiotuotteen väri voi vaihdella riippuen käytetyistä substraattikromogeenista. Katso odotetut värireaktiot alustan pakkauselosteista. Lisäksi metakromiaa voidaan havaita värjäysmenetelmän muunnelmissa.¹²

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

Negatiivinen:

Negatiivinen kudoksentrolli tulee tutkia positiivisen kudoksentrollin jälkeen primaarisen vasta-aineen kohdeantigeenin leiman spesifisyyden varmistamiseksi. Spesifisen värjäytymisen puuttuminen negatiivisessa kudoksentrollissa vahvistaa vasta-aineen ristireaktiivisuuden puuttumisen soluja/solukomponentteja kohtaan. Jos negatiivisessa ulkoisessa kudoksentrollissa 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 formaliinista kiinnitetyistä kudoksista. Käytä ehjiä soluja värjäystulosten tulkittamiseen. Nekroottiset tai rapeutuneet solut värjäytyvät usein epäspesifisesti.

Potilaan kudokset:

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

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 valinnasta; kudosten valinta, kiinnitys ja käsittely; IHC-levyn valmistus; ja värjäystulosten tulkinta.
3. Vain lääkärin määräyksestä käytettäväksi. (Vain Rx)
4. Kudovärjäys riippuu kudoksen käsittelystä ja käsittelystä ennen värjäystä. Väärä kiinnitys, jäädyttäminen, sulattaminen, pesu, kuivaus, kuumennus, leikkaus tai kontaminaatio muilla kudoksilla tai nesteillä voi aiheuttaa artefakteja, vasta-aineiden vangitsemista tai vääriä negatiivisia tuloksia. Epäjohdonmukaiset tulokset voivat johtua vaihteluista kiinnitys- ja upotusmenetelmissä tai kudoksen sisäisistä epäsuunnollisuuksista.¹³
5. Liiallinen tai epätäydellinen vastavärjäys voi vaarantaa tulosten oikean tulkinnan.
6. Kaikkien positiivisten tai negatiivisten värjäytymien kliininen tulkinta on arvioitava kliinisen esityksen, morfologian ja muiden histopatologisten kriteerien yhteydessä. Positiivisen tai negatiivisen värjäytymisen kliinistä tulkintaa tulisi täydentää morfologisilla tutkimuksilla, joissa käytetään asianmukaisia positiivisia ja negatiivisia sisäisiä ja ulkoisia kontrolleja sekä muita diagnostisia testejä. Pätevän patologin, joka



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

33/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Finnish

BIOCARE
M E D I C A L

tuntee IHC-vasta-aineiden, reagenssien ja menetelmien oikean käytön, vastuulla on tulkita kaikki vaiheet, joita käytetään lopullisen IHC-valmisteen valmistelussa ja tulkinassa.

7. Optimaaliset protokollat tietyille sovellukselle voivat vaihdella. Näitä ovat muun muassa kiinnitys, lämmön talteenottomenetelmä, inkubaatioajat, vasta-ainelaimennus, kudosteikkien paksuus ja käytetty havaitsemispakkaus. Katso suositellut protokollat ja käyttöolosuhteet ensisijaisen vasta-aineen ja muiden apureagenssien käyttöohjeista. Käyttöturvallisuustiedotteen suositukset ja protokollat perustuvat Biocare-tuotteiden yksinomaiseen käyttöön. Viime kädessä on tutkijan vastuulla määrittää optimaaliset olosuhteet.
8. Tätä tuotetta ei ole tarkoitettu käytettäväksi virtausytometriassa. Virtausytometriassa suorituskäytännönsä ei ole määritetty.
9. Hepatiitti B -viruksella infektoiduneiden henkilöiden kudoksissa, jotka sisältävät hepatiitti B -pinta-antigeeniä (HBsAg), voi esiintyä epäspesifistä piparjuuriperoksidaasin värjäytymistä.¹⁴
10. Reagenssit voivat aiheuttaa odottamattomia reaktioita aiemmin testaamattomissa kudoksissa. Odottamattomien reaktioiden mahdollisuutta ei edes testatuissa kudoksissa voida täysin eliminoida antigeenin ilmentymisen biologisen vaihtelun vuoksi kasvaimissa tai muissa patologisissa kudoksissa.¹⁵ Ota yhteyttä Biocaren tekniseen tukeen numerossa 1-800-542-2002 tai biocare.net-sivustossa olevien teknisen tuen tietojen kautta ja kerro dokumentoiduista odottamattomista reaktioista.
11. Normaali/ei-immuniseerumit samasta eläinlähteestä kuin estovaiheissa käytetyt sekundaariset antiseerumit voivat aiheuttaa vääriä negatiivisia tai vääriä positiivisia tuloksia autovasta-aineista tai luonnollisista vasta-aineista johtuen.
12. Vääriä positiivisia tuloksia voidaan nähdä johtuen proteiinien tai substraattireaktiivien ei-immunologisen sitoutumisesta. Ne voivat johtua myös pseudoperoksidaasiaktiivisuudesta (erytrosyytit), endogeenisestä peroksidaasiaktiivisuudesta (sytokromi C) tai endogeenisestä biotiinista (esim. maksa, rinta, aivot, munuaiset) riippuen käytetyn immunovärjäyksen tyypistä.¹³
13. Negatiivinen tulos tarkoittaa, että antigeeniä ei havaittu, ei sitä, että antigeeni puuttui tutkituista soluista tai kudoksesta.

Tuotekohtaiset rajoitukset:

Ei muita tuotekohtaisia rajoituksia.

Suorituskykyominaisuudet:

Värjäys suoritettiin käyttämällä protokollia, jotka on annettu vasta-ainekohtaisissa käyttöohjeissa tai kuten on määritelty. Värjäytymisen herkkyys ja spesifisyys arvioitiin useissa normaaleissa ja neoplastisissa kudostyypeissä, jotka arvioitiin primaaristen vasta-aineiden kehittymisen aikana.

Toistettavuus:

Biocaren tunnistusjärjestelmien ja järjestelmäreagenssien toistettavuus varmistetaan keskimääräisellä tarkkuudella, jossa eri reagenssierät testattiin pitkän ajanjakson ajan käyttämällä erilaisia toimijoita, analyttikoita, reagenssieriä, kudoksenäytteitä ja laitteita. Jokaiselle arvioidulle detektioagenssille saatu värjäys oli johdonmukainen ja suoritettiin odotetulla tavalla.

Vianetsintä:

1. Objektilasit ei värjäytynyt – Tarkista, että on käytetty asianmukaista positiivista kontrollikudosta, vasta-ainetta ja havaitsemistuotteita. Tarkista, ettei vahanpoisto tai esikäsitely ole täydellinen tai virheellinen.
2. Kaikkien objektilasien heikko värjäys – Tarkista, että on käytetty asianmukaista positiivista kontrollikudosta, vasta-ainetta ja havaitsemistuotteita.
3. Kaikkien objektilasien liiallinen tausta – Endogeenistä biotiinia (jos käytät biotiinipohjaisia havaitsemistuotteita), endogeenistä HRP-aktiivisuutta, joka muuttaa kromogeenin värilliseksi lopputuotteeksi

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

4. Kudokset pesyvät objektilasit pois inkubaation aikana – Tarkista objektilasit varmistaaksesi, että ne ovat positiivisesti varautuneita.
5. Eriytynyt värjäys liian tumma – Tarkista protokolla määrittääksesi, onko objektilasiin käytetty oikea vasta-ainetiitteri, sekä oikeat inkubaatioajat kaikille reagensseille. Varmista lisäksi, että protokollassa on riittävästi pesuvaiheita ylimääräisten reagenssien poistamiseksi inkubointivaiheiden jälkeen.

Viitteet:

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



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

34/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Greek

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Προβλεπόμενη χρήση:

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση

Το MACH 2 Mouse AP-Polymer προορίζεται για χρήση σε πρωτόκολλα χρώσης με χειροκίνητο ή αυτοματοποιημένο ανοσοϊστοχημείο (IHC) χρησιμοποιώντας μια μέθοδο εφαρμογής ενός σταδίου πολυμερούς αλκαλικής φωσφατάσης (AP). Αυτό το κιτ ανίχνευσης μικρο-πολυμερούς έχει σχεδιαστεί για την ανίχνευση πρωτογενών αντισωμάτων IgG ποντικού που είναι συνδεδεμένα με 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.

Περιληψη και εξήγηση:

Το MACH 2 Mouse AP-Polymer έχει σχεδιαστεί χρησιμοποιώντας μια μέθοδο ενός σταδίου για την ανίχνευση πρωτογενών αντισωμάτων ποντικού για να σχηματιστεί ένα σύμπλεγμα 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.

Αρχή Διαδικασίας:

Αυτό το κιτ ανίχνευσης μικροπολυμερών μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ανοσοϊστοχημεία τμημάτων 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 του α 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 ενζυμική ενεργοποίηση του χρωμογόνου έχει ως αποτέλεσμα ένα ορατό προϊόν αντίδρασης στη θέση του αντιγόνου. Στη συνέχεια, το δείγμα μπορεί να αντιχρωματιστεί και να καλυφθεί. Τα αποτελέσματα ερμηνεύονται χρησιμοποιώντας ένα φως μικροσκόπιο και βοήθεια στη διαφορική διάγνωση παθολογικών διεργασιών, που μπορεί ή μπορεί να μην σχετίζεται με ένα συγκεκριμένο αντιγόνο.

Υλικά και Μέθοδοι:

Παρέχονται αντιδραστήρια:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 mL

Ανασύσταση, Ανάμιξη, Αραίωση, Τίτλοδότηση:

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

Γνωστές Εφαρμογές:

Ανοσοϊστοχημεία (ιστοί ενσωματωμένοι σε παραφίνη σταθεροποιημένοι με φορμαλίνη)

Είδος Δραστηριότητας:

Βαριές και ελαφριές αλυσίδες IgG ποντικού

Παρέχονται ως:

Ρυθμισμένο αλατούχο διάλυμα, pH 7,6-7,8, που περιέχει φορέα πρωτεΐνης και λιγότερο από 0,01% και ProClin λιγότερο από 30 0,5% ProClin 950 ως συντηρητικό. Δείτε το Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας για πρόσθετες λεπτομέρειες.

Υλικά και αντιδραστήρια που χρειάζονται αλλά δεν παρέχονται:

αντικειμενοφόροι πλάκες μικροσκοπίου, θετικά φορτισμένοι
Θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες ιστού
Desert Chamber* ή παρόμοιος φούρνος ξήρανσης (προαιρετικό)
Υποκατάστατο ξυλενίου ή ξυλενίου
Αιθανόλη ή αλκοόλη αντιδραστήριου
Θάλαμος αποκάλυψης* ή παρόμοια χύτρα ταχύτητας (προαιρετικά)
Απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό
Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης*
Αντιδραστήρια προεπεξεργασίας* (προαιρετικό)
Πέψη ενζύμου* (προαιρετικό)
μπλοκ υπεροξειδάσης* (προαιρετικό)
μπλοκ πρωτεϊνών* (προαιρετικό)
Πρωτεύον αντίσωμα*
Αντιδραστήρια αρνητικού ελέγχου*
Χρωμογόνα*
Αιματοξυλίνη* (αντιχρωματισμός)
Μπλε αντιδραστήριο*
Μέσο
τοποθέτηση
φωτός μικροσκοπίου (μεγέθυνση 40-400X)

* Ιατρικά προϊόντα Biocare: Ανατρέξτε στον ιστότοπο της Biocare Medical που βρίσκεται στη διεύθυνση <http://biocare.net> για περισσότερες 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 φιαλιδίου, όταν φυλάσσεται υπό αυτές τις συνθήκες. Να μη χρησιμοποιείται μετά την ημερομηνία λήξης. Η αποθήκευση υπό οποιαδήποτε 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 αντιδραστήριου 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 παρατηρηθεί 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.

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Greek

BIOCARE
M E D I C A L

Προετοιμασία δειγματος:

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

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


Θεραπεία ιστών πριν από τη χρώση:

Εκτελέστε 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 0,05% 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.
2. Χειριστείτε υλικά ανθρώπινης ή ζωικής προέλευσης ως δυνητικά βιολογικά επικίνδυνα και πετάξτε αυτά τα υλικά με τις κατάλληλες προφυλάξεις. Σε περίπτωση έκθεσης, ακολουθήστε τις υγειονομικές οδηγίες των αρμόδιων αρχών όπου χρησιμοποιείται.^{6,7}
3. Τα δείγματα, πριν και μετά τη στερέωση, και όλα τα υλικά που 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.⁸
4. Η μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της μη ειδικής χρώσης.
5. Χρόνοι επώασης ή θερμοκρασίες διαφορετικές από αυτές που καθορίζονται μπορεί να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Ο χρήστης πρέπει να επικυρώσει οποιαδήποτε τέτοια αλλαγή.
6. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο φιαλίδιο.
7. Τα αντιδραστήρια του κιτ ανίχνευσης μικρο-πολυμερούς είναι βελτιστοποιημένα και έτοιμα για χρήση με αντισώματα Biocare και βοηθητικά αντιδραστήρια. Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του πρωτογενούς αντισώματος και άλλων βοηθητικών αντιδραστηρίων για συνιστώμενα πρωτόκολλα και συνθήκες χρήσης.
8. Ακολουθήστε τις απαιτήσεις των τοπικών ή/και κρατικών αρχών για τη μέθοδο απόρριψης.
9. Το SDS είναι διαθέσιμο κατόπιν αιτήματος και βρίσκεται στη διεύθυνση <http://biocare.net>.
10. Αναφέρετε τυχόν σοβαρά περιστατικά που σχετίζονται με αυτήν τη συσκευή επικοινωνώντας με τον τοπικό αντιπρόσωπο της Biocare και την ισχύουσα αρμόδια αρχή του κράτους μέλους ή της χώρας όπου βρίσκεται ο χρήστης.

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 ποικίλλουν 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: Αποπαραφινποίηση διαφανειών 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 Peroxidized 1.
3. Διάλυμα/Πρωτόκολλο προεπεξεργασίας: Ανατρέξτε στο αντίστοιχο φύλλο δεδομένων πρωτογενούς αντισώματος για το προτεινόμενο διάλυμα και πρωτόκολλο προεπεξεργασίας.
4. Μπλοκ πρωτεΐνης (προαιρετικό): Επώαση για 5-10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (RT) με Background Punisher.
5. Πρωτεύον αντίσωμα: Ανατρέξτε στο αντίστοιχο φύλλο δεδομένων πρωτογενούς αντισώματος για το χρόνο επώασης.
6. Πολυμερές: Επώαση για 30 λεπτά σε ΘΔ με MACH 2 Mouse AP-Polymer.
7. Χρωμογόνο: Επώαση για 5-7 λεπτά σε ΘΔ με Warp Red.
8. Αντίχρηση: Αντίχρηση με αιματοξυλίνη. Ξεπλύνετε με αποιονισμένο νερό. Εφαρμόστε Tacha's Blueing Solution για 1 λεπτό. Ξεπλύνετε με αποιονισμένο νερό.

Τεχνικές σημειώσεις:

1. Χρησιμοποιήστε TBS για τα βήματα πλυσίματος. Τα ρυθμιστικά διαλύματα πλύσης PBS θα αναστείλουν τη χρώση της αλκαλικής φωσφατάσης.
2. Δεν απαιτείται αποκλεισμός για ενδογενή υπεροξειδάση. Ωστόσο, η εμφάνιση των πλακιδίων σε Peroxidized 1 λευκαίνει τους ιστούς και τα ερυθρά αιμοσφαίρια που παράγει καλύτερη αντίθεση για τις διαδικασίες χρώσης αλκαλικής φωσφατάσης.

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). 2011⁹

Θετικός έλεγχος ιστού: Τα

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

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Greek

BIOCARE
M E D I C A L

Οι ιστοί που χρησιμοποιούνται για τα υλικά εξωτερικού θετικού ελέγχου θα πρέπει να επιλέγονται από δείγματα ασθενών με καλά χαρακτηρισμένα χαμηλά επίπεδα θετικής δραστηριότητας στόχου που δίνει ασθενή θετική χρώση. Το χαμηλό επίπεδο θετικότητας για εξωτερικούς θετικούς ελέγχους έχει σχεδιαστεί έτσι ώστε να διασφαλίζει την ανίχνευση ανεπαίσθητων αλλαγών στην ευαισθησία του πρωτογενούς αντισώματος από αστάθεια ή προβλήματα με τη μεθοδολογία IHC. Οι πλάκες ελέγχου ιστού που διατίθενται στο εμπόριο ή τα δείγματα που έχουν υποστεί διαφορετική επεξεργασία από τα δείγματα ασθενούς επικυρώνουν μόνο την απόδοση του αντιδραστηρίου και δεν επαληθεύουν την προετοιμασία ιστού.

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

Αρνητικός μάρτυρας ιστού:

Χρησιμοποιήστε ένα αρνητικό μάρτυρα ιστού σταθεροποιημένο, επεξεργασμένο και ενσωματωμένο με τρόπο πανομοιότυπο με το(τα) δείγμα(α) ασθενούς με κάθε διαδικασία χρώσης για να επαληθεύσετε την ειδικότητα του πρωτογενούς αντισώματος IHC για επιδείξη 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 εργαστή ως εσωτερικές θέσεις αρνητικού ελέγχου για την επαλήθευση 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 ιδανική περίπτωση, ένας αρνητικός μάρτυρας αντιδραστηρίου περιέχει ένα αντίσωμα που παράγεται και παρασκευάζεται (δηλ. αραιωμένο στην ίδια συγκέντρωση χρησιμοποιώντας το ίδιο αραιωτικό) για χρήση με τον ίδιο τρόπο όπως το πρωτεύον αντίσωμα, αλλά δεν παρουσιάζει ειδική αντιδραστικότητα με ανθρώπινους ιστούς στην ίδια μήτρα/διάλυμα με το Biocare αντίσωμα. Το αραιωτικό μόνο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως λιγότερο επιθυμητή εναλλακτική λύση στα προηγουμένως περιγραφέντα αρνητικά αντιδραστήρια ελέγχου. Η περίοδος επώασης για τον αρνητικό μάρτυρα αντιδραστηρίου πρέπει να αντιστοιχεί σε αυτή του πρωτογενούς αντισώματος.

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

Επαλήθευση δοκιμασίας:

Πριν από την αρχική χρήση ενός αντισώματος ή συστήματος χρώσης σε μια διαγνωστική διαδικασία, ο χρήστης θα πρέπει να επαληθεύσει την ειδικότητα του αντισώματος δοκιμάζοντας το σε μια σειρά εσωτερικών ιστών με γνωστά

ανοσοϊστοχημικά χαρακτηριστικά απόδοσης που αντιπροσωπεύουν γνωστούς θετικούς και αρνητικούς ιστούς. Ανατρέξτε στις διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου που περιγράφηκαν προηγουμένως σε αυτήν την ενότητα του ένθετου προϊόντος και στις συστάσεις ποιοτικού ελέγχου του Προγράμματος πιστοποίησης CAP[®] για την ανοσοϊστοχημεία ή/και της κατευθυντήριας γραμμής NCCLS IHC¹. Αυτές οι διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου θα πρέπει να επαναλαμβάνονται για κάθε νέα παρτίδα αντισωμάτων ή όποτε υπάρχει αλλαγή στις παραμέτρους της ανάλυσης. Οι ιστοί που αναφέρονται στην ενότητα Χαρακτηριστικά απόδοσης είναι κατάλληλοι για επαλήθευση της ανάλυσης.

Αντιμετώπιση προβλημάτων:

Ακολουθήστε τις συστάσεις του ειδικού πρωτοκόλλου 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 2 Mouse AP-Polymer παράγει μια αντίδραση κόκκινου χρώματος στις θέσεις αντιγόνου που εντοπίζονται από το πρωτεύον αντίσωμα. Πριν από την ερμηνεία των αποτελεσμάτων των ασθενών, η χρώση των μαρτύρων πρέπει να αξιολογηθεί από εξειδικευμένο παθολόγο. Οι αρνητικοί μάρτυρες αξιολογούνται και συγκρίνονται με βαμμένες αντικειμενοφόρες πλάκες για να διασφαλιστεί ότι τυχόν χρώση που παρατηρείται δεν είναι αποτέλεσμα μη ειδικών αλληλεπιδράσεων.

Θετικός έλεγχος ιστού:

Ο θετικός μάρτυρας ιστού που έχει χρωματιστεί με ενδεικνυόμενο αντίσωμα θα πρέπει να εξεταστεί πρώτα για να 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.

Το χρώμα του προϊόντος αντίδρασης 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.² 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(α) πρωτόκολλο(α) 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:

Εξετάστε δείγματα ασθενών που έχουν χρωματιστεί με ενδεικνυόμενο αντίσωμα τελευταίος. Η θετική ένταση χρώσης θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο οποιασδήποτε μη ειδικής χρώσης υποβάθρου του αρνητικού

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Greek

BIOCARE
M E D I C A L

αντιδραστηρίου ελέγχου. Όπως με κάθε ανοσοϊστοχημική δοκιμή, ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το αντιγόνο δεν ανιχνεύθηκε, όχι ότι το αντιγόνο απουσίαζε στα κύτταρα/ιστό που προσδιορίστηκαν. Εάν είναι απαραίτητο, χρησιμοποιήστε μια ομάδα αντισωμάτων για τον εντοπισμό ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων.

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

Περιορισμοί:

Γενικοί Περιορισμοί:

1. Για *in vitro* διαγνωστικής (IVD)
2. 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.
3. Για χρήση μόνο με συνταγή γιατρού. (Μόνο Rx)
4. 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 τεχνουργήματα, 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.¹²
5. Η υπερβολική ή ατελής αντιχρώση μπορεί να θέσει σε κίνδυνο τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων.
6. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε θετικής ή αρνητικής χρώσης θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο της κλινικής εικόνας, της μορφολογίας και άλλων ιστοπαθολογικών κριτηρίων. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε θετικής ή αρνητικής χρώσης θα πρέπει να συμπληρώνεται από μορφολογικές μελέτες με χρήση κατάλληλων θετικών και αρνητικών εσωτερικών και εξωτερικών μαρτύρων καθώς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων. Η ερμηνεία όλων των βημάτων που χρησιμοποιούνται για την προετοιμασία και την ερμηνεία του τελικού παρασκευάσματος IHC είναι ευθύνη ενός ειδικευμένου παθολόγου που είναι εξοικειωμένος με τη σωστή χρήση των αντισωμάτων, των αντιδραστηρίων και των μεθόδων IHC.
7. Τα βέλτιστα πρωτόκολλα για μια συγκεκριμένη εφαρμογή μπορεί να διαφέρουν. Αυτά περιλαμβάνουν, ενδεικτικά τη σταθεροποίηση, τη μέθοδο ανάκτησης θερμότητας, τους χρόνους επώασης, την αραίωση αντισωμάτων, το πάχος του τμήματος ιστού και το kit ανίχνευσης που χρησιμοποιείται. Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του πρωτογενούς αντισώματος και άλλων βοηθητικών αντιδραστηρίων για συνιστώμενα πρωτόκολλα και συνθήκες χρήσης. Οι συστάσεις και τα πρωτόκολλα του δελτίου δεδομένων βασίζονται στην αποκλειστική χρήση των προϊόντων Biocare. Τελικά, είναι ευθύνη του ερευνητή να καθορίσει τις βέλτιστες συνθήκες.
8. Αυτό το προϊόν δεν προορίζεται για χρήση στην κυτταρομετρία ροής. Τα χαρακτηριστικά απόδοσης δεν έχουν προσδιοριστεί για την κυτταρομετρία ροής.
9. Οι ιστοί από άτομα μολυσμένα με τον ιό της ηπατίτιδας Β και που περιέχουν επιφανειακό αντιγόνο ηπατίτιδας Β (HBsAg) μπορεί να εμφανίσουν μη ειδική χρώση με υπεροξειδάση χρένου.¹⁴
10. Τα αντιδραστήρια μπορεί να παρουσιάσουν απροσδόκητες αντιδράσεις σε ιστούς που δεν είχαν δοκιμαστεί προηγουμένως. Η πιθανότητα απροσδόκητων αντιδράσεων ακόμη και σε δοκιμασμένες ομάδες ιστών δεν μπορεί να εξαλειφθεί πλήρως λόγω της βιολογικής μεταβλητότητας της έκφρασης αντιγόνου σε νεοπλασμάτα ή άλλους παθολογικούς ιστούς.¹⁵ Επικοινωνήστε με την Τεχνική Υποστήριξη της Biocare στο 1-800-542-2002 ή μέσω των πληροφοριών τεχνικής υποστήριξης που

παρέχονται στο biocare.net, με τεκμηριωμένες απροσδόκητες αντιδράσεις.

11. Φυσιολογικοί/μη-άνοσοι οροί από την ίδια ζωική πηγή με τους δευτερογενείς αντιορούς που χρησιμοποιούνται στα βήματα αποκλεισμού μπορεί να προκαλέσουν ψευδώς αρνητικά ή ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω αυτοαντισωμάτων ή φυσικών αντισωμάτων.
12. Εσφαλμένα θετικά αποτελέσματα μπορεί να παρατηρηθούν λόγω μη ανοσολογικής δέσμευσης πρωτεϊνών ή προϊόντων αντίδρασης 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.¹³
13. Ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το αντιγόνο δεν ανιχνεύτηκε και όχι ότι το αντιγόνο απουσίαζε στα κύτταρα ή στον ιστό που εξετάστηκαν.

Ειδικό περιορισμό 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 ευαισθησία και η ειδικότητα της χρώσης αξιολογήθηκαν σε ένα εύρος τύπων φυσιολογικών και νεοπλασματικών ιστών που αξιολογήθηκαν κατά την ανάπτυξη πρωτογενών αντισωμάτων.

Αναπαραγωγιμότητα:

Η αναπαραγωγιμότητα 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 εξοπλισμό. Η χρώση που 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. Ασθενής 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 (εάν χρησιμοποιούνται προϊόντα ανίχνευσης με βάση τη βιοτίνη), ενδογενής δραστηριότητα HRP που μετατρέπεται το χρωμογόνο σε έγχρωμο τελικό προϊόν (χρήση μπλοκ υπεροξειδάσης) ή υπερβολική αλληλεπίδραση μη ειδικής πρωτεΐνης (χρησιμοποιήστε πρωτεΐνη μπλοκ, όπως ανασταλτικό διάλυμα με βάση τον ορό ή την καζεΐνη).
4. Τα 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, καθώς και οι κατάλληλοι χρόνοι επώασης για όλα τα αντιδραστήρια. Επιπλέον, βεβαιωθείτε ότι το πρωτόκολλο έχει αρκετά βήματα πλύσης για την αφαίρεση της περίσσειας αντιδραστηρίων μετά την ολοκλήρωση των βημάτων επώασης.

Παραπομπές:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Greek

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



Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

39/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Hungarian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Felhasználás:

In *vitro* diagnosztikai használatra

A MACH 2 Mouse AP-polimert manuális vagy automatizált immunhisztokémiai (IHC) festési protokollokhoz szánják alkalikus foszfatáz (AP) polimer egy lépéses alkalmazási módszerrel. Ezt a mikropolimer-detektáló készletet az IHC festési folyamat során a formalinnal rögzített, paraffinba ágyazott (FFPE) szövetekben a céltantigénekhez kötődő egér IgG primer antitestek kimutatására tervezték. Bármely 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 2 Mouse AP-Polymer egy egy lépéses módszert használ az egér primer antitestek kimutatására, és így antitest-enzim komplexet képez. Ezt a komplexet azután megfelelő szubsztrát/kromogén segítségével vizualizáljuk. Az egy lépéses módszerben a mikropolimerhez közvetlenül kapcsolódó másodlagos antitestet alkalmaznak.

Az eljárás elve:

Ez a mikropolimer-detektáló készlet formalinnal fixált, paraffinba ágyazott szövetmetszetek immunhisztokémiai vizsgálatához használható. Általában az immunhisztokémiai (IHC) A festési technikák lehetővé teszik az antigének láthatóvá tételét az a specifikus antitest az antigén ellen (elsődleges antitest), egy másodlagos antitest az elsődleges antitest ellen (opcionális link antitest/próba), egy enzimkomplex és egy kromogén szubsztrát, közbeiktatott mosási lépésekkel. A kromogén enzimaktivitása az antigén helyén látható reakcióterméket eredményez. A minta ezután ellenfesthető, és fedőlemezrel festhető. Az eredményeket fény segítségével értelmezzük mikroszkóppal és segítséget nyújt a kóreltani folyamatok differenciáldiagnózisában, amely lehet, ill nem kapcsolódhat egy adott antigénhez.

Anyagok és módszerek:

Mellékelt reagensek:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 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 IgG nehéz és könnyű láncok

Szállítás:

Pufferolt sóoldat, pH 7,6-7,8, fehérjehordozót és kevesebb, mint 0,01% ProClin 300-at és/vagy kevesebbet tartalmaz 0,5% ProClin 950 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 Szárítószekrény (opcionális)
Xilol vagy xilol helyettesítője
Etanol vagy reagens alkohol
Decloaking kamra* vagy hasonló nyomástartó főzőlap (opcionális)
Ionmentesített vagy deszillált víz
Mosópuffer*
Előkezelő reagensek* (opcionális)
Enzimes emésztés* (opcionális)
Peroxidáz blokk* (opcionális)
Protein blokk* (opcionális)
Elsődleges 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 észlelési rendszeren alapulnak.

Tárolás és stabilitás:

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

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

Minta előkészítés:

formalinban fixált szövetek alkalmasak paraffin beágyazás előtti használatra. A csontszöveteket a szövetfeldolgozás előtt vízköteleníteni kell a szövetvágás megkönnyítése 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 mintatömböket a vizsgálat időpontjától számított legalább két évig.”³

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Hungarian

BIOCARE
M E D I C A L


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 inkonzisztenciát és szabványosítja a festődést. ⁴⁵

Figyelmeztetés és óvintézkedések:

1. A kit reagensek kevesebb, mint 0,05% ProClin 300-at és/vagy kevesebb, mint 1% ProClin 950.-et tartalmaznak. Viseljen kesztyűt és védőruházatot, és a kezelés során tegye meg a megfelelő óvintézkedéseket, mivel a ProClin irritáló anyagként van besorolva, és bőrrel érintkezve túlérzékenységet okozhat. Kerülje a szembe, bőrrel és nyálkahártyákkal való érintkezést.
2. Az emberi vagy állati eredetű anyagokat potenciálisan biológiailag veszélyesként kezelje, és megfelelő óvintézkedésekkel ártalmatlanítsa az ilyen anyagokat. Expozíció esetén kövesse az illetékes hatóságok egészségügyi irányelveit. ⁴⁷
3. A mintákat a rögzítés előtt és után, valamint az ezeknek kitett anyagokat úgy kell kezelni, mintha képesek lennének fertőzést továbbítani, és megfelelő óvintézkedésekkel kell ártalmatlanítani. Soha ne pipettázzon reagenseket szájon át, és kerülje a bőrrel és a nyálkahártyákkal való érintkezést a reagensekkel és a mintákkal. Ha a reagensek vagy a minták érzékeny területekkel érintkeznek, mossa le bő vízzel. ⁸
4. A reagensek mikrobiális szennyeződése a nem specifikus festődés növekedését eredményezheti.
5. A megadottól eltérő inkubációs idők vagy hőmérsékletek hibás eredményeket adhatnak. A felhasználónak minden ilyen változtatást érvényesítenie kell.
6. Ne használja fel a reagenst az injekciós üvegre nyomtatott lejárató idő után.
7. A mikropolimer-detektáló készlet reagense(i) optimalizáltak, és használatra készek a Biocare antitestekkel és kiegészítő reagensekkel. Tekintse meg az elsődleges antitest és más kiegészítő reagens használati útmutatóját az ajánlott protokollokhoz és használati feltételekhez.
8. Kövesse a helyi és/vagy állami hatóságok előírásait az ártalmatlanítás módjára vonatkozóan.
9. Az SDS kérésre elérhető, és a <http://biocare.net> címen.
10. 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 protokollokhoz és használati feltételekhez. Az inkubációs idők és hőmérsékletek a követett specifikus antitest protokolltól függően változnak. Ha automata festőműszert használ, olvassa el az adott műszer kezelési útmutatóját és a használati paramétereket.

Az IHC végrehajtásának általános lépései:

1. Paraffinmentesítés: Paraffinmentesítse a tárgylemezeket Slide Brite-ben vagy xilolban. A lemezeket osztályozott alkoholos sorozatában hidratálja vízzel.

2. Peroxid blokk (opcionális): Blokkolja 5 percig Peroxidázed 1-gyel.
3. Előkezelési oldat/protokoll: Kérjük, olvassa el a megfelelő elsődleges antitest adatlapját 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 adatlapját az inkubációs idővel kapcsolatban.
6. Polimer: Inkubálja 30 percig szobahőmérsékleten MACH 2 Mouse AP-Polymerrel.
7. Kromogén: Inkubálja 5-7 percig szobahőmérsékleten Warp Red-el.
8. Ellenfestés: Ellenfestés hematoxilinnel. Öblítse le ioncserélt vízzel. Alkalmazza a Tacha's Blueing Solution-t 1 percig. Öblítse le ioncserélt vízzel.

Műszaki megjegyzések:

1. A mosási lépésekhez használjon TBS-t. A PBS mosópufferek gátolják az alkalikus foszfatáz festődést.
2. Az endogén peroxidáz blokkolása nem szükséges; a tárgylemezek Peroxidázed 1-be merítése azonban kifizéríti a szöveteket és a vörösvértesteket, ami jobb kontrasztot eredményez az alkalikus foszfatázos festési eljárásokhoz.

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). 2011⁹

Pozitív szövetkontroll: A

külső pozitív kontroll anyagoknak friss mintáknak kell lenniük, amelyeket a lehető leghamarabb rögzítettek, feldolgoztak és beágyaztak, ugyanúgy, mint a páciens mintáit. A pozitív szövetkontroll a megfelelően előkészített szöveteket és a megfelelő festési technikákat jelzi. Minden egyes vizsgálati körülményhez egy pozitív külső szövetkontrollt kell bevonnunk minden festési futtatásba.

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

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

Negatív szövetkontroll:

Használjon negatív szöveti kontrollt, amelyet a beteg mintáival azonos módon rögzítettek, feldolgoztak és beágyaztak minden festési futtatáshoz, hogy ellenőrizzék az IHC elsődleges antitest specifitását a céltípus kimutatása, valamint a specifikus háttérfestődés jelzése (téves pozitív festés). Ezenkívül a legtöbb szövetmetszetben jelenlévő különféle sejttípusok sokfélesége képes a laboratórium belső negatív kontrollhelyként használni az IHC teljesítményének ellenőrzésére specifikációk. A negatív szövetekhez használható minták típusai és forrásai A vezérlőelemek a Teljesítményjellemezők részben találhatóak.

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



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

41/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Hungarian

BIOCARE

M E D I C A L

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 olyan antitestet tartalmaz, amelyet előállítottak és előállítottak (azaz azonos koncentrációra hígítottak ugyanazzal a hígítószerrel) az elsődleges antisszel azonos módon történő felhasználásra, de nem mutat specifikus reaktivitást az emberi szövetekkel 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 használnak a sorozatmetszeteken, akkor az egyik tárgylemez negatívan festő területet negatív/nem specifikus kötődési háttérkontrollként szolgálhatnak más antitestekhez. Az endogén enzimaktivitás vagy az enzimek nem specifikus kötődésének megkülönböztetésére a specifikus immunreaktivitástól további betegszövetek festhetők kizárólag szubsztrát-kromogén vagy enzimkomplexekkel (PAP, avidin-biotin, streptavidin), illetve szubsztrát-kromogénnel.

Vizsgálat ellenőrzése:

Mielőtt egy antitestet vagy festőrendszert diagnosztikai eljárásban használna, a felhasználónak ellenőriznie kell az antitest specifikitását úgy, hogy számos, ismert immunhisztokémiai teljesítményjellemzővel rendelkező, ismert pozitív és negatív szöveteket képviselő házon belüli szöveten teszteli. Tekintse meg a termékismertető e szakaszában korábban felvázolt minőség-ellenőrzési eljárásokat, valamint a CAP Immunhisztokémiai Tanúsítási Program[®] és/vagy az NCCLS IHC-irányelv¹¹. Ezeket a minőség-ellenőrzési eljárásokat meg kell ismételni minden új antitest-tételnél, vagy amikor a vizsgálati paraméterek megváltoznak. A Teljesítményjellemzők részben felsorolt szövetek 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 2 Mouse AP-polimer vörös színű reakciót vált ki az elsődleges antitest által lokalizált antigén helyeken. A betegek eredményeinek értelmezése 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.

Pozitív szövetkontroll:

A jelzett antisszel megfestett pozitív szöveti kontrollt először meg kell vizsgálni, hogy megbizonyosodjunk arról, hogy minden reagens megfelelően működik. A célsejtek megfelelő festése (amint azt fentebb jeleztük) pozitív reaktivitást jelez. Ha a pozitív szöveti kontrollok nem mutatnak pozitív festést, a vizsgálati minták minden eredményét érvénytelennek kell tekinteni.

A reakciótermék színe az alkalmazott szubsztrát kromogénektől függően változhat. A várható színreakcióért lásd az aljzat csomagolását. Ezenkívül a festési módszer változataiban metakromázia figyelhető meg.¹² Ha ellenfestést használunk, a használt ellenfestés inkubációs hosszától és hatékonyságától függően az ellenfestés a sejtmagok elszíneződését eredményezi. A túlzott vagy hiányos ellenfestés veszélyeztetheti az eredmények megfelelő értelmezését. Az ajánlott ellenfestéshez lásd a protokoll(oka)t.

Negatív szöveti kontroll:

A negatív szöveti kontrollt a pozitív szöveti kontroll után meg kell vizsgálni, hogy ellenőrizzük a célantigén elsődleges antitest általi jelölésének specifikitását. 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 szórványos festődése is megfigyelhető. Használjon ép sejteket a festési eredmények értelmezéséhez. A nekrotikus vagy degenerált sejtek gyakran nem specifikusan festődnek.

Betegszövet:

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

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

Korlátozások:

Általános korlátozások:

1. *In vitro* diagnosztikai (IVD) használatra
2. Ez a termék csak professzionális használatra készült: Az immunhisztokémia egy többlépcsős 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, fagyasztás, felolvasztás, 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.¹³
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 kórszöveteti kritériumok összefüggésében kell értékelni. A pozitív vagy negatív festődés klinikai értelmezését megfelelő pozitív és negatív belső és külső kontrollokat, valamint egyéb diagnosztikai teszteket alkalmazó morfológiai vizsgálatokkal kell kiegészíteni. Az IHC antitestek, reagensek és módszerek megfelelő használatát ismerő, szakképzett patológus feladata, hogy értelmezze a végső IHC-készítmény elkészítéséhez és értelmezéséhez használt összes lépést.
7. Egy adott alkalmazáshoz az optimális protokollok változhatnak. Ezek közé tartozik többek között a rögzítés, a hőviszanyerési módszer, az inkubációs idő, az antitesthígítás, 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 kizárólagos felhasználásán alapulnak. Végső soron a vizsgálat feladata az optimális feltételek meghatározása.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

42/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Hungarian

BIOCARE
M E D I C A L

8. Ezt a terméket nem áramlási citometriában való használatra tervezték. Az áramlási citometria teljesítményjellemzőit nem határozták meg.
9. A hepatitis B vírussal fertőzött és hepatitis B felületi antigént (HBsAg) tartalmazó személyek szövetei torna-peroxidázzal nem specifikus festődést mutathatnak.¹⁴
10. A reagensek váratlan reakciókat válthatnak ki korábban nem vizsgált szövetekben. A nem várt reakciók lehetősége még a vizsgált szövetszövetekben sem zárható ki teljesen az antigénexpresszió biológiai variabilitása miatt daganatokban vagy más patológiaszövetekben.¹⁵ 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 immunszérum álnegatív vagy álpozitív eredményeket okozhat az autoantitestek vagy természetes antitestek miatt.
12. A fehérjék vagy szubsztrát reakciótermékek nem immunológiai kötődése miatt álpozitív eredményeket lehet látni. A pszeudo-peroxidáz aktivitás (eritrociták), az endogén peroxidáz aktivitás (citokrom C) vagy az endogén biotin (pl. máj, emlő, agy, vese) is okozhatja a használt immunfestés típusától függően.¹³
13. A negatív eredmény azt jelenti, hogy az antigén nem volt kimutatható, nem pedig azt, hogy az antigén hiányzott a vizsgált sejtekben vagy szövetekben.

Termékspecifikus korlátozások:

Nincsenek további termékspecifikus korlátozások.

Teljesítményjellemzők: A

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

Reprodukálhatóság:

A Biocare érzékelőrendszereinek és rendszerreagenseinek reprodukálhatóságát közepes pontosságú méréssel igazolják, amelyek során különböző reagenstételeket teszteltek hosszabb időn keresztül különböző kezelők, elemzők, reagenstételek, szövetminták és berendezések segítségével. Az egyes kiértékelt kimutatási reagenseknél kapott festődés konzisztens 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 háttér – Magas szintű endogén biotin (biotin alapú kimutatási termékek használata esetén), endogén HRP aktivitás, amely a kromogént színes végtermékké alakítja (használgon peroxidáz blokkot), vagy túl sok nem specifikus fehérje kölcsönhatás (fehérje használata) blokkoló, például szérum- vagy kazein alapú blokkoló oldat).
4. A szövetmetszetek lemosás a tárgylemezeket az inkubáció során – Ellenőrizze a lemezeket, hogy megbizonyosodjon arról, hogy pozitív töltésűek.
5. A specifikus festés túl sötét – Ellenőrizze a protokollt, hogy megállapítsa, megfelelő antitesttitert alkalmaztak-e a tárgylemezen, valamint az összes reagens megfelelő inkubációs idejét. Ezenkívül győződjön meg arról, hogy a protokoll elegendő mosási lépést tartalmaz a felesleges reagensek eltávolításához az inkubációs lépések befejezése után.

References:

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



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

43/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Italian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Uso previsto:

per *in vitro* uso diagnostico

Il MACH 2 Mouse AP-Polymer è destinato all'uso in protocolli di colorazione immunostochimica (IHC) manuale o automatizzata utilizzando un metodo di applicazione monofase del polimero della fosfatasi alcalina (AP). Questo kit di rilevamento di micropolimeri è progettato per il rilevamento di anticorpi primari IgG di topo 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 2 Mouse AP-Polymer è progettato utilizzando un metodo in un'unica fase per rilevare gli anticorpi primari del topo per formare un complesso anticorpo-enzima. Questo complesso viene quindi visualizzato utilizzando un substrato/cromogeno appropriato. Nel metodo one-step viene applicato un anticorpo secondario direttamente legato al micropolimero.

Principio della procedura:

questo kit di rilevamento di micropolimeri può essere utilizzato nei test immunostochimici di sezioni di tessuto fissate in formalina e incluse in paraffina. In generale, immunostochimica (IHC) tecniche di colorazione consentono la visualizzazione degli antigeni tramite l'applicazione sequenziale di a 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 montato sul coprioggetto. 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 Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 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:

immunostochimica (tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina)

Reattività della specie:

catene pesanti e leggere di IgG di topo

Fornito come:

soluzione salina tamponata, pH 7,6-7,8, contenente un vettore proteico e meno dello 0,01% di ProClin 300 e/o meno di 0,5% 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 deoccutamento* 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 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 del campione:

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.^{1,2}

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



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

44/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Italian

BIOCARE
M E D I C A L


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 0,05% di ProClin 300 e/o meno dell'1% di ProClin 950. Indossare guanti e indumenti protettivi e prendere precauzioni ragionevoli durante la manipolazione poiché ProClin è classificato come irritante e può causare sensibilizzazione da contatto con la pelle. Evitare il contatto con occhi, pelle e mucose.
2. Maneggiare i materiali di origine umana o animale come potenzialmente a rischio biologico e smaltire tali materiali con le dovute precauzioni. In caso di esposizione, seguire le direttive sanitarie delle autorità competenti ove utilizzato.^{6,7}
3. I campioni, prima e dopo la fissazione, e tutti i materiali ad essi esposti devono essere maneggiati come se fossero in grado di trasmettere infezioni e smaltiti con le dovute precauzioni. Non pipettare mai i reagenti con la bocca ed evitare il contatto con la pelle e le mucose con reagenti e campioni. Se i reagenti o i campioni entrano in contatto con aree sensibili, lavare con abbondante acqua.⁸
4. La contaminazione microbica dei reagenti può comportare un aumento della colorazione aspecifica.
5. Tempi o temperature di incubazione diversi da quelli specificati possono dare risultati errati. L'utente deve convalidare tali modifiche.
6. Non utilizzare il reagente dopo la data di scadenza stampata sulla fiala.
7. I reagenti del kit di rilevamento dei micropolimeri sono ottimizzati e pronti per l'uso con anticorpi Biocare e reagenti ausiliari. Fare riferimento alle istruzioni per l'uso dell'anticorpo primario e di altri reagenti ausiliari per i protocolli e le condizioni d'uso consigliati.
8. Seguire i requisiti delle autorità locali e/o statali per il metodo di smaltimento.
9. La SDS è disponibile su richiesta e si trova all'indirizzo <http://biocare.net>.
10. Segnalare eventuali incidenti gravi relativi a questo dispositivo contattando il rappresentante Biocare locale e l'autorità competente 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 acquatica. Nocivo per la vita acquatica 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. Idratare 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. Polimero: incubare per 30 minuti a temperatura ambiente con MACH 2 Mouse AP-Polymer.
7. Cromogeno: incubare per 5-7 minuti a temperatura ambiente con Warp Red.
8. 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 per le fasi di lavaggio. I tamponi di lavaggio PBS inibiscono la colorazione della fosfatasi alcalina.
2. Non è richiesto il blocco per la perossidasi endogena; tuttavia, l'immersione dei vetrini in Peroxidized 1 sbianca tessuti e globuli rossi, producendo un contrasto migliore per le procedure di colorazione con fosfatasi alcalina.

Controllo di qualità:

Fare riferimento a Standard di qualità CLSI per la progettazione e l'implementazione di saggi di immunostochimica; Linea guida approvata-Seconda edizione (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁹

Controllo positivo del tessuto:

i materiali di controllo positivo esterno devono essere campioni freschi fissati, processati e 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

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Italian

BIOCARE
M E D I C A L

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 del 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 immunostochimiche note che rappresentano tessuti positivi e negativi noti. Fare riferimento alle procedure di controllo della qualità precedentemente delineate in questa sezione del foglietto illustrativo e alle raccomandazioni sul controllo della qualità del programma di certificazione CAP® per l'immunostochimica e/o della linea guida NCCLS IHC¹¹. 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 test.

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 polimero MACH 2 Mouse AP 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.¹²

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 controcolorazione 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.

Tessuto del paziente:

Esaminare i campioni dei pazienti colorati con l'anticorpo indicato. 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 immunostochimico, 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'immunostochimica 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.¹³
5. Una controcolorazione 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



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

46/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
8627 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Italian

BIOCARE
M E D I C A L

- 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.
- 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 e i protocolli della scheda tecnica si basano sull'uso esclusivo dei prodotti Biocare. In definitiva, è responsabilità dell'investigatore determinare le condizioni ottimali.
 - Questo prodotto non è destinato all'uso in citometria a flusso. Le caratteristiche prestazionali non sono state determinate per la citometria a flusso.
 - 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.¹⁴
 - 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.¹⁵ Contattare il supporto tecnico di Biocare al numero 1-800-542-2002 o tramite le informazioni di supporto tecnico fornite su biocare.net, con reazioni inattese documentate.
 - 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.
 - 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.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 apparecchiature. La colorazione ottenuta per ciascun reagente di rilevamento valutato era coerente ed eseguita come previsto.

Risoluzione dei problemi:

- 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.
- Colorazione debole di tutti i vetrini – Verificare che siano stati utilizzati tessuto di controllo positivo appropriato, anticorpi e prodotti di rilevamento.

- 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).
- Le sezioni di tessuto si lavano via dai vetrini durante l'incubazione – Controllare i vetrini per assicurarsi che siano caricati positivamente.
- Colorazione specifica troppo scura – Verificare 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:

- Kiernan JA. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*. New York: Pergamon Press 1981.
- Sheehan DC and Hrapchak BB. *Theory and Practice of Histotechnology*. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
- Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
- Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. *J Histotechnol*. 1999 Sep;22(3):177-92.
- Taylor CR, et al. *Biotech Histochem*. 1996 Jan;71(5):263-70.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- 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.
- 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.
- 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
- College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. <http://www.cap.org> (800) 323-4040.
- 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.
- Koretz 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.
- Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. *Lab Med* 1983; 14:767.
- 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.
- 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

47/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Latvian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Paredzētais lietojums:

In *vitro* diagnostikai

MACH 2 Mouse AP-Polymer ir paredzēts lietošanai manuālos vai automatizētos imūnhistoķīmijas (IHC) krāsošanas protokolos, izmantojot sārmainās fosfatāzes (AP) polimēra vienpakāpes uzklāšanas metodi. Šis mikropolimēru noteikšanas komplekts ir paredzēts peles IgG primāro antivielu noteikšanai, kas saistītas ar mērķa antigēniem formalinā fiksētos, parafinā iestrādātos (FFPE) audos IHC krāsošanas procesa laikā. Jebkuras iekrāsošanās vai tās neesamības klīniskā interpretācija jāpapildina ar morfoloģiskiem pētījumiem un atbilstošām kontrolēm, un tā jānovērtē pacienta klīniskās vēstures un citu diagnostisko testu kontekstā, ko veic kvalificēts patologs.

un skaidrojums:

Kopsavilkums MACH 2 Mouse AP-Polymer ir izstrādāts, izmantojot vienpakāpes metodi, lai noteiktu peles primārās antivielas, lai izveidotu antivielu-enzīmu kompleksu. Pēc tam šo kompleksu vizualizē, izmantojot atbilstošu substrātu/hromogēnu. Vienpakāpes metodē tiek izmantota sekundāra antiroma, kas ir tieši saistīta ar mikropolimēru.

Procedūras princips:

Šo mikropolimēru noteikšanas komplektu var izmantot formalinā fiksētu, parafinā iestrādātu audu sekciju imūnhistoķīmiskajā testēšanā. Kopumā imūnhistoķīmiskā (IHC) krāsošanas metodes ļauj vizualizēt antigēnus, secīgi pielietojot a specifisku antiroma pret antigēnu (primārā antiroma), sekundārā antiroma pret primāro antiroma (neobligāta saite antiroma/zonde), enzīmu komplekss un hromogēns substrāts ar starplikām mazgāšanas soļiem. Hrogēna fermentatīvā aktivizēšana rada redzamu reakcijas produktu antiroma vietā. Pēc tam paraugu var iekrāsot un pārklāt ar vāku. Rezultāti tiek interpretēti, izmantojot gaismu mikroskopu un palīgīdzekli patofizioloģisko procesu diferenciāldiagnozē, kas var vai var nebūt saistīts ar noteiktu antiroma.

Materiāli un metodes:

Sniegtie reaģenti:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 mL

Atšķaidīšana, sajaukšana, atšķaidīšana, titrēšana:

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

Zināmais pielietojums:

imūnhistoķīmija (formalinā fiksēti parafinā iestrādāti audi)

Sugas Reaktivitāte:

Peļu IgG smagās un vieglās ķēdes

Piegādāts kā:

Bufērēts sāls šķīdums, pH 7,6-7,8, kas satur proteīna nesēju un mazāk nekā 0,01% ProClin 300 un/vai mazāk nekā 0,5% ProClin 950 kā konservants. Papildinformāciju skatiet drošības datu lapā.

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

mikroskopa priekšmetstikliņi, pozitīvi lādēti
Pozitīvā un negatīvā audu kontrole
Tuksneša kamera* vai līdzīga žvēšanas krāns (pēc izvēles)
Ksilola vai ksilola aizstājējs
Etanols vai reaģenta spirts
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 antiroma*
Negatīvie kontroles reaģenti*
*
Hematoksilīns* (pretkrāsojums)
Zilošanas reaģents*
Montāžas vide*
Segstikla
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 uzskaitītie reaģenti ir balstīti uz īpašu pielietojumu un izmantoto noteikšanas sistēmu.

Uzglabāšana un stabilitāte:

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

Pozitīvās 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 antiromām, sazinieties ar Biocare tehnisko atbalstu pa tālruni 1-800-542-2002 vai izmantojot tehniskā atbalsta informāciju, kas sniegta vietnē biocare.net.


Paraugu sagatavošana:

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

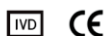
Pareizi fiksēti un iestrādāti audi, kas ekspresē norādīto antiroma mērķi, jāuzglabā vēsā vietā. 1988. gada Klīniskās laboratorijas uzlabošanas likumā (CLIA) 42. CFR § 493.1259(b) ir noteikts, ka "laboratorijai ir jāslabā iekrāsotie priekšmetstikliņi vismaz desmit gadus no datuma, kad pārbaudi un slabā 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 nekonskvenci un standartizē krāsošanu.^{4,5}

 Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

48/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123


Latvian

BIOCARE
M E D I C A L

Būdinājums un piesardzības pasākumi:

1. Komplekta reaģenti satur mazāk par 0,05% ProClin 300 un/vai mazāk par 1% ProClin 950. Valkājiet cimdsus un aizsargtērpu un ievērojiet saprātīgus piesardzības pasākumus, rīkojoties, jo ProClin ir klasificēts kā kairinošs un var izraisīt ādas kontakta sensibilizāciju. Izvairieties no saskares ar acīm, ādu un glotādām.
2. Rīkojieties ar cilvēku vai dzīvnieku izcelsmes materiāliem kā potenciāli bioloģiski bīstamiem un atbrīvojieties no šādiem materiāliem, ievērojot atbilstošus piesardzības pasākumus. Iedarbības gadījumā ievērojiet atbilstošu iestāžu norādījumus par veselību, ja tas tiek lietots.^{6,7}
3. Paraugi pirms un pēc fiksācijas un visi tiem pakļautie materiāli ir jārikojas tā, it kā tie varētu pārnēsāt infekciju, un jāiznīcina, ievērojot atbilstošus piesardzības pasākumus. Nekad nepieņemiet reaģentus iekšīgi un izvairieties no saskares ar ādu un glotādām ar reaģentiem un paraugiem. Ja reaģenti vai paraugi nonāk saskarē ar jutīgām zonām, nomazgājiet ar lielu ūdens daudzumu.⁸
4. Reaģentu piesārņojums ar mikrobiem var izraisīt nespecifiskas iekrāsošanās palielināšanos.
5. Inkubācijas laiki vai temperatūra, kas nav norādīta, var sniegt kļūdainus rezultātus. Lietotājam ir jāapstiprina visas šādas izmaiņas.
6. Nelietot reaģentu pēc derīguma termiņa beigām, kas norādīts uz flakona.
7. Mikropolimēru noteikšanas komplekta reaģents(-i) ir optimizēti un gatavi lietošanai ar Biocare antivielām un palīgreaģentiem. Ieteiktos lietošanas protokolus un nosacījumus skatiet primāro antivielu un citu palīgreaģentu lietošanas instrukcijās.
8. Ievērojiet vietējo un/vai valsts iestāžu prasības par iznīcināšanas metodi.
9. SDS ir pieejams pēc pieprasījuma un atrodas <http://biocare.net>.
10. Ziņojiet par visiem nopietniem ar šo ierīci saistītiem incidentiem, sazinoties ar vietējo Biocare pārstāvi un attiecīgās dalībvalsts vai valsts, kurā atrodas lietotājs, kompetento iestādi.

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

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

Lietošanas instrukcijas:

Mikropolimēru noteikšanas komplekta reaģents(-i) ir optimizēts(-i) un gatavs lietošanai kopā ar Biocare antivielām un palīgreaģentiem. Ieteiktos lietošanas protokolus un nosacījumus skatiet primāro antivielu un citu palīgreaģentu lietošanas instrukcijās. Inkubācijas laiki un temperatūras mainīsies atkarībā no konkrētā antivielu protokola.

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

Vispārīgi procedūras soli IHC veikšanai:

1. Deparafinēšana: deparafinējiet priekšmetstiklīņus Slide Brite vai ksilolā. Hidrējiet priekšmetstiklīņus vairākos šķīrotos spirtos līdz ūdenim.
2. Peroksīda bloks (pēc izvēles): blokējiet 5 minūtes ar peroksīdētu 1.
3. Priekšapstrādes šķīdums/protokols: lūdzu, skatiet attiecīgo primāro antivielu datu lapu, lai uzzinātu par ieteicamo pirmapstrādes šķīdumu un protokolu.
4. Proteīna bloks (pēc izvēles): inkubējiet 5–10 minūtes istabas temperatūrā (RT) ar Background Punisher.
5. Primārā anti-anti-anti: lūdzu, skatiet attiecīgo primāro antivielu datu lapu, lai uzzinātu inkubācijas laiku.

6. Polimērs: Inkubējiet 30 minūtes RT ar MACH 2 Mouse AP-Polymer.
7. Hromogēns: inkubēt 5-7 minūtes RT ar Warp Red.
8. Pretkrāsojums: pretkrāsojums ar hematoksilīnu. Noslaukiet ar dejonizētu ūdeni. Uzklājiet Tacha's Bluing Solution 1 minūti. Noslaukiet ar dejonizētu ūdeni.

Tehniskas piezīmes:

1. Mazgāšanas šļiem izmantojiet TBS. PBS mazgāšanas buferi kavē sārmainās fosfatāzes krāsošanos.
2. endogēnās peroksīdāzes blokēšana nav nepieciešama; tomēr, iegremdējot priekšmetstiklīņus Peroxidized 1, tiek izbalināti audi un sarkanās asins šūnas, kas rada labāku kontrastu sārmainās fosfatāzes krāsošanas procedūrām.

Kvalitātes kontrole:

skatiet CLSI kvalitātes standartus imūnhistokīmijas testu izstrādei un ieviešanai; Apstiprināts vadlīniju otrais izdevums (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁹

Positīvo 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 rada vāju pozitīvu krāsojumu. Zemais pozitīvātes līmenis ārējām pozitīvām kontrolēm ir izstrādāts tā, lai nodrošinātu smalku primāro antivielu jutības izmaiņu noteikšanu no nestabilitātes vai problēmām ar IHC metodoloģiju. Tirdzniecībā pieejamie audu kontroles priekšmetstiklīņi vai paraugi, kas apstrādāti atšķirīgi no pacienta parauga(-iem), apstiprina tikai reaģenta darbību un nepārbauda audu sagatavošanu.

Zināmas pozitīvās audu kontroles ir jāizmanto tikai apstrādāto audu un testa reaģentu pareizas darbības uzraudzībai, nevis kā palīgizvēles konkrētas pacienta paraugu diagnozes formulēšanā. Ja pozitīvās audu kontroles neizdodas uzkrāt 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). Arī dažādu šūnu tipu dažādība, kas atrodas lielākajā daļā audu sekciju, var laboratorijā izmantos kā iekšējās negatīvās kontroles vietas, lai pārbaudītu IHC darbību specifiskācijās. Paraugu veidi un avoti, ko var izmantot negatīviem audiem vadīklas ir uzskaitītas sadaļā Veiktspējas raksturlielumi.

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

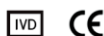
Nespecifiskā negatīvā reaģenta kontrole:

izmantojiet nespecifisku negatīvu reaģenta kontroli primārās antivielas vietā ar katra pacienta parauga sekciju, lai novērtētu nespecifisku iekrāsošanos un ļautu labāk interpretēt specifisko krāsojumu antigēna vietā. Ideālā gadījumā negatīvā reaģenta kontrole satur antivielu, kas ražota un sagatavota (tī, atšķaidīta līdz tādai pašai koncentrācijai, izmantojot to pašu šķīdinātāju) lietošanai tādā pašā veidā kā primārā anti-anti-anti, bet tai nav specifiskas reaktivitātes ar cilvēka audiem tajā pašā matricā/šķīdumā kā Biocare anti-anti-anti. Atšķaidītāju vienu pašu var izmantot kā mazāk vēlamu alternatīvu iepriekš aprakstītajām negatīvajām reaģentu kontrolēm. Negatīvā reaģenta kontroles inkubācijas periodam jāatbilst primārās antivielas inkubācijas periodam.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

49/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Latvian

BIOCARE
M E D I C A L

Ja sērijveida sekcijās tiek izmantoti vairāku antiviēlu paneli, viena priekšmetstiklīna negatīvi iekrāsotie apgabali var kalpot kā negatīva/neprecīza saistīšanās fona kontrole citām antiviēlām. Lai atšķirtu endogēno enzīmu aktivitāti vai neprecīzu enzīmu saistīšanos no specifiskās imūnreaktivitātes, papildu pacienta audus var iekrāsot tikai ar substrāta-hromogēna vai enzīmu kompleksiem (PAP, avidīns-biotīns, streptavidīns) un substrāta-hromogēnu, attiecīgi.

Testa pārbaude:

pirms antiviēlas vai krāsošanas sistēmas sākotnējās izmantošanas diagnostikas procedūrā, lietotājam jāpārbauda antiviēlas specifika, pārbaudot to uz vairākiem iekšējiem audiem ar zināmiem imūnhistoķīmiskās veikspējas raksturlielumiem, kas atspoguļo zināmus pozitīvus un negatīvus audus. Skatiet kvalitātes kontroles procedūras, kas iepriekš izklāstītas šajā produkta ievietošanas sadaļā, un CAP sertifikācijas programmas¹⁰ imūnhistoķīmijas kvalitātes kontroles ieteikumus un/vai NCCLS IHC vadlīnijas¹¹. Šīs kvalitātes kontroles procedūras jāatkārto katrai jaunai antiviēlu partijai vai ikreiz, kad notiek izmaiņas testa parametros. Testa pārbaudei ir piemēroti audi, kas norādīti sadaļā Veikspējas raksturojums.

Traucējummeklēšana:

ievērojiet antiviēlu 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 2 Mouse AP-polimērs rada sarkanās krāsas reakciju antigēna vietās, ko lokalizē primārā antiviēla. Pirms pacienta rezultātu interpretācijas kvalificētam patologam ir jānovērtē kontroles iekrāsošanās. Negatīvās kontroles tiek novērtētas un salīdzinātas ar iekrāsotajiem priekšmetstiklīniem, lai nodrošinātu, ka novērotā iekrāsošanās nav nespecifiskas mijiedarbības rezultāts.

Pozitīvā audu kontrole:

Vispirms ir jāpārbauda pozitīvā audu kontrole, kas iekrāsota ar norādīto antiviēlu, lai pārliecinātos, ka visi reaģenti darbojas pareizi. Atbilstoša mērķa šūnu krāsošana (kā norādīts iepriekš) liecina par pozitīvu reaktivitāti. Ja pozitīvās 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. Turklāt metahromāziju var novērot krāsošanas metodes variācijās.¹²

Ja tiek izmantots pretkrāsojums, atkarībā no inkubācijas ilguma un izmantotā pretkrāsojuma stipruma, pretkrāsošana izraisīs šūnu kodolu iekrāsošanos. Pārmērīga 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 antiviēlas mērķa antigēna marķēšanas specifiku. Specifiskas iekrāsošanās trūkums negatīvajā audu kontrolē apstiprina antiviēlu 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 pārmērīgi formalīna fiksētiem audiem. Krāsošanas rezultātu interpretācijai izmantojiet neskartas šūnas. Nekrotiskas vai deģenerētas šūnas bieži krāsojas nespecifiski.

Pacienta audi:

Pārbaudiet pacientu paraugus, kas iekrāsoti ar norādītajām antiviēlām Pēdējais. Pozitīvā krāsošanas intensitāte jānovērtē saistībā ar jebkuru nespecifisku negatīvā reaģenta kontroles fona krāsojumu. Tāpat kā ar jebkuru imūnhistoķīmisko testu, negatīvs rezultāts nozīmē, ka antigēns nav konstatēts, nevis antigēna nebija pārbaudītajās šūnās/audiem. Ja nepieciešams, izmantojiet antiviēlu paneli, lai identificētu viltus negatīvas reakcijas.

Lai iegūtu specifisku informāciju par norādīto antiviēlu imūnreaktivitāti, skatiet kopsavilkumu un skaidrojumu, ierobežojumus un veikspējas raksturlielumus.

Ierobežojumi:

Vispārīgi ierobežojumi:

1. tikai *In vitro* diagnostikai (IVD)
2. profesionālai lietošanai: Imūnhistoķīmija ir daudzpakāpju diagnostikas process, kas sastāv no specializētas apmācības atbilstošu reaģentu izvēlē; audu atlase, fiksācija un apstrāde; IHC priekšmetstiklīna sagatavošana; un krāsošanas rezultātu interpretācija.
3. Lietošanai tikai pēc ārsta receptes. (Tikai Rx)
4. Adu krāsošana ir atkarīga no audu apstrādes un apstrādes pirms krāsošanas. Nepareiza fiksācija, sasaldēšana, atkausēšana, mazgāšana, žāvēšana, karsēšana, sadalīšana vai piesārņošana ar citiem audiem vai šķidrumiem var radīt artefaktus, antiviēlu slazdošanu vai viltus negatīvus rezultātus. Nekonsekventi rezultāti var būt fiksācijas un iegulšanas metožu atšķirību dēļ vai audos raksturīgu nelīdzenumu dēļ.¹³
5. Pārmērīga vai nepilnīga pretkrāsošana var apdraudēt pareizu rezultātu interpretāciju.
6. Jebkuras pozitīvas vai negatīvas iekrāsošanās klīniskā interpretācija jānovērtē klīniskā attēla, morfoloģijas un citu histopatoloģisku kritēriju kontekstā. Jebkuras pozitīvas vai negatīvas iekrāsošanās klīniskā interpretācija jāpapildina ar morfoloģiskiem pētījumiem, izmantojot atbilstošus pozitīvus un negatīvus iekšējos un ārējos kontroles testus, kā arī citus diagnostikas testus. Kvalificēts patologs, kurš ir iepazinies ar pareizu IHC antiviēlu, reaģentu un metožu lietošanu, ir atbildīgs, lai interpretētu visas darbības, kas izmantotas, lai sagatavotu un interpretētu galīgo IHC preparātu.
7. Optimālie protokoli konkrētai lietojumprogrammai var atšķirties. Tie ietver (bet ne tikai) fiksāciju, siltuma iegūšanas metodi, inkubācijas laikus, antiviēlu atšķaidīšanu, audu sekcijas biežumu un izmantoto noteikšanas komplektu. Ieteiktos lietošanas protokolus un nosacījumus skatiet primāro antiviēlu un citu palīgreaģentu 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 raksturlielumi nav noteikti.
9. Audos no personām, kas inficētas ar B hepatīta vīrusu un satur B hepatīta vīrusa antigēnu (HBsAg), var būt nespecifiska iekrāsošanās ar mārurku peroksīdāzi.¹⁴
10. Reaģenti var parādīt negaidītas reakcijas iepriekš nepārbaudītos audos. Negaidītu reakciju iespējamību pat pārbaudītajās audu grupās nevar pilnībā novērst antigēnu ekspresijas bioloģiskās variabilitātes dēļ jaunveidojumos vai citos patoloģiskos audos.¹⁵ Saņemiet ar Biocare tehnisko atbalstu pa tālruni 1-800-542-2002 vai izmantojot tehniskā atbalsta informāciju, kas sniegta vietnē biocare.net, norādot dokumentētu(-ām) negaidītu(-ām) reakciju(-ām).
11. Normāli/neimūnie serumi no tā paša dzīvnieku izcelsmes avota kā sekundārie antiserumi, ko izmanto bloķēšanas posmos, var izraisīt kļūdaini negatīvus vai kļūdaini pozitīvus rezultātus autoantiviēlu vai dabisko antiviēlu dēļ.
12. Kļūdaini pozitīvus rezultātus var redzēt proteīnu vai substrāta reakcijas produktu neimunoloģiskas saistīšanās dēļ. Tos var izraisīt arī

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Latvian

BIOCARE
M E D I C A L

pseudoperoxidāzes aktivitāte (eritrocīti), endogēna peroksīdāzes aktivitāte (citohroms C) vai endogēns biotīns (piemēram, aknas, krūts, smadzenes, nieres) atkarībā no izmantotā imūnkārtas veida.¹³

13. Negatīvs rezultāts nozīmē, ka antigēns nav konstatēts, nevis to, ka pārbaudītajās šūnās vai audos antigēna nebija.

Produkta specifiskie ierobežojumi:

nav papildu produktu specifisku ierobežojumu.

Veiktspējas 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 reaģentu reproducējamība tiek pārbaudīta, veicot vidējās precizitātes mērījumu, kurā dažādas reaģentu partijas tika pārbaudītas ilgākā laika periodā, izmantojot dažādus operatorus, analītiskus, reaģentu partijas, audu paraugus un aprīkojumu. Katram novērtētajam noteikšanas reaģentam iegūtā krāsošana bija konsekventa un tika veikta, kā paredzēts.

Problēmu novēršana:

1. priekšmetstikliņi nav iekrāsoti – pārbaudiet, lai noteiktu, vai ir izmantoti atbilstoši pozitīvās kontroles audi, antivielas un noteikšanas produkti. Pārbaudiet, vai vaska noņemšana vai pirmapstrāde nav veikta pilnībā vai nepareizi.
2. Vāja visu priekšmetstikliņu krāsošana – pārbaudiet, lai noteiktu, vai ir izmantoti atbilstoši pozitīvās kontroles audi, antivielas un noteikšanas produkti.
3. Pārmērīgs visu priekšmetstikliņu fons — var būt augsts endogēnā biotīna līmenis (ja izmanto noteikšanas produktus uz biotīna bāzes), endogēna HRP aktivitāte, kas pārvērš hromogēnu krāsainā galaproduktā (izmantojiet peroksīdāzes bloku) vai pārmērīga nespecifiskā proteīna mijiedarbība (izmantojiet proteīnu). blokādi, piemēram, bloķējošs šķīdums uz seruma vai kazeīna bāzes).
4. Audu sekcijas nomazgā priekšmetstikliņus inkubācijas laikā – pārbaudiet priekšmetstikliņus, lai pārliecinātos, ka tie ir pozitīvi uzlādēti.
5. Īpaša krāsošanās ir pārāk tumša – pārbaudiet protokolu, lai noteiktu, vai priekšmetstikliņiem ir piemērots pareizs antivielu titrs, kā arī pareizu visu reaģentu inkubācijas laiku. Turklāt pārliecinieties, ka protokolā ir pietiekami daudz mazgāšanas soļu, 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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.

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



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

51/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Lithuanian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Numatytas naudojimas:

Diagnostikai *in vitro*

MACH 2 Mouse AP-Polymer yra skirtas naudoti rankiniu arba automatinu imunohistocheminiu (IHC) dažymo protokolu, naudojant šarminės fosfatazės (AP) polimero vieno etapo taikymo metodą. Šis mikropolimero aptikimo rinkinys skirtas pelių IgG pirminiams antikūnams, susietiems su tiksliniais antigenais formalinu fiksuotuose, į parafiną įterptuose (FFPE) audiniuose IHC dažymo proceso metu, aptikti. Klinikinį bet kokio dažymo ar jo nebuvimo aiškinimą turėtų papildyti morfologiniai tyrimai ir tinkama kontrolė, o kvalifikuotas patologas turi įvertinti paciento klinikinę istoriją ir kitus diagnostinius tyrimus.

Santrauka ir paaiškinimas:

MACH 2 Mouse AP-Polymer sukurtas naudojant vienpakopį pelės pirminių antikūnų aptikimo metodą, 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.

Procedūros principas:

Šis mikropolimero aptikimo rinkinys gali būti naudojamas formalinu fiksuotų, parafinu įterptų audinių pjūvių imunohistocheminiams tyrimams. Apskritai imunohistocheminis (IHC) dažymo metodai leidžia vizualizuoti antigenus nuosekliai taikant a specifinis antikūnas prieš antigeną (pirminis antikūnas), antrinis antikūnas prieš pirminį antikūną (neprivalomas antikūnas/zondas), fermentų kompleksas ir chromogeninis substratas su tarpinėmis plovimo etapais. Dėl fermentinio chromogeno aktyvavimo antigeno vietoje susidaro matomas reakcijos produktas. Tada mėginys gali būti nudažytas ir padengtas dangteliu. Rezultatai interpretuojami naudojant lemputę mikroskopu ir pagalba diferencinei patofiziologinių procesų diagnostikai, kurie gali arba gali būti nesusiję su konkrečiu antigenu.

metodai

reagentai

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 mL

, 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.

Žinomi pritaikymo būdai:

Imunohistochemija (formalinu fiksuoti parafinu įterpti audiniai)

Rūšis Reaktyvumas:

Pelės IgG sunkiosios ir lengvosios grandinės

Tiekiami kaip:

Buferinis druskos tirpalas, pH 7,6-7,8, kuriame yra baltymų 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 stikleliai, teigiamai įkrauti
Teigiami ir neigiami audinių kontroliniai
Dykumos
.
ir
* arba panašiai
kamera
Plovimo buferis*
Išankstinio apdoravimo reagentai* (neprivaloma)
Virškinimas fermentais* (nebūtina)
Peroksidazės blokas* (nebūtina)
Baltymų blokas* (nebūtina)
Pirminis antikūnas*
Neigiami kontroliniai reagentai*
Chromogenai*
Hematoksilinas* (prieš dažai)
Pamėlynavimo reagentas*
Montavimo terpė*
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 20°C iki 8°C temperatūroje. Laikant tokiomis sąlygomis, produktas yra stabilus iki galiojimo datos, nurodytos ant buteliuko etiketės. Nenaudoti pasibaigus tinkamumo laikui. Turi būti patikrintas saugojimas bet kokiomis kitokiomis sąlygomis nei nurodytos. Rinkinio reagentas (-ai) yra paruoštas (-i) naudoti ir neturėtų būti skiedžiamas. Biocare nenustatė vartotojo praskiesto reagento stabilumo.

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

Mėginio paruošimas:

audiniai fiksuoti formalinu tinka naudoti prieš įterpiant į parafiną. Kauliniai audiniai turi būti nukalkinti prieš audinių apdorojimą, kad būtų lengviau nupjauti audinį ir nepažeisti mikrotomo ašmenų.^{1,2}

Tinkamai fiksuoti 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 iširti ir saugoti mėginių blokus mažiausiai dvejus metus nuo tyrimo datos.“³

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Lithuanian

BIOCARE
M E D I C A L


Audinių apdorėjimas prieš dažymą:

atlikite šilumos sukeltą epitopų paiešką (HIER) pagal toliau rekomenduojamą protokolą. Įrodyta, kad įprastas HIER naudojimas prieš IHC sumažina nenuoseklumą ir standartizuoja dažymą.⁴⁵

Įspėjimas ir atsargumo priemonės:

1. Rinkinio reagentų sudėtyje yra mažiau nei 0,05 % ProClin 300 ir (arba) mažiau nei 1 % ProClin 950. Mūvėkite pirštines, dėvėkite apsauginius drabužius ir imkitės pagrįstų atsargumo priemonių, nes ProClin yra klasifikuojamas kaip dirginantis ir gali sukelti odos kontaktą. Vengti patekimo į akis, odą ir gleivines.
2. Žmonių arba gyvūninės kilmės medžiagas tvarkykite kaip potencialiai biologiškai pavojingas ir šalinkite tokias medžiagas laikydamiesi tinkamų atsargumo priemonių. Poveikio atveju laikykitės atsakingų institucijų, kuriose naudojamas, sveikatos nurodymų.⁶⁷
3. Mėginiai prieš ir po fiksavimo bei visos su jais paveiktos medžiagos turi būti tvarkomos taip, lyg galėtų perduoti infekciją, ir sunaikintos laikantis tinkamų atsargumo priemonių. Niekada nepilkite reagentų pipete per burną ir venkite reagentų bei mėginių sąlyčio su oda ir gleivinėmis. Jei reagentai ar mėginiai pateko į jautrias vietas, nuplaukite dideliu kiekiu vandens.⁶
4. Mikrobis reagentų užteršimas gali padidinti nespecifinį dažymą.
5. Kitos nei nurodytos inkubacijos trukmės arba temperatūros rezultatai gali duoti klaidingus rezultatus. Vartotojas turi patvirtinti visus tokius pakeitimus.
6. Nenaudokite reagento pasibaigus tinkamumo laikui, nurodytam ant buteliuko.
7. Mikropolimero aptikimo rinkinio reagentas (-ai) yra optimizuotas (-i) ir paruoštas naudoti su Biocare antikūnais ir pagalbiniais reagentais. Rekomenduojamus protokolus ir naudojimo sąlygas žr. pirminio antikūno ir kitų pagalbinių reagentų naudojimo instrukcijose.
8. Laikykitės vietinių ir (arba) valstybinių institucijų reikalavimų dėl šalinimo būdų.
9. SDS galima gauti paprašius ir jis yra adresu <http://biocare.net>.
10. Praneškite apie visus rimtus incidentus, susijusius su šiuo prietaisu, susisiekę su vietiniu Biocare atstovu ir atitinkama valstybės narės arba 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 ilgalaikius 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 pagalbinių 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 atlikimo procedūriniai žingsniai:

1. Deparafinizavimas: Deparafinuokite stiklelius Slide Brite arba ksilene. Hidratuokite stiklelius rūšiuotų alkoholių serijoje iki vandens.
2. Peroksido blokas (neprivaloma): blokuokite 5 minutes su Peroxidazed 1.

3. Pirminio apdorėjimo tirpalas / protokolai: rekomenduojamą pirminio apdorėjimo tirpalą ir protokolą žr. atitinkamo pirminio antikūno duomenų lape.
4. Baltymų blokas (nebūtina): inkubuokite 5-10 minučių kambario temperatūroje (RT) su Background Punisher.
5. Pirminis antikūnas: Inkubacijos laiką žr. atitinkamo pirminio antikūno duomenų lape.
6. Polimeras: inkubuokite 30 minučių kambario temperatūroje su MACH 2 Mouse AP-Polymer.
7. Chromogenas: inkubuokite 5–7 minutes kambario temperatūroje su Warp Red.
8. Priešdažas: priešdažis su hematoksilinu. Nuplaukite dejonizuotu vandeniu. Taikyti Tacha's Bluing tirpalą 1 minutę. Nuplaukite dejonizuotu vandeniu.

Techninės pastabos:

1. Skalavimo etapams naudokite TBS. PBS plovimo buferiai slopins šarminės fosfatazės dažymą.
2. Endogeninės peroksidadės blokavimas nereikalingas; tačiau panardinus stiklelius į Peroxidazed 1, audiniai ir raudonieji kraujai kūneliai balinami, todėl šarminės fosfatazės dažymo procedūroms gaunamas geresnis kontrastas.

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). 2011⁶

Teigiamų audinių kontrolė:

Išorinės teigiamos kontrolės medžiagos turi būti švieži mėginiai, užfiksuoti, apdoroti ir kuo greičiau įterpti tokiu pačiu būdu, kaip ir paciento mėginys (-iai). Teigiamas audinių kontrolė rodo tinkamai paruoštus audinius ir tinkamą dažymo būdus. Į kiekvieną dažymo eigą turėtų būti įtraukta viena teigiama išorinio audinio kontrolė kiekvienam tyrimo sąlygų rinkiniui.

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

Žinomos teigiamos audinių kontrolės priemonės turėtų būti naudojamos tik norint stebėti tinkamą apdorotų audinių ir tiriamųjų reagentų veikimą, o ne kaip pagalbinė priemonė nustatant konkrečią paciento mėginių diagnozę. Jei teigiami audinių kontroliniai mėginiai neparodo teigiamo dažymosi, bandinių rezultatai turėtų būti laikomi negaliojančiais.

Neigiamų audinių kontrolė:

naudokite neigiamą audinių kontrolę, fiksuotą, apdorotą ir įterptą identiška paciento mėginiui (-iams) kiekvieną dažymo ciklą, kad patikrintumėte IHC pirminio antikūno specifškumą. tikslnio antigeno demonstravimas ir specifinio fono dažymo požymis (klaidingai teigiamas dažymas). Be to, daugumoje audinių sekcijų gali būti įvairių tipų ląstelių Laboratorijos gali naudoti kaip vidines neigiamos kontrolės vietas, kad patikrintų IHC veikimą specifškumas. Mėginių, kurie gali būti naudojami neigiamiems audiniams, tipai ir šaltiniai valdikiškai išvardyti skyriuje Veikimo charakteristikos.

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

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Lithuanian

BIOCARE
M E D I C A L

Nespecifinio neigiamo reagento kontrolė:

vietoj pirminio antikūno naudokite nespecifinio neigiamo reagento kontrolę su kiekvieno paciento mėginio dalimi, kad įvertintumėte nespecifinį dažymąsi ir galėtumėte

geriau interpretuoti specifinį dažymąsi antigeno vietoje. Idealiu atveju neigiamą reagento kontrolę sudaro antikūnas, pagamintas ir 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 audiniais toje pačioje matricoje / tirpale kaip ir Biocare antikūnas. Vien tik skiediklis gali būti naudojamas kaip mažiau pageidautina anksčiau aprašytų neigiamų reagentų kontrolės alternatyva. Neigiamo reagento kontrolės inkubacinis laikotarpis turi atitikti 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 audiniai gali būti nudažyti tik atitinkamai substrato-chromogeno arba fermentų kompleksais (PAP, avidino-biotino, streptavidino) ir substrato-chromogenu.

Tyrimo patikra:

prieš pradėdamas naudoti antikūną 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 informacinio lapelio skyriuje, ir BŽŪP sertifikavimo programos¹⁰ imunohistochemijos kokybės kontrolės rekomendacijas ir (arba) NCCLS IHC gaires¹¹. Šios kokybės kontrolės procedūros turi būti kartojamos kiekvienai naujai antikūnų partijai arba kiekvieną kartą, kai pasikeičia tyrimo parametrai. Audiniai, išvardyti skyriuje Veikimo charakteristikos, yra tinkami tyrimo patikrinimui.

Triukščių šalinimas:

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

Dažymo aiškinimas:

MACH 2 Mouse AP-polimeras sukelia raudonos spalvos reakciją antigeno vietose, lokalizuotose pirminio antikūno. Prieš interpretuodamas paciento rezultatus, kontrolinių mėginių dažymą turi įvertinti kvalifikuotas patologas. Neigiamos kontrolinės medžiagos įvertinamos ir palyginamos su nudažytomis stiklėmis, siekiant užtikrinti, kad pastebėtas dažymas nėra nespecifinės sąveikos rezultatas.

Teigiama audinių kontrolė:

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

Reakcijos produkto spalva gali skirtis priklausomai nuo naudojamų substrato chromogenų. Numatytas spalvų reakcijas žr. pagrindo pakuotės lapeliuose. Be to, metachromazija gali būti stebima dažymo metodo variantuose.¹² Kai naudojamas kontrastinis dažymas, atsižvelgiant į inkubacijos trukmę ir naudojamo priešinio dažymo stiprumą, priešdažymas sukels ląstelių branduolių spalvą. Pernelyg didelis arba neišsamus dažymas gali pakenkti tinkamam rezultatų interpretavimui. Žr. protokolą (-us) dėl rekomenduojamo priešdažo.

Neigiamų audinių kontrolė:

Neigiamas audinių kontrolė turi būti iširta 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 mėginio 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 fiksuotų audinių. Dažymo rezultatams interpretuoti naudokite nepažeistas ląsteles. Nekrotinės arba išsigimusios ląstelės dažnai nusidažo nespecifiškai.

Paciento audiniai:

Ištirkite paciento mėginius, nudažytus nurodytais antikūnais paskutinis. Teigiamas dažymo intensyvumas turėtų būti įvertintas atsižvelgiant į bet kokį 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 nustatytumėte klaidingai neigiamas reakcijas.

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

Apribojimai:

Bendrieji apribojimai:

1. Naudojimas *in vitro* diagnostikai (IVD)
2. Šis gaminytis skirtas tik profesionaliam naudojimui: Imunohistochemija yra daugiapakopis diagnostikos procesas, kurį sudaro specializuoti 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, džiovinimas, kaitinimas, pjaustymas arba užteršimas kitais audiniais ar skysčiais gali sukelti artefaktus, antikūnų įstrigimą arba klaidingai neigiamus rezultatus. Nenuosekliūs rezultatai gali atsirasti dėl fiksavimo ir įterpimo metodų skirtumų arba dėl įgimtų audinių nelygumų.¹³
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 konkrečios programos protokolai gali skirtis. Tai apima, bet tuo neapsiribojant, fiksavimą, šilumos atgavimo metodą, inkubacijos laiką, antikūnų skiedimą, audinio pjūvio storį ir naudojamą aptikimo rinkinį. Rekomenduojamus protokolus ir naudojimo sąlygas žr. pirminio antikūno ir kitų pagalbinių reagentų naudojimo instrukcijose. Duomenų lapo rekomendacijos ir protokolai yra pagrįsti išskirtiniu Biocare produktų naudojimu. Galiausiai tyrėjas turi nustatyti optimalias sąlygas.
8. Šis produktas nėra skirtas naudoti srauto citometrijoje. Srauto citometrijos veikimo charakteristikos nenustatytos.
9. Asmenų, užsikrėtusių hepatito B virusu ir turinčių hepatito B paviršiaus antigeno (HBsAg), audiniai gali būti nespecifiniai krienų peroksidaze.¹⁴



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

54/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Lithuanian

BIOCARE
M E D I C A L

10. Reagentai gali sukelti netikėtas reakcijas anksčiau netirtuose audiniuose. Netikėtų reakcijų galimybės net tirtose audinių grupėse negali būti visiškai pašalintos dėl biologinio antigeno ekspresijos neoplazmų ar kitų patologinių audinių kintamumo.¹⁵ Susisieki su Biocare technine pagalba telefonu 1-800-542-2002 arba per techninės pagalbos informaciją, pateiktą biocare.net, ir pateikite dokumentuotą (-as) netikėtą (-as) reakciją (-as).
11. Normalūs/neimuniniai serumai iš to paties gyvūninio šaltinio kaip ir antriniai antiserumai, naudojami blokavimo etapuose, dėl autoantikūnų arba natūralių antikūnų gali sukelti klaidingai neigiamus arba klaidingai teigiamus rezultatus.
12. Klaidingai teigiami rezultatai gali būti matomi dėl neimunologinio baltymų ar substrato reakcijos produktų prisijungimo. Juos taip pat gali sukelti pseudoperoksidazės aktyvumas (eritrocitai), endogeninis peroksidazės aktyvumas (citochromas C) arba endogeninis biotinas (pvz., kepenys, krūties, smegenys, inkstai), priklausomai nuo naudojamos imuninės dažų rūšies.¹³
13. Neigiamas rezultatas reiškia, kad antigenas nebuvo aptiktas, o ne tai, kad antigeno nebuvo tiriamose ląstelėse ar audiniuose.

Specifiniai gaminio apribojimai:

nėra jokių papildomų specifinių gaminio apribojimų.

Veikimo charakteristikos:

dažymas buvo atliktas naudojant protokolus, pateiktus specifinėse antikūnų naudojimo instrukcijose arba kaip nurodyta. Dažymo jautrumas ir specifiskumas buvo įvertintas įvairiuose normalių ir neoplastinių audinių tipuose, įvertintuose pirminių antikūnų susidarymo metu.

Atkuriamumas:

Biocare aptikimo sistemų ir sistemos reagentų atkuriamumas patikrinamas išmatuojant vidutinį tikslumą, kai įvairios reagentų partijos buvo tiriamos ilgą laiką, naudojant įvairius operatorius, analitikus, reagentų partijas, audinių mėginius ir įrangą. Kiekvieno įvertinto aptikimo reagento dažymas buvo nuoseklus ir atliktas taip, kaip tikėtasi.

Trikčių šalinimas:

1. Jokių stiklelių nesidažyta – Patikrinkite, ar buvo naudojami tinkami teigiami kontroliniai audiniai, antikūnai ir aptikimo produktai. Patikrinkite, ar vaškas pašalintas arba apdorotas nevisiškai arba netinkamai.
2. Silpnas visų stiklelių dažymas – Patikrinkite, ar buvo naudojami tinkami teigiami kontroliniai audiniai, antikūnai ir aptikimo produktai.
3. Per didelis visų skaidrių fonas – gali būti didelis endogeninio biotino kiekis (jei naudojami biotino pagrindu pagaminti aptikimo produktai), endogeninis HRP aktyvumas, paverčiantis chromogeną spalvotu galutiniu produktu (naudokite peroksidazės bloką) arba perteklinė nespecifinė baltymų sąveika (naudokite baltymą). blokuoti, pvz., serumo arba kazeino pagrindu pagamintą blokuojantį tirpalą).
4. Inkubacijos metu audinių sekcijos nuplaunamos nuo stiklelių – Patikrinkite stiklelius, kad įsitikintumėte, jog jie yra teigiamai įkrauti.
5. Specifinis dažymas per tamsus – Patikrinkite protokolą, kad nustatytumėte, ar ant stiklelio buvo pritaikytas tinkamas antikūnų titras, taip pat tinkamas visų reagentų inkubacijos laikas. Be to, įsitinkite, 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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Polish

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Przeznaczenie:

Do *in vitro* diagnostyki

MACH 2 Mouse AP-Polymer jest przeznaczony do stosowania w ręcznych lub automatycznych protokołach barwienia immunohistochemicznego (IHC) przy użyciu jednoetapowej metody aplikacji polimeru fosfatazy alkalicznej (AP). Ten mikropolimerowy zestaw do wykrywania jest przeznaczony do wykrywania mysich przeciwciał pierwotnych IgG związanych 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:

MACH 2 Mouse AP-Polymer został zaprojektowany przy użyciu jednoetapowej metody wykrywania mysich przeciwciał pierwotnych w celu utworzenia kompleksu przeciwciało-enzym. Ten kompleks jest następnie wizualizowany przy użyciu odpowiedniego substratu/chromogenu. W metodzie jednoetapowej stosuje się przeciwciało drugorzędowe bezpośrednio połączone z mikropolimerem.

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 przeciwciało pierwszorzędowemu (opcjonalnie przeciwciało łączące/sonda), kompleks enzymatyczny i substrat chromogeniczny z przeplatany etapami przemycania. Enzymatyczna aktywacja chromogenu skutkuje widocznym produktem reakcji w miejscu antygeny. Próbkę można następnie wybarwić kontrastowo i przykryć szkiełkiem nakrywkowym. Wyniki są interpretowane przy użyciu światła mikroskop 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 Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 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)

Gatunek Reaktywność:

Mysie łańcuchy ciężkie i lekkie IgG

Dostarczana postać:

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
Etanol lub alkohol odczynnika
Komora odsłaniająca* lub podobny szybkar (opcjonalnie)
Woda dejonizowana lub destylowana
Bufor płuczający*
Odczynniki do obróbki wstępnej* (opcjonalnie)
Trawienie enzymatyczne* (opcjonalnie)
Blok peroksydazy* (opcjonalnie)
Blok białkowy* (opcjonalnie)
Przeciwciało pierwszorzędowe*
Odczynniki kontroli ujemnej*
Chromogeny*
Hematoksylina* (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.

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 rozcieńzonego przez użytkownika nie została ustalona przez firmę Biocare.

Kontrole dodatnie i ujemne należy analizować jednocześnie ze wszystkimi próbkami pobranymi od pacjentów. W przypadku zaobserwowania nieoczekiwanego odczynu, którego nie można wytłumaczyć różnicami w procedurach laboratoryjnych, i podejrzewa 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.

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Polish

BIOCARE
M E D I C A L

Przygotowanie próbki:

Tkanki utrwalone w formalinie nadają się do stosowania przed zatopieniem w parafinie. Tkanki kostne należy odwapnić przed przetwarzaniem tkanek, aby ułatwić cięcie tkanek i zapobiec uszkodzeniu ostrej 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:

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. Odczynniki zestawu zawierają mniej niż 0,05% ProClin 300 i/lub mniej niż 1% ProClin 950. Należy nosić rękawice i odzież ochronną oraz stosować rozsądne środki ostrożności podczas pracy, ponieważ ProClin jest klasyfikowany jako drażniący i może powodować uczulenie w kontakcie ze skórą. Unikać kontaktu z oczami, skórą i błonami śluzowymi.
2. 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.^{6,7}
3. Próbki przed i po utrwaleniu 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.⁸
4. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne odczynników może spowodować wzrost nieswoistego odczynu.
5. Czasy inkubacji lub temperatury inne niż podane mogą dawać błędne wyniki. Użytkownik musi zatwierdzić każdą taką zmianę.
6. Nie używać odczynnika po upływie daty ważności wydrukowanej na fiolce.
7. 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.
8. Postępuj zgodnie z lokalnymi i/lub stanowymi przepisami dotyczącymi sposobu utylizacji.
9. Karta charakterystyki jest dostępna na żądanie i znajduje się pod adresem <http://biocare.net>.
10. Zgłaszaj 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 przeciwciała.

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

Ogólne etapy procedury przeprowadzania IHC:

1. Odparafinowanie: Odparafinować preparaty w Slide Brite lub ksylenie. Uwodnić szkiełka w szeregu stopniowanych alkoholi do wody.
2. Blok nadtlenkowy (opcjonalnie): Blokuj przez 5 minut za pomocą Peroxidazed 1.
3. Roztwór do wstępnej obróbki/Protokół: Proszę zapoznać się z odpowiednim arkuszem danych przeciwciała 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. Przeciwciała pierwszorzędowe: Informacje dotyczące czasu inkubacji można znaleźć w arkuszu danych przeciwciała pierwszorzędowych.
6. Polimer: Inkubować przez 30 minut w temperaturze pokojowej z MACH 2 Mouse AP-Polymer.
7. Chromogen: Inkubować przez 5-7 minut w RT z Warp Red.
8. Barwienie kontrastowe: Barwienie kontrastowe hematoksyliną. Przeplukać wodą dejonizowaną. Zastosuj Blueing Solution Tacha przez 1 minutę. Przeplukać wodą dejonizowaną.

Uwagi techniczne:

1. Użyj TBS do etapów prania. Bufory płuczące PBS hamują barwienie fosfatązą alkaliczną.
2. Blokowanie endogennej peroksydazy nie jest wymagane; jednak zanurzenie szkiełek w Peroxidazed 1 wybiela tkanki i krwinki czerwone, co zapewnia lepszy kontrast w procedurach barwienia fosfatązą alkaliczną.

Kontrola jakości:

Patrz Standardy jakości CLSI dotyczące projektowania i wdrażania testów immunohistochemicznych; Zatwierdzone wytyczne — wydanie drugie (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁹

pozytywna kontrola tkankowa:

Zewnętrzne materiały kontrolne dodatkowo powinny być świeżymi próbkami utrwalonymi, przetworzonymi i osadzonymi tak szybko, jak to możliwe, w taki sam sposób jak próbka (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 dodatnich został zaprojektowany w taki sposób, aby zapewnić wykrywanie subtelnych zmian czułości przeciwciała 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.

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Polish

BIOCARE
M E D I C A L

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 próbkami 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 przeciwciała IHC demonstrację antygenu docelowego oraz wskazanie specyficznego barwienia tła (fałszywie pozytywne barwienie). Również różnorodność różnych typów komórek obecnych w większości skrawków tkanek może być używane przez laboranta jako wewnętrzne punkty kontroli ujemnej w celu weryfikacji działania IHC specyfikacji. 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 przeciwciała pierwszorzędowego w skrawku każdej próbki pacjenta, aby ocenić nieswoiste odczyny i

umożliwić lepszą interpretację swoistego odczynu w miejscu antygenu. Idealnie, kontrola ujemna odczynnika zawiera przeciwciała wytworzone i przygotowane (tj. rozcieńczone do tego samego stężenia przy użyciu tego samego rozcieńczalnika) do użycia w taki sam sposób jak przeciwciała pierwszorzędowe, ale nie wykazuje żadnej swoistej reaktywności z tkankami ludzkimi w tej samej matrycy/roztworze co Przeciwciała 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 przeciwciała pierwszorzędowego.

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

Weryfikacja testu:

Przed pierwszym użyciem przeciwciała lub systemu barwienia w procedurze diagnostycznej użytkownik powinien zweryfikować specyficzną przeciwciała, 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 CAP[®] dla immunohistochemii i/lub wytycznymi NCCLS IHC¹¹. Te procedury kontroli jakości należy powtarzać dla każdej nowej serii przeciwciał 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 specyficznymi dla przeciwciał, zgodnie z dostarczonym arkuszem danych. Jeśli wystąpią nietypowe wyniki, skontaktuj się z pomocą techniczną firmy Biocare pod numerem 1-800-542-2002.

Interpretacja barwienia:

MACH 2 Mouse AP-Polymer wytwarza reakcję barwy czerwonej w miejscach antygenu zlokalizowanych przez przeciwciała 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 niespecyficznego interakcji.

Pozytywna kontrola tkankowa:

Pozytywną kontrolę tkankową wybarwioną wskazanym przeciwciałem 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 próbkami 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 podłoża. Ponadto w odmianach metody barwienia można zaobserwować metachromazję.¹²

W przypadku stosowania barwnika kontrastowego, w zależności od długości inkubacji i siły zastosowanego barwnika kontrastowego, 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 specyficzną znakowania docelowego antygenu przez przeciwciała pierwszorzędowe. Brak specyficznego barwienia w negatywnej kontroli tkankowej potwierdza brak reaktywności krzyżowej przeciwciał 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 nadmierne 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 przeciwciałem 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 przeciwciał, aby zidentyfikować reakcje fałszywie ujemne.

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

Ograniczenia: Ograniczenia

ogólne:

1. Do *in vitro* (IVD)
2. Ten produkt jest przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego: Immunohistochemia to wieloetapowy proces diagnostyczny, który obejmuje specjalistyczne szkolenie w zakresie doboru odpowiednich



60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

58/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Polish

BIOCARE
M E D I C A L

odczynników; wybór tkanek, utrwalanie i przetwarzanie; przygotowanie slajdu IHC; i interpretacji 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 zanieczyszczenie innymi tkankami lub płynami może powodować artefakty, pułapki przeciwciał lub wyniki fałszywie ujemne. Niespójne wyniki mogą być spowodowane różnicami w metodach mocowania i zatapiania lub nieodłącznymi nieprawidłowościami w obrębie tkanki.¹³
- Nadmierne lub niepełne barwienie kontrastujące może uniemożliwić prawidłową interpretację 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 dodatnich 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 zaznajomy z właściwym stosowaniem przeciwciał IHC, odczynników i metod.
- Optymalne protokoły dla konkretnego zastosowania mogą się różnić. Obejmują one między innymi utrwalanie, metodę odzyskiwania ciepła, czasy inkubacji, rozcieńczenie przeciwciała, grubość skrawka tkanki i zastosowany zestaw do wykrywania. Zalecane protokoły i warunki stosowania znajdują się w instrukcjach użycia przeciwciała 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 przepływowej.
- Tkanki od osób zakażonych wirusem zapalenia wątroby typu B i zawierające antygen powierzchniowy wirusa zapalenia wątroby typu B (HBsAg) mogą wykazywać niespecyficzne barwienie peroksydazą chrzanową.¹⁴
- 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 antygeny w nowotworach lub innych tkankach patologicznych.¹⁵ 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 nieoczekiwaną reakcją.
- Normalne/nieodporne 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 autoprzeciwciał lub przeciwciał 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, piersi, mózg, nerki) w zależności od rodzaju zastosowanego immunobarwienia.¹³
- 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 przeciwciała lub zgodnie ze specyfikacją. Czułość i swoistość barwienia oceniano w zakresie różnych typów tkanek prawidłowych i nowotworowych ocenianych podczas opracowywania przeciwciał pierwotnych.

Odtwarzalność: Odtwarzalność

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

Rozwiązywanie problemów:

- Brak barwienia jakichkolwiek szkiełek – Sprawdź, czy użyto odpowiednich tkanek kontroli pozytywnej, przeciwciał 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, przeciwciała 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.
- Zbyt ciemne specyficzne barwienie – Sprawdź protokół, aby określić, czy na szkiełku zastosowano odpowiednio miano przeciwciała, a także odpowiednie czasy inkubacji dla wszystkich odczynników. Ponadto upewnij się, że protokół zawiera wystarczającą liczbę etapów przemycania, aby usunąć nadmiar odczynników po zakończeniu etapów inkubacji.

Literatura:

- Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
- Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
- Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
- Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
- Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- 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.
- 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.
- 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
- College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. <http://www.cap.org> (800) 323-4040.
- O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

59/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Polish

BIOCARE
M E D I C A L

- guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
 13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
 14. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
 15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

60/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Norwegian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Tiltenkt bruk:

For *in vitro* diagnostisk bruk

MACH 2 Mouse AP-Polymer er beregnet for bruk i enten manuelle eller automatiserte immunhistokjemi (IHC)-fargeprotokoller ved bruk av en alkalisk fosfatase (AP) polymer ett-trinns påføringsmetode. Dette mikropolymerdeteksjonssettet er designet for påvisning av primære muse-IgG-antistoffer bundet til målantigener i det formalinfikserte, parafininnstøpte (FFPE) vevet 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 2 Mouse AP-Polymer er utformet ved å bruke en ett-trinns metode for å oppdage primære antistoffer fra mus 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 knyttet til mikropolymeren.

Prosedyreprinsipp:

Dette mikropolymerdeteksjonssettet kan brukes i immunhistokjemitestning av formalinfikserte, parafininnstøpte vevssekksjoner. Generelt immunhistokjemisk (IHC) fargeteknikker tillater visualisering av antigener via sekvensiell påføring av en spesifikt antistoff mot antigenet (primært antistoff), et sekundært antistoff mot det primære antistoffet (valgfritt koblingsantistoff/probe), et enzymkompleks og et kromogent substrat med mellomliggende vasketrinn. Den enzymatiske aktiveringen av kromogenet resulterer i et synlig reaksjonsprodukt på antigenstedet. Prøven kan deretter motfarges, og dekkglass. Resultatene tolkes ved hjelp av et lys mikroskop og hjelp i differensialdiagnose av patofysiologiske prosesser, som kan eller kan ikke være assosiert med et bestemt antigen.

Materialer og metoder:

Reagenser følger med:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 mL

rekonstituering, blanding, fortytning, titrering:

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

Kjente bruksområder:

Immunhistokjemi (formalinfixert parafininnstøpt vev)

Artsreaktivitet:

Muse IgG tunge og lette kjeder

Leveres som:

Bufret saltoppløsning, 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 ikke følger med:

Objektglass, positivt ladet
Positive og negative vevskontroller
Desert Chamber* eller lignende Tørkeovn (valgfritt)
Xylen eller
Etanol 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. Reagenssett(e) er klare til bruk og skal ikke fortynnes. Stabiliteten til brukerfortynnet reagens er ikke fastslått av Biocare.

Positive og negative kontroller bør kjøres samtidig med alle pasientprøver. Hvis det observeres uventet farging som ikke kan forklares av variasjoner i laboratorieprosedyrer og det er mistanke om et problem med antistoffet, kontakt Biocares tekniske støtte på 1-800-542-2002 eller via den tekniske støtteinformasjonen på biocare.net.


Prøveforberedelse:

Vev fikset i formalin er egnet for bruk før parafininnstøping. Ossøst vev bør avkalkes før vevsbehandling for å lette skjæring av vev og forhindre skade på mikrotombladene.^{1,2}

Riktig fiksert og innebygd vev som uttrykker det spesifiserte antigenmålet, bør oppbevares på et kjølig sted. The Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) av 1988 krever i 42 CFR §493.1259(b) at "Laboratoriet må beholde fargede objektglass minst ti år fra datoen for undersøkelse og oppbevaringsprøveblokker 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}

 Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

61/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123


Norwegian

BIOCARE
M E D I C A L

Advarsel og forholdsregler:

1. Sett-reagenser inneholder mindre enn 0,05 % ProClin 300 og/eller mindre enn 1 % ProClin 950. Bruk hansker og verneklær og ta rimelige forholdsregler ved håndtering, da ProClin er klassifisert som irriterende og kan forårsake hudkontaktsensibilisering. Unngå kontakt med øyne, hud og slimhinner.
2. Håndter materialer av menneskelig eller animalsk opprinnelse som potensielt biologisk farlig og kast slike materialer med riktige forholdsregler. I tilfelle eksponering, følg helsedirektivene til de ansvarlige myndighetene der det brukes.^{6,7}
3. 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.⁸
4. Mikrobiell kontaminering av reagenser kan føre til en økning i uspesifikk farging.
5. Andre inkubasjonstider eller temperaturer enn de spesifiserte kan gi feilaktige resultater. Brukeren må validere enhver slik endring.
6. Ikke bruk reagens etter utløpsdatoen som er trykt på hetteglasset.
7. Mikropolymerdeteksjonssettets reagens(er) er optimalisert og klar til bruk med Biocare-antistoffer og hjelpereagenser. Se bruksanvisningen for det primære antistoffet og andre hjelpereagenser for anbefalte protokoller og bruksbetingelser.
8. Følg lokale og/eller statlige myndigheters krav for avhendingsmetode.
9. SDS er tilgjengelig på forespørsel og ligger på <http://biocare.net>.
10. 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:

Mikropolymerdeteksjonsreagensen(e) er optimalisert og klar til bruk med Biocare-antistoffer og hjelpereagenser. Se bruksanvisningen for det primære antistoffet og andre hjelpereagenser 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:

1. Avparafinering: Avparafiniser objektglass i Slide Brite eller xylen. Hydrat objektglass i en serie graderte alkoholer til vann.
2. Peroxidsblokk (valgfritt): Blokker i 5 minutter med Peroxidized 1.
3. Forbehandlingsløsning/-protokoll: Se det respektive databladet for primær antistoff for anbefalt forbehandlingsløsning og protokoll.
4. Proteinblokk (valgfritt): Inkuber i 5-10 minutter ved romtemperatur (RT) med Background Punisher.
5. Primært antistoff: Se det respektive databladet for primær antistoff for inkubasjonstid.
6. Polymer: Inkuber i 30 minutter ved romtemperatur med MACH 2 Mouse AP-Polymer.
7. Kromogen: Inkuber i 5-7 minutter ved romtemperatur med Warp Red.

8. Motfarging: Motfarging med hematoksylin. Skyll med avionisert vann. Påfør Tacha's Blueing Solution i 1 minutt. Skyll med avionisert vann.

Tekniske merknader:

1. Bruk TBS for vasketrinn. PBS vaskebuffer vil hemme alkalisk fosfatasefarging.
2. Blokkering for endogen peroksidase er ikke nødvendig; nedsenking av objektglass i Peroxidized 1 bleker imidlertid vev og røde blodlegemer, noe som gir bedre kontrast for prosedyrer for alkalisk fosfatasefarging.

Kvalitetskontroll:

Se CLSI kvalitetsstandarder for design og implementering av immunhistokjemianalyser; Godkjent guideline-andre utgave (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁹

Positiv vevskontroll:

Eksternt positivt kontrollmateriale bør være ferske prøver fiksert, behandlet og innebygd så snart som mulig på samme måte som pasientprøven(e). Positive vevskontroller er en indikasjon på korrekt forberedt vev og riktige fargeteknikker. En positiv ekstern vevskontroll for hvert sett med testbetingelser bør inkluderes i hver farging.

Vevene som brukes til de eksterne positive kontrollmaterialene bør velges fra pasientprøver med godt karakteriserte lave nivåer av den positive målaktiviteten som gir svak positiv farging. Det lave nivået av positivitet for eksterne positive kontroller er designet for å sikre påvisning av subtile endringer i det primære antistoffsensitiviteten fra ustabilitet eller problemer med IHC-metodikken. Kommersielt tilgjengelige vevskontrollobjektglass eller prøver behandlet annerledes enn pasientprøven(e) validerer bare reagensytelsen og verifiserer ikke vevsforberedelse.

Kjente positive vevskontroller bør kun brukes for å overvåke korrekt ytelse av behandlet vev og testreagenser, i stedet for som en hjelp til å formulere en 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 vevsnett 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 Ytelseskaraktistikk.

Hvis spesifikk farging (falsk positiv farging) oppstår i den negative vevskontrollen, bør resultatene med pasientprøvene anses som ugyldige.

Uspesifikk negativ reagenskontroll:

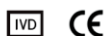
Bruk en uspesifikk negativ reagenskontroll i stedet for det primære antistoffet med en del av hver pasientprøve for å evaluere uspesifikk farging og tillate bedre tolkning av spesifikk farging på antigenstedet. Ideelt sett inneholder en negativ reagenskontroll et antistoff produsert og forberedt (dvs. fortynt til samme konsentrasjon ved bruk av samme fortynningsmiddel) for bruk på samme måte som det primære antistoffet, men viser ingen spesifikk reaktivitet med humant vev i samme matrise/løsning som Biocare antistoff. Fortyningmiddel 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



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

62/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Norwegian

BIOCARE
M E D I C A L

bindingsbakgrunnskontroll for andre antistoffer. For å skille endogen enzymaktivitet eller uspesifikk binding av enzymer fra spesifikk immunreaktivitet, kan ytterligere pasientvev farges utelukkende med henholdsvis substrat-kromogen eller enzymkomplekser (PAP, avidin-biotin, streptavidin) og substrat-kromogen.

Analyseverifisering:

Før første gangs bruk av et antistoff eller fargesystem 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 tidligere er skissert i denne delen av produktvedlegget og til kvalitetskontrollanbefalingene i CAP Certification Program[®] for Immunohistochemistry og/eller NCCLS IHC-retningslinjen¹. Disse kvalitetskontrollprosedyrene bør gjentas for hvert nytt antistofflot, eller når det er en endring i analyseparametere. Vev som er oppført i delen Ytelsesegenskaper 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 2 Mouse AP-polymer produserer en rød fargereaksjon på antigenstedene lokalisert av det primære antistoffet. Før tolkning av pasientresultater, må farging av kontroller evalueres av en kvalifisert patolog. Negative kontroller blir evaluert og sammenlignet med fargede objektglass for å sikre at eventuell observert farging ikke er et resultat av uspesifikke interaksjoner.

Positiv vevskontroll:

Den positive vevskontrollen farget med indikert antistoff bør undersøkes først for å sikre at alle reagenser fungerer som de skal. Den passende fargingen av målceller (som angitt ovenfor) indikerer positiv reaktivitet. Hvis de positive vevskontrollene ikke viser positiv farging, bør alle resultater med testprøvene anses som ugyldige.

Fargen på reaksjonsproduktet kan variere avhengig av substratkromogener som brukes. Se pakningsvedlegget til substratet for forventede fargereaksjoner. Videre kan metakromasi observeres i variasjoner av metoden for farging.¹²

Når en motfarging brukes, avhengig av inkubasjonslengden og styrken til motfargen som brukes, vil motfarging resultere i en farging av cellekjernene. Overdreven eller ufullstendig motfarging kan kompromittere riktig tolkning av resultatene. Se protokoll(er) for anbefalt motbeis.

Negativ:

Den negative vevskontrollen bør undersøkes etter den positive vevskontrollen for å verifisere spesifisiteten til merkingen av målantigenet med det primære antistoffet. Fraværet av spesifikk farging i den negative vevskontrollen bekrefter mangelen på antistoffkryssreaktivitet til celler/cellekomponenter. Hvis spesifikk farging (falsk positiv farging) oppstår i den negative eksterne vevskontrollen, bør resultatene med pasientprøven 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 fargerresultater. Nekrotiske eller degenererte celler farger ofte uspesifikt.

Pasientvev:

Undersøk pasientprøver farget med indikert antistoff siste. Positiv fargingsintensitet bør vurderes i sammenheng med enhver uspesifikk bakgrunnsfarging av den negative reagenskontrollen. Som med enhver immunhistokjemisk test betyr et negativt resultat at antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet var fraværende i cellene/vevet som ble analysert. Om nødvendig, bruk et panel med antistoffer for å identifisere falske negative reaksjoner.

Se sammendrag og forklaring, begrensninger og ytelsesegenskaper for spesifikk informasjon om indikert antistoffimmunreaktivitet.

Begrensninger:

Generelle begrensninger:

1. For *in vitro* diagnostisk (IVD) bruk
2. Dette produktet er kun for profesjonell bruk: Immunhistokjemi er en flertrinns diagnostisk prosess som består av spesialisert opplæring i valg av passende reagenser; vevseleksjon, fiksering og prosessering; klargjøring av IHC-glasset; og tolkning av fargerresultatene.
3. Kun til bruk etter resept fra lege. (Kun Rx)
4. Vevsfarging er avhengig av håndtering og behandling av vevet før farging. Feil fiksering, frysing, tining, vasking, tørking, oppvarming, seksjonering eller kontaminering med andre vev eller væsker kan produsere artefakter, antistofffanger eller falske negative resultater. Inkonsekvente resultater kan skyldes variasjoner i fikserings- og innstøpingsmetoder, eller iboende uregelmessigheter i vevet.¹³
5. Overdreven eller ufullstendig motfarging kan kompromittere riktig tolkning av resultatene.
6. Den kliniske tolkningen av enhver positiv eller negativ farging bør evalueres i sammenheng med klinisk presentasjon, morfologi og andre histopatologiske kriterier. Den kliniske tolkningen av enhver positiv eller negativ farging bør kompletteres med morfologiske studier som bruker riktige positive og negative interne og eksterne kontroller samt andre diagnostiske tester. Det er ansvaret til en kvalifisert patolog som er kjent med riktig bruk av IHC-antistoffer, reagenser og metoder for å tolke alle trinnene som brukes til å forberede og tolke det endelige IHC-preparatet.
7. De optimale protokollene for en spesifikk applikasjon kan variere. Disse inkluderer, men er ikke begrenset til, fiksering, varmhentingsmetode, inkubasjonstider, antistofffortynning, vevssnitttykkelse og deteksjonssett som brukes. Se bruksanvisningen for det primære antistoffet og andre hjelpereagenser for anbefalte protokoller og bruksbetingelser. Databladanbefalingene og protokollene er basert på eksklusiv bruk av Biocare-produkter. Til syvende og sist er det etterforskerens ansvar å bestemme optimale forhold.
8. Dette produktet er ikke beregnet for bruk i flowcytometri. Ytelsesegenskaper er ikke bestemt for flowcytometri.
9. Vev fra personer infisert med hepatitt B-virus og som inneholder hepatitt B-overflateantigen (HBsAg) kan vise uspesifikk farging med pepperrotperoksidase.¹⁴
10. Reagenser kan vise uventede reaksjoner i tidligere ikke-testet vev. Muligheten for uventede reaksjoner selv i testede vevsgrupper kan ikke elimineres fullstendig på grunn av biologisk variasjon av antigenekspresjon i neoplasmer eller annet patologisk vev.¹⁵ Kontakt Biocares tekniske støtte på 1-800-542-2002, eller via den tekniske støtteinformasjonen gitt på biocare.net, med dokumenterte uventede reaksjoner.
11. 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 pseudoperoksidaseaktivitet (erytrocytter), endogen peroksidaseaktivitet (cytokrom C) eller endogent biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) avhengig av hvilken type immunfarging som brukes.¹⁶



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

63/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Norwegian

BIOCARE
M E D I C A L

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.

Ytelseegenskaper:

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 reagenslister ble testet over en lengre tidsperiode ved bruk av ulike operatører, analytikere, reagenslister, vevsprøver og utstyr. Fargingen oppnådd for hver deteksjonsreagens som ble evaluert var konsistent og utført som forventet.

Feilsøking:

1. Ingen farging av noen objektglass – Kontroller for å fastslå at det er brukt passende positivt kontrollvev, antistoff og deteksjonsprodukter. Se etter ufullstendig eller feil fjerning av voks eller forbehandling.
2. Svak farging av alle objektglass – Kontroller for å fastslå at det er brukt passende positivt kontrollvev, antistoff og deteksjonsprodukter.
3. Overdreven bakgrunn av alle lysbildene – Det kan være høye nivåer av endogent biotin (hvis du bruker biotinbaserte deteksjonsprodukter), endogen HRP-aktivitet som konverterer kromogen til farget sluttprodukt (bruk peroksidaseblokk), eller overskytende ikke-spesifikk proteininteraksjon (bruk et protein blokk, for eksempel serum- eller kaseinbasert blokkeringsløsning).
4. Vevsseksjoner vasker av objektglass under inkubering – Sjekk objektglassene for å sikre at de er positivt ladet.
5. Spesifikk farging for mørk – Sjekk protokollen for å finne ut om riktige 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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. <http://www.cap.org> (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed

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

12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

64/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Portuguese

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Uso pretendido:

Para *in vitro* diagnóstico

O MACH 2 Mouse AP-Polymer destina-se a ser utilizado em protocolos de coloração de imuno-histoquímica (IHC) manuais ou automatizados utilizando um método de aplicação de um passo de polímero de fosfatase alcalina (AP). Este kit de detecção de micropolímeros foi desenvolvido para a detecção de anticorpos primários IgG de camundongo ligados a antígenos 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 2 Mouse AP-Polymer é projetado usando um método de uma etapa para detectar anticorpos primários de camundongo para formar um complexo anticorpo-enzima. Este complexo é então visualizado usando um substrato/cromógeno apropriado. No método de uma etapa, é aplicado um anticorpo secundário diretamente ligado ao micropolímero.

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 antígenos através da aplicação sequencial de um anticorpo específico para o antígeno (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 antígeno. A amostra pode então ser contrastada e coberta com lamínula. 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 antígeno específico.

Materiais e Métodos:

Reagentes Fornecidos:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 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)

Reatividade da espécie:

Cadeias pesadas e leves de IgG de camundongo

Fornecido como:

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% 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 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:

Tecidos fixados em formalina são adequados para uso 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 micróto. ^{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



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

65/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Portuguese

BIOCARE
M E D I C A L

§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}

Avisos e precauções:

- Os reagentes do kit contêm menos de 0,05% ProClin 300 e/ou menos de 1% 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.
- 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.^{6,7}
- 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 entrarem em contato com áreas sensíveis, lave com água em abundância.⁸
- A contaminação microbiana dos reagentes pode resultar no aumento da coloração inespecífica.
- Tempos de incubação ou temperaturas diferentes dos especificados podem dar resultados errôneos. O usuário deve validar qualquer alteração.
- Não use reagente após a data de validade impressa no frasco.
- 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.
- Siga os requisitos das autoridades locais e/ou estaduais quanto ao método de descarte.
- O SDS está disponível mediante solicitação e está localizado em <http://biocare.net>.
- 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:

- Desparafinização: Desparafinize as lâminas em Slide Brite ou xileno. Hidrate as lâminas em uma série de álcoois graduados à água.
- Bloqueio de peróxido (opcional): Bloqueie por 5 minutos com Peroxidazed 1.
- 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.
- Bloco de proteína (opcional): incubar por 5-10 minutos em temperatura ambiente (RT) com o Background Punisher.
- Anticorpo Primário: Consulte a folha de dados do respectivo anticorpo primário para saber o tempo de incubação.
- Polímero: Incubar durante 30 minutos à temperatura ambiente com MACH 2 Mouse AP-Polymer.
- Cromogênio: incubar por 5-7 minutos à temperatura ambiente com Warp Red.
- Contracoloração: Contracoloração com hematoxilina. Enxágue com água deionizada. Aplique a Solução Bluing da Tacha por 1 minuto. Enxágue com água deionizada.

Notas Técnicas:

- Use TBS para as etapas de lavagem. Tampões de lavagem PBS irão inibir a coloração de fosfatase alcalina.
- O bloqueio da peroxidase endógena não é necessário; no entanto, a imersão das lâminas em Peroxidazed 1 clareia tecidos e glóbulos vermelhos, o que produz melhor contraste para procedimentos de coloração com fosfatase alcalina.

Controle de qualidade:

Consultar os Padrões de Qualidade CLSI para Projeto e Implementação de Ensaio de Imuno-histoquímica; Diretriz Aprovada - Segunda edição (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA EUA (www.clsi.org). 2011*

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 controles 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 controles 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 controles de tecido positivos não demonstrarem coloração positiva, os resultados com as amostras de teste devem ser considerados inválidos.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

66/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Portuguese

BIOCARE
M E D I C A L

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 controles 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 Anticorpo Biocare. O diluente sozinho pode ser usado como uma alternativa menos desejável aos controles 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 imunorreatividade 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 CAP® para Imuno-histoquímica e/ou a diretriz NCCLS IHC¹. 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 2 Mouse AP-Polymer produz uma reação de cor vermelha nos locais de antígeno localizados pelo anticorpo primário. Antes da interpretação dos resultados do paciente, a coloração dos controles deve ser avaliada por um patologista qualificado. Os controles 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 controles 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.²

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 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



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

67/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Portuguese

BIOCARE
M E D I C A L

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.¹³

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.¹⁴
10. Os reagentes podem demonstrar reações inesperadas em tecidos não testados anteriormente. A possibilidade de reações inesperadas mesmo em grupos de tecidos testados não pode ser completamente eliminada devido à variabilidade biológica da expressão do antígeno em neoplasias ou outros tecidos patológicos.¹⁵ contata 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.¹³
13. Um resultado negativo significa que o antígeno não foi detectado, 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 cromogénio 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.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

68/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Romanian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Utilizare prevăzută:

Pentru *in vitro* diagnostic

Polimerul AP MACH 2 Mouse este destinat utilizării fie în protocoale de colorare cu imunohistochimie (IHC) manuale sau automate, folosind o metodă de aplicare într-o singură etapă a polimerului de fosfatază alcalină (AP). Acest kit de detectare a micro-polimerului este proiectat pentru detectarea anticorpilor primari IgG de șoarece legați de antigenele țintă în țesuturile fixate în formalină, încorporate în parafină (FFPE) în timpul procesului de colorare IHC. Interpretarea clinică a oricărei colorări sau absența acesteia 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:

Polimerul AP pentru șoarece MACH 2 este proiectat utilizând o metodă într-un singur pas pentru detectarea anticorpilor primari de șoarece pentru a forma un complex anticorp-enzimă. Acest complex este apoi vizualizat folosind un substrat/cromogen adecvat. În metoda cu o singură etapă se aplică un anticorp secundar direct legat de micropolimer.

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) tehnicile de colorare permit vizualizarea antigenelor prin aplicarea secvențială a a anticorp specific la antigen (anticorp primar), un anticorp secundar la anticorpul primar (anticorp/sondă opțional link), un complex enzimatic și un substrat cromogen cu etape de spălare interpusă. Activarea enzimatică a cromogenului are ca rezultat un produs de reacție vizibil la locul antigenului. Eșantionul poate fi apoi contracolorat și acoperit cu lamela. Rezultatele sunt interpretate folosind o lumină microscop și ajută la diagnosticul diferențial al proceselor fiziopatologice, care pot sau poate să nu fie asociat cu un anumit antigen.

Materiale și metode:

Reactivi furnizați:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 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:

Imunohistochimie (țesuturi încorporate în parafină fixate în formol)

Reactivitatea speciilor:

Lanțuri grele și ușoare de IgG de șoarece

Furnizat ca:

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 tisulare pozitive și negative
Cameră de deșert* sau similar Cuptor de uscare (opțional)
Xilen sau înlocuitor de xilen
Etanol sau alcool reactiv
Camera de decloaking* sau oală sub presiune similară (opțional)
Apă deionizată sau distilată
Tampon de spălare*
Reactivi de pretratare* (opțional)
Digestie enzimatică* (opțional)
Bloc de peroxidază* (opțional)
Bloc proteic* (opțional)
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 enumerați mai sus se bazează pe aplicații specifice și pe sistemul de detectare utilizat.

Depozitare și stabilitate:

A se păstra la 2°C până la 8°C. Produsul este stabil până la data de expirare imprimată pe eticheta flaconului, atunci când este păstrat în aceste condiții. Nu utilizați după data de expirare. Depozitarea în orice alte condiții decât cele specificate trebuie verificată. Reactivul (reactivii) trusei sunt gata de utilizare și nu trebuie diluați. Stabilitatea reactivului diluat de utilizator nu a fost stabilită de Biocare.

Controalele pozitive și negative trebuie efectuate simultan cu toate probele pacientului. Dacă se observă o colorare neașteptată care nu poate fi explicată prin variații ale procedurilor de laborator și se suspectează o problemă cu anticorpul, contactați Asistența Tehnică Biocare la 1-800-542-2002 sau prin intermediul informațiilor de asistență tehnică furnizate pe biocare.net.

Prepararea probei:

Țesuturi fixate în formol sunt adecvate pentru utilizare înainte de încorporarea parafinei. Țesuturile osoase trebuie decalcificate înainte de prelucrarea țesuturilor pentru a facilita tăierea țesuturilor și pentru a preveni deteriorarea lamelor microtomului.^{1,2}

Țesuturile fixate și încorporate în mod corespunzător care exprimă antigenul țintă 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 specimene cel puțin doi ani de la data examinării.”³

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Romanian

BIOCARE
M E D I C A L


Tratamentul țesuturilor înainte de colorare:

Efectuați recuperarea epitopului indusă 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. ⁴⁵

Avertisment și precauții:

1. 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 luați măsuri de precauție rezonabile la manipulare deoarece ProClin este clasificat ca iritant și poate provoca sensibilizare la contactul cu pielea. Evitați contactul cu ochii, pielea și mucoasele.
2. Manipulați materialele de origine umană sau animală ca potențial periculoase biologice și eliminați astfel de materiale cu măsurile de precauție corespunzătoare. În cazul expunerii, respectați directivele de sănătate ale autorităților responsabile acolo unde este utilizat. ^{6,7}
3. Specimenele, înainte și după fixare, și toate materialele expuse acestora trebuie manipulate ca și cum ar fi capabile să transmită infecția și eliminate cu măsurile de precauție corespunzătoare. Nu pipetați niciodată reactivii pe gură și evitați contactul pielii și mucoaselor cu reactivii și mostrele. Dacă reactivii sau mostrele vin în contact cu zone sensibile, spălați-vă cu cantități mari de apă. ⁸
4. Contaminarea microbiană a reactivilor poate duce la o creștere a colorației nespecifice.
5. Timpii de incubare sau alte temperaturi decât cele specificate pot da rezultate eronate. Utilizatorul trebuie să valideze orice astfel de modificare.
6. Nu utilizați reactiv după data de expirare imprimată pe flacon.
7. Reactivul (reactivii) kit-ului de detectare a micropolimerului este optimizat(i) și gata de utilizare cu anticorpi Biocare și reactivi auxiliari. Consultați instrucțiunile de utilizare a anticorpului primar și a altor reactivi auxiliari pentru protocoalele și condițiile recomandate de utilizare.
8. Respectați cerințele autorităților locale și/sau de stat pentru metoda de eliminare.
9. FDS este disponibilă la cerere și se află la <http://biocare.net>.
10. Raportați orice incidente grave legate de acest dispozitiv contactând reprezentantul local Biocare și autoritatea competentă aplicabilă a statului membru sau a țării în care se află utilizatorul.

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

pericol	Code	Declarație 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.

Instrucțiuni 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:

1. Deparafinizare: Deparafinizarea lamelor în Slide Brite sau xilen. Hidratează lamele într-o serie de alcooli clasificați până la apă.
2. Bloc cu peroxid (Opțional): Blocați timp de 5 minute cu Peroxidized 1.
3. Soluție/Protocol de pretratare: Vă rugăm să consultați fișa de date a anticorpului primar respectiv pentru soluția și protocolul de pretratare recomandate.
4. Bloc de proteine (Opțional): Incubați timp de 5-10 minute la temperatura camerei (RT) cu Background Punisher.
5. Anticorp primar: Vă rugăm să consultați fișa de date a anticorpului primar respectiv pentru timpul de incubare.
6. Polimer: Se incubează timp de 30 de minute la RT cu MACH 2 Mouse AP-Polymer.
7. Cromogen: Se incubează timp de 5-7 minute la temperatura camerei cu Warp Red.
8. Contracolorare: Contracolorare cu hematoxilină. Clătiți cu apă deionizată. Aplicați soluția de albastru Tacha timp de 1 minut. Clătiți cu apă deionizată.

Note tehnice:

1. Folosiți TBS pentru etapele de spălare. Tamponalele de spălare PBS vor inhiba colorarea cu fosfatază alcalină.
2. Blocarea pentru peroxidaza endogenă nu este necesară; cu toate acestea, scufundarea lamelor în Peroxidized 1 înălbăște țesuturile și celulele roșii din sânge, ceea ce produce un contrast mai bun pentru procedurile de colorare cu fosfatază alcalină.

Controlul calității:

Consultați Standardele de calitate CLSI pentru proiectarea și implementarea testelor imunohistochemice; Ghid aprobat-A doua ediție (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA SUA (www.clsi.org). 2011⁹

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. Controlurile pozitive ale țesuturilor indică țesuturile pregătite corect și tehnicile de colorare adecvate. Un control de țesut extern pozitiv pentru fiecare set de condiții de testare ar trebui să fie inclus în fiecare cursă de colorare.

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

Controlurile de țesut pozitive cunoscute ar trebui utilizate numai pentru monitorizarea performanței corecte a țesuturilor procesate și a reactivilor de testare, mai degrabă decât ca ajutor în formularea unui diagnostic specific al probelor de pacienți. Dacă controalele pozitive ale țesuturilor nu reușesc să demonstreze o colorare pozitivă, rezultatele cu probele de testat trebuie considerate nevalide.

Controlul negativ al țesuturilor:

Utilizați un control 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 țesut poate să fie utilizate de către laborator ca locuri de control negativ intern pentru a verifica performanța IHC specificații. Tipurile și



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

70/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Romanian

BIOCARE
M E D I C A L

sursele de specimene care pot fi utilizate pentru țesutul 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 a fi utilizat în același mod ca anticorpul primar, dar nu prezintă reactivitate specifică cu țesuturile umane în aceeași matrice/soluție ca și soluția. Anticorp 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 enzimatică endogenă sau legarea nespecifică a enzimelor de imunoreactivitatea specifică, țesuturile suplimentare ale pacientului pot fi colorate exclusiv cu substrat-cromogen sau complexe enzimatic (PAP, avidină-biotină, streptavidină) și respectiv substrat-cromogen.

Verificarea testului:

Înainte de utilizarea inițială a unui anticorp sau a unui sistem de colorare într-o procedură de diagnosticare, utilizatorul trebuie să verifice specificitatea anticorpului testându-l pe o serie de țesuturi interne cu caracteristici de performanță imunohistochemice cunoscute reprezentând țesuturi pozitive și negative cunoscute. Consultați procedurile de control al calității prezentate anterior în această secțiune a prospectului produsului și recomandările privind controlul calității din Programul de certificare CAP® pentru imunohistochimie și/sau ghidul NCCLS IHC[®]. Aceste proceduri de control al calității trebuie repetate pentru fiecare lot nou de anticorpi sau ori de câte ori există o modificare a parametrilor de analiză. Țesuturile enumerate în secțiunea Caracteristici de performanță sunt potrivite pentru verificarea testului.

Depanare:

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

Interpretarea colorării:

Polimerul AP de șoarece MACH 2 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. Martorii negativi sunt evaluați 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 toți 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 utilizați. Consultați prospectele de ambalaj pentru substrat pentru reacțiile de culoare așteptate. Mai mult, metacromazia poate fi observată în variațiile metodei de colorare.¹²

Când se folosește o contracolorare, în funcție de durata de incubare și de potența contracolorului utilizat, contracolorarea va avea ca rezultat o colorare a nucleilor celulari. Contracolorarea excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea corectă a rezultatelor. Consultați protocoalele pentru contracolorarea 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 controlul 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 intacte pentru interpretarea rezultatelor colorării. Celulele necrotice sau degenerate se colorează adesea nespecific.

Țesutul pacientului:

Examinați mostrele pacientului colorate cu anticorpul indicat ultimul. Intensitatea colorării pozitive trebuie evaluată în contextul oricărei colorări de fond nespecifice a controlului reactiv negativ. Ca și în cazul oricărui test imunohistochimic, un rezultat negativ înseamnă că antigenul nu a fost detectat, nu că antigenul a fost absent în celulele/țesutul testat. Dacă este necesar, utilizați un panou de anticorpi pentru a identifica reacțiile fals-negative.

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

Limitări: Limitări

generale:

1. Pentru *in vitro* (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 corespunzători; selecția, fixarea și prelucrarea țesuturilor; prepararea lamei IHC; și interpretarea rezultatelor colorării.
3. Pentru utilizare numai pe bază de prescripție medicală. (Numai Rx)
4. Colorarea țesuturilor depinde de manipularea și prelucrarea țesutului înainte de colorare. Fixarea necorespunzătoare, înghețarea, dezghețarea, spălarea, uscarea, încălzirea, secționarea sau contaminarea cu alte țesuturi sau fluide pot produce artefacte, captarea anticorpilor sau rezultate fals negative. Rezultatele inconsecvente se pot datora variațiilor în metodele de fixare și incorporare sau neregularităților inerente în țesut.¹³
5. Contracolorarea excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea corectă a rezultatelor.
6. Interpretarea clinică a oricărei colorații pozitive sau negative trebuie evaluată în contextul prezentării clinice, al morfologiei și al altor criterii histopatologice. Interpretarea clinică a oricărei colorări pozitive sau negative ar trebui să fie completată de studii morfologice care utilizează controale interne și externe pozitive și negative adecvate, precum și alte teste de diagnosticare. Este responsabilitatea unui patolog calificat care este familiarizat cu utilizarea corectă a anticorpilor, reactivilor și metodelor IHC să interpreteze toți pașii utilizați pentru pregătirea și interpretarea preparatului final IHC.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

71/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Romanian

BIOCARE
M E D I C A L

7. Protocoalele optime pentru o anumită aplicație pot varia. Acestea includ, dar nu se limitează la fixare, metoda de recuperare a căldurii, timpii de incubare, diluarea anticorpilor, grosimea secțiunii de țesut și trusa de detectare utilizată. Consultați instrucțiunile de utilizare a anticorpului primar și a altor reactivi auxiliari pentru protocoalele și condițiile recomandate de utilizare. Recomandările și protocoalele din fișa de date se bazează pe utilizarea exclusivă a produselor Biocare. În cele din urmă, este responsabilitatea investigatorului să determine condițiile optime.
8. Acest produs nu este destinat utilizării în citometria în flux. Caracteristicile de performanță nu au fost determinate pentru citometria în flux.
9. 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.¹⁴
10. Reactivii 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 neoplasme sau în alte țesuturi patologice.¹⁵ Contactați asistența tehnică Biocare la 1-800-542-2002 sau prin intermediul informațiilor de asistență tehnică furnizate pe biocare.net, cu reacții neașteptate documentate.
11. Serurile normale/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.¹³
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.

Caracteristici de performanță:

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

Reproductibilitate: Reproductibilitatea

sistemelor de detectare și a reactivilor de sistem Biocare este verificată printr-o măsurare a preciziei intermediare în care au fost testate diferite loturi de reactivi pe o perioadă lungă de timp folosind diverși operatori, analiști, loturi de reactivi, mostre de țesut și echipamente. Colorația obținută pentru fiecare reactiv de detecție evaluat a fost consecventă și a fost efectuată conform așteptărilor.

Depanare:

1. Nicio colorare a niciunei lame – Verificați pentru a determina dacă au fost utilizate țesuturi de control pozitiv adecvate, anticorpi și produse de detectare. Verificați dacă există îndepărtarea sau pretratarea ceară incompletă sau necorespunzătoare.
2. Colorare slabă a tuturor lamelor – Verificați pentru a determina dacă au fost utilizate țesuturi de control pozitiv adecvate, anticorpi și produse de detectare.
3. Fundal excesiv al tuturor diapozitivelor – Pot exista niveluri ridicate de biotină endogenă (dacă se utilizează produse de detecție pe bază de biotină), activitate HRP endogenă de conversie a cromogenului în produs final colorat (utilizați bloc de peroxidază) sau interacțiune proteică nespecifică în exces (utilizați o proteină). bloc, cum ar fi soluția de blocare pe bază de ser sau caseină).

4. Secțiunile de țesut spăla lamelele în timpul incubăției – 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 timpii de incubare corespunzători pentru toți reactivii. În plus, asigurați-vă că protocolul are suficienți pași de spălare pentru a elimina excesul de reactivi după finalizarea etapelor de incubare.

Referințe:

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



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

72/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Slovak

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Zamýšľané použitie:

Na *in vitro* diagnostické použitie

MACH 2 Mouse AP-Polymer je určený na použitie v manuálnych alebo automatických imunohistochemických (IHC) protokoloch farbenia s použitím jednokrakovej aplikácie metódy polyméru alkalického fosfatázy (AP). Táto mikropolymerová detekčná súprava je navrhnutá na detekciu primárnych myších IgG protilátok naviazaných na cieľové antigény v tkanivách fixovaných vo formalíne a zaliatých v parafíne (FFPE) počas procesu farbenia IHC. Klinická interpretácia akéhokoľvek zafarbenia alebo jeho absencie by mala byť doplnená morfológickými štúdiami a náležitými kontrolami a mala by byť hodnotená v kontexte pacientovej klinickej anamnézy a iných diagnostických testov kvalifikovaným patológom.

Zhrnutie a vysvetlenie:

MACH 2 Mouse AP-Polymer je navrhnutý s použitím jednokrakovej metódy na detekciu myších primárnych protilátok, aby sa vytvoril komplex protilátka-enzým. Tento komplex sa potom vizualizuje použitím vhodného substrátu/chromogénu. V jednokrakovej metóde sa aplikuje sekundárna protilátka priamo spojená s mikropolymerom.

Princíp postupu:

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

Materiály a metódy:

Dodávané reagenty:

Kit Catalog No.	Component Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
MALP521G	MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 mL

Rekonštitúcia, miešanie, riedenie, titrácia:

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

Známe aplikácie:

Imunohistochemia (formalínom fixované tkanivá zaliate do parafínu)

Druhá reaktivita:

Myšacie IgG ťažké a ľahké reťazce

Dodávané ako:

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 konzervačný prostriedok. 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 Sušiacia pec (voliteľná)
xylén alebo náhrada xylénu
Etanol alebo alkohol s činidlom
Decloaking komora* alebo podobný tlakový hrniec (voliteľné)
Deionizovaná alebo destilovaná voda
Premývací pufer*
Činidlá na predúpravu* (voliteľné)
Enzýmové štiepenie* (voliteľné)
Blok peroxidázy* (voliteľné)
Blok proteínov* (voliteľné)
Primárna protilátka*
Činidlá na negatívnu kontrolu*
Chromogény*
Hematoxylin* (kontrafarba)
Činidlo na zafarbenie*
Montážne médium*
na kryte
Svetelný mikroskop(40-400x zväčšenie)

* Biocare Medical Products: Ďalšie informácie o katalogových 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 expirácie vytlačeného na štítku injekčnej liekovky, ak sa uchováva za týchto podmienok. Nepoužívajte po dátume expirácie. Skladovanie za akýchkoľvek iných podmienok, ako sú uvedené, musí byť overené. Činidlá súpravy sú pripravené na použitie a nemali by sa riediť. Stabilita užívateľom zriedeného 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 podozrenie na problém s protilátkou, kontaktujte technickú podporu spoločnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002 alebo prostredníctvom informácií o technickej podpore poskytovaných na biocare.net.

Priprava vzorky:

Tkanivá fixované vo formalíne sú vhodné na použitie pred zaliatím parafínom. Kostné tkanivá by sa mali pred spracovaním tkaniva odvápnit, aby sa uľahčilo rezanie tkaniva a zabránilo sa poškodeniu čepielok mikrotómu.^{1,2}

Správne fixované a zaliate tkanivá exprimujúce špecifikovaný cieľový 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 sklíčka najmenej desať rokov od

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Slovak

BIOCARE
M E D I C A L

dátumu vyšetrenie a uchovávať bloky vzoriek najmenej dva roky od dátumu vyšetrenia.³


Ošetrovanie tkanív pred farbením:

Vykonajte 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. 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 dráždivý a môže spôsobiť senzibilizáciu pri kontakte s pokožkou. Zabráňte kontaktu s očami, pokožkou a sliznicami.
2. Zaochádzajte 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.^{6,7}
3. So vzorkami pred a po fixácii a so všetkými materiálmi, ktoré sú im vystavené, by sa malo zaochádzať tak, ako keby boli schopné prenášať infekciu, a mali by sa likvidovať s náležitými opatreniami. Nikdy nepipetujte reagenty ústami a vyhýbajte sa kontaktu kože a slizníc s číždami a vzorkami. Ak sa reagenty alebo vzorky dostanú do kontaktu s citlivými oblasťami, umyte ich veľkým množstvom vody.⁸
4. Mikrobiálna kontaminácia číždidiel môže viesť k zvýšeniu nešpecifického zafarbenia.
5. Iné inkubačné časy alebo teploty, ako sú uvedené, môžu viesť k chybným výsledkom. Používateľ musí každú takúto zmenu potvrdiť.
6. Nepoužívajte číždilo po dátume expirácie vytlačenom na injekčnej liekovke.
7. Číždila súpravy na detekciu mikropolymérov sú optimalizované a pripravené na použitie s protilátkami Biocare a pomocnými číždami. Odporúčané protokoly a podmienky použitia nájdete v pokynoch na použitie primárnej protilátky a ďalších pomocných reagentov.
8. Dodržiavajte požiadavky miestnych a/alebo štátnych orgánov na spôsob likvidácie.
9. KBÚ je k dispozícii na požiadanie a nachádza sa na <http://biocare.net>.
10. Nahláste akékoľvek 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	Vyhlasenie 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:

Číždila súpravy na detekciu mikropolymérov sú optimalizované a pripravené na použitie s protilátkami Biocare a pomocnými číždami. Odporúčané protokoly a podmienky použitia nájdete v pokynoch na použitie primárnej protilátky a ďalších pomocných reagentov. Inkubačné časy a teploty sa budú líšiť v závislosti od špecifického protokolu protilátky, 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: Deparafinizujte sklíčka v Slide Brite alebo xyléne. Hydratujte sklíčka 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 protilátok.
4. Proteínový blok (voliteľný): Inkubujte 5-10 minút pri izbovej teplote (RT) s Background Punisher.
5. Primárna protilátka: Inkubačný čas nájdete v príslušnom údajovom liste primárnej protilátky.
6. Polymér: Inkubujte 30 minút pri teplote miestnosti s MACH 2 Mouse AP-Polymer.
7. Chromogén: Inkubujte 5-7 minút pri teplote miestnosti s Warp Red.
8. Kontrafarbivo: Kontrafarbivo hematoxylinom. Opláchnite deionizovanou vodou. Aplikujte Tacha's Blueing Solution na 1 minútu. Opláchnite deionizovanou vodou.

Technické poznámky:

1. Na premyvanie použite TBS. Premývacie pufre PBS budú inhibovať farbenie alkalickou fosfatázou.
2. Blokovanie endogénnej peroxidázy sa nevyžaduje; avšak ponorenie sklíčok do Peroxidazed 1 bieli tkanivá a červené krvinky, čo vytvára lepší kontrast pre postupy farbenia alkalickou fosfatázou.

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). 2011⁹

Positívna kontrola tkaniva:

Materiály vonkajšej pozitívnej kontroly by mali byť čerstvé vzorky fixované, spracované a zaliate čo najskôr rovnakým spôsobom ako vzorka (vzorky) pacienta. Positívne kontroly tkaniva naznačujú správne pripravené tkanivá a správne techniky farbenia. Do každého cyklu farbenia by mala byť zahrnutá jedna pozitívna externá tkanivová kontrola pre každý súbor testovacích podmienok.

Tkanivá použité pre externé materiály pre pozitívnu kontrolu by sa mali vyberať zo vzoriek pacientov s dobre charakterizovanými nízkymi hladinami pozitívnej cieľovej aktivity, ktorá poskytuje slabé pozitívne zafarbenie. Nízka úroveň pozitivity 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 sklíčka alebo vzorky spracované inak ako vzorka (vzorky) pacienta iba overujú účinnosť číždila a neoverujú prípravu tkaniva.

Známe pozitívne kontroly tkaniva by sa mali používať len na monitorovanie správneho výkonu spracovaných tkanív a testovacích číždidiel, a nie ako pomôcka pri formulovaní špecifickej diagnózy vzoriek pacientov. Ak pozitívne kontroly tkaniva nepreukážu pozitívne zafarbenie, výsledky s testovanými vzorkami by sa mali považovať za neplatné.

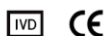
Negatívna tkanivová kontrola:

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 cieľového antigénu a poskytnutie indikácie špecifického zafarbenia pozadia (falošne pozitívne farbenie). Môže to byť aj množstvo rôznych typov buniek prítomných vo väčšine tkanivových rezov byť použité laboratóriom ako interné negatívne kontrolné miesta na overenie výkonu IHC technické údaje. Typy a zdroje vzoriek, ktoré možno použiť na negatívne tkanivo ovládacie prvky sú uvedené v časti Výkonnostné charakteristiky.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

74/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Slovak

BIOCARE
M E D I C A L

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 vyhodnotili nešpecifické zafarbenie a

umožnili lepšiu interpretáciu špecifického zafarbenia v mieste antigénu. V ideálnom prípade obsahuje negatívna reagenčná kontrola protilátku vyrobenú a pripravenú (tj zriedenú na rovnakú koncentráciu použitím rovnakého riedidla) na použitie rovnakým spôsobom ako primárna protilátka, ale nevykazuje žiadnu špecifickú reaktivitu s ľudskými tkanivami v rovnakej matrici/roztoke ako Biocare protilátka. Samotné riedidlo sa môže použiť ako menej žiaduca alternatíva k predtým opísaným negatívnym kontrolným činidlám. Inkubačná doba pre negatívnu reagenčnú kontrolu by mala zodpovedať dobe primárnej protilátky.

Keď sa na sériových rezoch použijú panely niekoľkých protilátok, negatívne zafarbené oblasti jedného sklíčka môžu slúžiť ako negatívna/nešpecifická väzbová kontrola pozadia pre iné protilátky. Na odlišenie endogénnej enzymovej aktivity alebo nešpecifickej väzby enzýmov 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 vyššie v tejto časti príbalového letáku k produktu a odporúčania kontroly kvality certifikačného programu CAP® pre imunohistochémiu a/alebo usmernenia NCCLS IHC¹¹. Tieto postupy kontroly kvality by sa mali opakovať pre každú novú šaržu protilátok alebo vždy, keď dôjde k zmene parametrov testu. Na overenie testu sú vhodné tkanivá uvedené v časti Výkonnosť 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 2 Mouse AP-Polymér vytvára červenú farebnú reakciu na miestach antigénu lokalizovaných primárnou protilátkou. Pred interpretáciou výsledkov pacienta musí zafarbenie kontrol vyhodnotiť kvalifikovaný patológ. Negatívne kontroly sa vyhodnotia a porovnajú so zafarbenými sklíčkami, aby sa zabezpečilo, že akékoľvek pozorované zafarbenie nie je výsledkom nešpecifických interakcií.

Pozitívna kontrola tkaniva:

Pozitívna tkanivová kontrola zafarbená indikovanou protilátkou by sa mala najskôr vyšetriť, aby sa zistilo, že všetky činidlá fungujú správne. Príslušné farbenie cieľových buniek (ako je uvedené vyššie) svedčí o pozitívnej reaktivite. Ak pozitívne kontroly tkaniva nepreukážu pozitívne zafarbenie, akékoľvek výsledky s testovanými vzorkami by sa mali považovať za neplatné.

Farba reakčného produktu sa môže meniť v závislosti od použitých substrátových chromogénov. Očakávané farebné reakcie nájdete v príbalových letákových substrátu. Ďalej je možné pozorovať metachromáziu vo variantoch spôsobu farbenia.¹²

Keď sa použije kontrastné farbenie, v závislosti od dĺžky inkubácie a účinnosti použitého kontrastného farbenia, kontrastné farbenie povedie k zafarbeniu

bunkových jadier. Nadmerné alebo neúplné kontrastné farbenie môže ohroziť 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 cieľového antigénu primárnou protilátkou. Neprítomnosť špecifického zafarbenia v negatívnej kontrole tkaniva potvrdzuje nedostatok krížovej reaktivity protilátky s bunkami/bunkovými zložkami. Ak sa v negatívnej vonkajšej kontrole tkaniva vyskytne špecifické zafarbenie (falošne pozitívne zafarbenie), výsledky so vzorkou pacienta by sa mali považovať za neplatné.

Nešpecifické sfarbenie, ak je prítomné, má zvyčajne difúzny vzhľad. Sporadické zafarbenie spojivového tkaniva možno pozorovať aj na rezoch z tkanív nadmerne fixovaných formalínom. Na interpretáciu výsledkov farbenia použite neporušené bunky. Nekrotické alebo degenerované bunky sa často farbja nešpecificky.

Tkanivo pacienta:

Preskúmajte vzorky pacientov zafarbené indikovanou protilátkou posledný. Intenzita pozitívneho zafarbenia by sa mala posúdiť v kontexte akéhokoľvek nešpecifického zafarbenia pozadia negatívnej kontroly s činidlom. Ako pri akomkoľvek imunohistochemickom teste, negatívny výsledok znamená, že antigén nebol detegovaný, nie že antigén chýbal v testovaných bunkách/tkanive. V prípade potreby použite panel protilátok na identifikáciu falošne negatívnych reakcií.

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

Obmedzenia:

Všeobecné obmedzenia:

1. Na *in vitro* (IVD)
2. Tento produkt je určený len na profesionálne použitie: Imunohistochemia je viackrokový diagnostický proces, ktorý pozostáva zo špecializovaného školenia na výber vhodných činidiel; 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, rozmrazovanie, umývanie, sušenie, zahrievanie, rezanie alebo kontaminácia inými tkanivami alebo tekutinami môže spôsobiť artefakty, zachytávanie protilátok alebo falošne negatívne výsledky. Nekonzistentné výsledky môžu byť spôsobené odchýlkami v metódach fixácie a zapustenia alebo prirodzenými nepravidlosťami v tkanive.¹³
5. Nadmerné alebo neúplné kontrastné farbenie môže ohroziť správnu interpretáciu výsledkov.
6. Klinická interpretácia akéhokoľvek pozitívneho alebo negatívneho zafarbenia by sa mala hodnotiť v kontexte klinického obrazu, morfológie a iných histopatologických kritérií. Klinická interpretácia akéhokoľvek pozitívneho alebo negatívneho zafarbenia by mala byť doplnená morfológickými štúdiami s použitím správnych pozitívnych a negatívnych vnútorných a vonkajších kontrol, ako aj iných diagnostických testov. Je zodpovednosťou kvalifikovaného patológa, ktorý je oboznámený so správnym používaním IHC protilátok, činidiel a metód, interpretovať všetky kroky použité na prípravu a interpretáciu konečného IHC preparátu.
7. Optimálne protokoly pre konkrétnu aplikáciu sa môžu líšiť. Tieto zahŕňajú, ale nie sú obmedzené na fixáciu, metódu získania tepla, inkubačné časy, riedenie protilátky, hrúbku tkanivového rezu a použitú detekčnú súpravu. Odporúčané protokoly a podmienky použitia nájdete



60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

75/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Slovak

BIOCARE
M E D I C A L

- v pokynoch na použitie primárnej protilátky a ďalších pomocných reagensí. Odporúčania a protokoly údajových listov sú založené na výhradnom používaní produktov Biocare. V konečnom dôsledku je zodpovednosťou vyšetrovateľa určiť optimálne podmienky.
8. Tento produkt nie je určený na použitie v prietokovej cytometrii. Výkonnostné charakteristiky neboli stanovené pre prietokovú cytometriu.
 9. Tkanivá od osôb infikovaných vírusom hepatitídy B a obsahujúce povrchový antigén hepatitídy B (HBsAg) môžu vykazovať nešpecifické zafarbenie chrenovou peroxidázou.¹⁴
 10. Reagencie môžu vykazovať neočakávané reakcie v predtým netestovaných tkanivách. Možnosť neočakávaných reakcií ani v testovaných skupinách tkanív nie je možné úplne eliminovať z dôvodu biologickej variability expresie antigénu v novotvaroch alebo iných patologických tkanivách.¹⁵ Kontaktujte technickú podporu spoločnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002 alebo prostredníctvom informácií technickej podpory poskytnutých na biocare.net so zdokumentovanými neočakávanými reakciami.
 11. Normálne/neimunitné séra z rovnakého zvieracieho zdroja ako sekundárne antiséra použité v blokovacích krokoch môžu spôsobiť falošne negatívne alebo falošne pozitívne výsledky v dôsledku autoprotilátok alebo prirodzených protilátok.
 12. Falošne pozitívne výsledky môžu byť pozorované v dôsledku neimunologickej väzby proteínov alebo produktov reakcie substrátu. Môžu byť spôsobené aj pseudoperoxidázovou aktivitou (erytrocyty), endogénnou peroxidázovou aktivitou (cytochróm C) alebo endogénnym biotínom (napr. peččeň, prsia, mozog, obličky) v závislosti od typu použitého imunofarbiva.¹³
 13. Negatívny výsledok znamená, že antigén nebol detegovaný, nie že antigén chýbal v skúmaných bunkách alebo tkanive.

Špecifické obmedzenia produktu:

Žiadne ďalšie špecifické obmedzenia produktu.

Výkonnostné charakteristiky:

Farbenie sa uskutočňovalo s použitím protokolov poskytnutých v pokynoch na použitie špecifických pre protilátku alebo podľa špecifikácie. Citlivosť a špecifická farbenia sa hodnotila v celom rozsahu normálnych a neoplastických typov tkanív hodnotených počas vývoja primárnych protilátok.

Reprodukovateľnosť: Reprodukovateľnosť

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

Riešenie problémov:

1. Žiadne zafarbenie sklíčok – Skontrolujte, či sa použilo vhodné tkanivo pozitívnej kontroly, protilátka a detekčné produkty. Skontrolujte neúplné alebo nesprávne odstránenie vosku alebo predbežnú úpravu.
2. Slabé zafarbenie všetkých sklíčok – Skontrolujte, či sa použilo vhodné tkanivo pozitívnej kontroly, protilátka a detekčné produkty.
3. Nadmerné pozadie všetkých sklíčok – Môžu existovať vysoké hladiny endogénneho biotínu (ak používate detekčné produkty na báze biotínu), endogénna aktivita HRP premieňajúca chromogén na farebný konečný produkt (použite peroxidázový blok) alebo nadmerná nešpecifická proteínová interakcia (použite proteín blok, ako je blokovací 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 titer protilátok, ako aj správne inkubačné časy pre všetky činidlá. Okrem toho sa uistite, že protokol

obsahuje dostatok premývacích krokov na odstránenie nadbytočných činidiel po dokončení inkubačných krokov.

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



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

76/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Slovenian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Predvidena uporaba:

Za *in vitro* diagnostično uporabo

MACH 2 Mouse AP-Polymer je namenjen za uporabo v protokolih ročnega ali avtomatiziranega imunohistokemijskega (IHC) barvanja z uporabo enostopenjske metode nanašanja polimera alkalne fosfataze (AP). Ta komplet za odkrivanje mikropolimerov je zasnovan za odkrivanje primarnih protiteles mišjih 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 morfološki študijami in ustreznimi kontrolami ter jo mora oceniti usposobljen patolog v kontekstu bolnikove klinične anamneze in drugih diagnostičnih testov.

Povzetek in razlaga:

MACH 2 Mouse AP-Polymer je zasnovan z uporabo enostopenjske metode za odkrivanje mišjih primarnih protiteles za tvorbo kompleksa protitelo-encim. Ta kompleks se nato vizualizira z uporabo ustreznega substrata/kromogena. Pri enostopenjski metodi se uporabi sekundarno protitelo, neposredno povezano z mikropolimerom.

Načelo postopka:

Ta komplet za odkrivanje mikropolimerov se lahko uporablja pri imunohistokemijskem testiranju 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 protitelu (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 lahko nato obarvamo in prekrijemo s pokravnim stekelcem. 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 Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 mL

Rekonstitucija, mešanje, redčenje, titracija:

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

Znane uporabe:

Imunohistokemija (s formalinom fiksirana tkiva, vdolana v parafin)

Vrsta Reaktivnost:

Težke in lahke verige mišjih IgG

Dobavljeno kot:

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 tkivna kontrola
Puščavska komora* ali podobna Sušilna pečica (izbirno)
Ksilen ali nadomestek ksilena
Etanol ali reagentni alkohol
Komora za razkrivanje* ali podoben lonc 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 modrilo*
Montažni medij*
protibarvanje
Svetlobni mikroskop(40-400-kratna povečava)

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

Shranjevanje in stabilnost:

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

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 primerni za uporabo pred vgradnjo parafina. Kostna tkiva je treba pred obdelavo tkiva dekalificirati, da olajšamo rezanje tkiva in preprečimo poškodbe rezil mikrotoma.^{1,2}

Pravilno fiksirana in vdolana tkiva, ki izražajo določeno tarčo antigena, 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

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Slovenian

BIOCARE
M E D I C A L


Obdelava tkiv pred barvanjem:

Izvedite pridobivanje epitopa, povzročeno s toploto (HIER) po spodaj priporočenem protokolu. Pokazalo se je, da rutinska uporaba HIER pred IHC zmanjšuje nedoslednost in standardizira barvanje.^{4,5}

Opozorila in previdnostni ukrepi:

1. Komplet reagentov vsebuje manj kot 0,05 % ProClin 300 in/ali manj kot 1 % ProClin 950. Nosite rokavice in zaščitno obleko ter pri rokovanju upoštevajte razumne previdnostne ukrepe, saj je ProClin razvrščen kot dražljivi in lahko povzroči preobčutljivost kože. Izogibajte se stiku z očmi, kožo in sluznicami.
2. S snovmi človeškega ali živalskega izvora ravnajte kot s potencialno biološko nevarnimi snovmi in jih odstranite z ustreznimi varnostnimi ukrepi. V primeru izpostavljenosti upoštevajte zdravstvene smernice pristojnih organov, kjer jih uporabljate.^{6,7}
3. Z vzorci pred in po fiksaciji ter z vsemi materiali, ki so jim izpostavljeni, je treba ravnati, kot da bi lahko prenašali okužbo, in jih odstraniti z ustreznimi varnostnimi ukrepi. Reagentov nikoli ne pipetirajte z usti in se izogibajte stiku reagentov in vzorcev s kožo in sluznicami. Če pridejo reagenti ali vzorci v stik z občutljivimi območji, jih sperite z veliko vode.⁸
4. Mikroba kontaminacija reagentov lahko povzroči povečanje nespecifičnega obarvanja.
5. Časi inkubacije ali temperature, ki niso navedene, lahko dajo napačne rezultate. Uporabnik mora vsako takšno spremembo potrditi.
6. Reagenta ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti, ki je natisnjen na viali.
7. Reagenti kompleta za odkrivanje mikropolimerov so optimizirani in pripravljene za uporabo s protitelesi Biocare in pomožnimi reagenti. Za priporočene protokole in pogoje uporabe glejte navodila za uporabo primarnega protitelesa in drugega pomožnega reagenta.
8. Upoštevajte zahteve lokalnih in/ali državnih oblasti glede načina odstranjevanja.
9. Varnostni list je na voljo na zahtevo in se nahaja na <http://biocare.net>.
10. Prijavite vse resne incidente, povezane s to napravo, tako da se obrnete na lokalnega predstavnika družbe Biocare in ustreznih pristojnih organov 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 pripravljene 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 ksileni. Hidrat drsi v nizu razvrščenih alkoholov v vodo.
2. Peroxide Block (izbirno): Blokiranje 5 minut s Peroxidazed 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 protitelo: Za čas inkubacije glejte ustrezn list s podatki o primarnih protitelesih.

6. Polimer: Inkubirajte 30 minut pri sobni temperaturi z MACH 2 mišjim AP-polimerom.

7. Kromogen: Inkubirajte 5-7 minut pri RT z Warp Red.

8. Protibarvanje: Protibarvanje s hematoksilinom. Izperite z deionizirano vodo. Nanesite raztopino Tacha's Bluing Solution za 1 minuto. Izperite z deionizirano vodo.

Tehnične opombe:

1. Za korake pranja uporabite TBS. Pralni pufrji PBS bodo zavirali obarvanje z alkalno fosfatazo.

2. Blokiranje endogene peroksidaze ni potrebno; vendar potopitev stekelcev v Peroxidazed 1 pobeli tkiva in rdeče krvne celice, kar ustvari boljši kontrast za postopke obarvanja z alkalno fosfatazo.

Nadzor kakovosti:

glejte standarde kakovosti CLSI za načrtovanje in izvajanje imunohistokemijskih testov; Odobrene smernice – druga izdaja (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA ZDA (www.clsi.org). 2011⁹

Pozitivna kontrola tkiva:

materiale za zunanjo pozitivno kontrolo je treba čim prej pritrčiti, obdelati in vdlati v sveže vzorce na enak način kot vzorce bolnika. Pozitivne kontrole tkiva kažejo na pravilno pripravljena tkiva in pravilne tehnike barvanja. V vsak postopek barvanja je treba vključiti eno pozitivno zunanjo kontrolo tkiva za vsak niz testnih pogojev.

Tkiva, uporabljena za materiale za zunanjo pozitivno kontrolo, je treba izbrati iz bolnikovih vzorcev z dobro označenimi nizkimi ravnmi pozitivne ciljne aktivnosti, ki daje šibko pozitivno obarvanje. Nizka raven pozitivnosti za zunanje 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 kontrolo tkiva ali vzorci, obdelani drugače kot vzorec(-i) bolnika, potrjujejo 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 vdlato na enak način kot vzorci bolnika, da preverite specifičnost primarnega protitelesa IHC za prikaz tarčnega antigena in podatke 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 tkivno kontrolniki so navedeni v razdelku Performance Characteristics.

Če se pri negativni kontroli tkiva pojavi specifično obarvanje (lažno pozitivno obarvanje), je treba rezultate bolnikovih vzorcev obravnavati kot neveljavne.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

78/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Slovenian

BIOCARE
M E D I C A L

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 antigena. V idealnem primeru negativna kontrola reagenta vsebuje proizvedeno in pripravljeno protitelo (tj. razredčeno na enako koncentracijo z istim razredčilom) za uporabo na enak način kot primarno protitelo, vendar ne kaže specifične reaktivnosti s človeškimi tkivi v istem matriksu/raztopini kot Biocare protitelesa. Samo razredčilo se lahko uporabi kot manj zaželeno alternativa prej opisanim negativnim kontrolam reagenta. Inkubacijsko obdobje za negativno kontrolo reagenta mora ustrezati obdobju primarnega protitelesa.

Kadar se plošče z več protitelesi uporabljajo na serijskih odsekih, lahko negativno obarvana področja enega preparata služijo kot negativna/nespecifična vezavna kontrola ozadja za druga protitelesa. Za razlikovanje endogene encimske aktivnosti ali nespecifične vezave encimov od specifične imunoreaktivnosti se lahko dodatna bolnikova tkiva obarvajo izključno s substrat-kromogenom ali encimskimi kompleksi (PAP, avidin-biotin, streptavidin) oziroma substrat-kromogen.

Preverjanje testa:

Pred prvo uporabo protitelesa ali sistema obarvanja v diagnostičnem postopku mora uporabnik preveriti specifičnost protitelesa tako, da ga testira na nizu lastnih tkiv z znanimi 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 CAP[®] za imunohistokemijo in/ali smernice NCCLS IHC¹. 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 primerna za preverjanje testa.

Odpravljanje 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 barvanja:

MACH 2 Mouse AP-Polymer povzroči rdečo barvno reakcijo na mestih antigena, ki jih lokalizira primarno protitelo. 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 uporabljene substratne kromogene. Za pričakovane barvne reakcije glejte navodila za embalažo substrata. Poleg tega lahko opazimo metakromazijo pri različnih metodah obarvanja.¹²

Če se uporabi protibarvanje, bo odvisno od dolžine inkubacije in moči uporabljene nasprotne barvanja povzročilo obarvanje celičnih jeder. 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 antigena s primarnim protitelesom. Odsotnost specifičnega barvanja v negativni tkivni kontroli potrjuje pomanjkanje navzkrižne reaktivnosti protiteles na celice/celične komponente. Če pride do specifičnega obarvanja (lažno pozitivno obarvanje) pri negativni zunanji kontroli tkiva, je treba rezultate bolnikovega vzorca 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 negativen 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 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.¹³
5. Prekomerno ali nepopolno kontrastno barvanje lahko ogrozi pravilno razlago rezultatov.
6. Klinično interpretacijo kakršnega koli pozitivnega ali negativnega obarvanja je treba ovrednotiti v okviru klinične slike, morfološke in drugih histopatoloških meril. Klinično interpretacijo kakršnega koli pozitivnega ali negativnega obarvanja je treba dopolniti z morfološkimi študijami z uporabo ustreznih pozitivnih in negativnih natanjših 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 toplote, čas inkubacije, razredčitev protiteles, debelino odseka tkiva in uporabljen komplet za odkrivanje. Za priporočene protokole in pogoje uporabe glejte navodila za uporabo primarnega protitelesa in drugega pomožnega reagenta. Priporočila in protokoli podatkovnega lista temeljijo na izključni uporabi izdelkov Biocare. Navsezadnje je odgovornost raziskovalca, da določi optimalne pogoje.
8. Ta izdelek ni namenjen uporabi v pretočni citometriji. Značilnosti delovanja za pretočno citometrijo niso bile določene.
9. Tkiva oseb, okuženih z virusom hepatitisa B in vsebujejo površinski antigen hepatitisa B (HBsAg), so lahko nespecifično obarvana s hrenovno peroksidazo.¹⁴



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

79/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Slovenian

BIOCARE
M E D I C A L

10. Reagenti lahko pokažejo nepričakovane reakcije v predhodno netestiranih tkivih. Možnosti nepričakovanih reakcij tudi v testiranih skupinah tkiv ni mogoče popolnoma odpraviti zaradi biološke variabilnosti izražanja antigenov v novotvorbah ali drugih patoloških tkivih.¹⁵ Obrnite se na tehnično podporo podjetja Biocare na 1-800-542-2002 ali prek informacij o tehnični podpori na biocare.net z dokumentiranimi nepričakovanimi reakcijami.
11. Normalni/neimunski serumi iz istega živalskega izvora kot sekundarni antiserumi, uporabljeni v korakih blokiranja, lahko povzročijo lažno negativne ali lažno pozitivne rezultate zaradi avtoprotiteles ali naravnih protiteles.
12. Lažno pozitivne rezultate lahko opazimo zaradi neimunološke vezave beljakovin ali reakcijskih produktov substrata. Lahko jih povzročijo tudi aktivnost psevdno peroksidaze (eritrociti), aktivnost endogene peroksidaze (citokrom C) ali endogeni biotin (npr. jetra, dojke, možgani, ledvice), odvisno od vrste uporabljenega imunskega barvanja.¹³
13. Negativen rezultat pomeni, da antigen ni bil odkrit, ne pa, da 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.

Odpravljanje težav:

1. stekelca ni obarvana – preverite, da ugotovite, ali so bila uporabljena ustrezna pozitivna kontrola, tkivo, protitelesa in izdelki za odkrivanje. Preverite nepopolno ali nepravilno odstranjevanje ali predobdelavo voska.
2. Šibko obarvanje vseh stekelcev – Preverite, da ugotovite, ali so bila uporabljena ustrezna pozitivna kontrola, tkivo, protitelesa in izdelki za odkrivanje.
3. Prekomerno ozadje vseh stekelcev – morda so visoke ravni endogenega biotina (če uporabljate izdelke za odkrivanje na osnovi biotina), endogena HRP aktivnost, ki pretvarja kromogen v obarvani končni produkt (uporabite blok peroksidaze) ali prekomerno nespecifično interakcijo z beljakovinami (uporabite beljakovino blok, kot je raztopina za blokiranje na osnovi seruma ali kazeina).
4. Odrezki tkiv se med inkubacijo sperejo s stekelcev – Preverite stekelca, da zagotovite, da so pozitivno naelektrena.
5. Specifično barvanje je pretemno – Preverite protokol, da ugotovite, ali je bil na objektu stekelcu uporabljen ustrezen 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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

80/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Spanish

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Uso previsto:

Para *in vitro* uso diagnóstico

El MACH 2 Mouse AP-Polymer está diseñado para usarse en protocolos de tinción de inmunohistoquímica (IHC) manuales o automatizados utilizando un método de aplicación de un solo paso de polímero de fosfatasa alcalina (AP). Este kit de detección de micropolímeros está diseñado para la detección de anticuerpos primarios IgG de ratón 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 2 Mouse AP-Polymer está diseñado utilizando un método de un solo paso para detectar anticuerpos primarios de ratón 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.

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 contratarse 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 Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 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:

cadena pesada y ligera de IgG de ratón

Suministrado como:

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 ProClin 950 al 0,5% 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 desierto* 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)
Reactivo 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.

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:

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 micrótopo.^{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



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

81/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Spanish

BIOCARE
M E D I C A L

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 epítomos 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:

1. 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 al manipularlo, 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.
2. Manipule los materiales de origen humano o animal como potencialmente biopeligrosos y elimine dichos materiales con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, siga las directivas sanitarias de las autoridades responsables donde se utilice.^{6,7}
3. Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a ellas deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infecciones y desecharse con las precauciones adecuadas. Nunca pipetee 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.⁸
4. La contaminación microbiana de los reactivos puede provocar un aumento de la tinción inespecífica.
5. Los tiempos o temperaturas de incubación distintos a los especificados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.
6. No utilice el reactivo después de la fecha de caducidad impresa en el vial.
7. 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.
8. Siga los requisitos de las autoridades locales y/o estatales para el método de eliminación.
9. La SDS está disponible a pedido y se encuentra en <http://biocare.net>.
10. 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. Desparafinización: Desparafinar los portaobjetos en Slide Brite o xileno. Hidratar los portaobjetos en una serie de alcoholes graduados en agua.
2. Bloqueo 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. Bloqueo 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. Polímero: Incube durante 30 minutos a temperatura ambiente con MACH 2 Mouse AP-Polymer.
7. Cromógeno: Incube durante 5 a 7 minutos a temperatura ambiente con Warp Red.
8. Contratinción: contratinción con hematoxilina. Enjuague con agua desionizada. Aplique la solución de azulado de Tacha durante 1 minuto. Enjuague con agua desionizada.

Notas técnicas:

1. Use TBS para los pasos de lavado. Los tampones de lavado PBS inhibirán la tinción con fosfatasa alcalina.
2. No se requiere el bloqueo de la peroxidasa endógena; sin embargo, la inmersión de los portaobjetos en Peroxidized 1 blanquea los tejidos y los glóbulos rojos, lo que produce un mejor contraste para los procedimientos de tinción con fosfatasa alcalina.

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). 2011⁹

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.

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Spanish

BIOCARE
M E D I C A L

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 analizando 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 CAP® para inmunohistoquímica y/o la directriz NCCLS IHC¹¹. Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse para cada nuevo lote de anticuerpos o siempre que haya un cambio en los parámetros del ensayo. Los tejidos enumerados en la sección Características de rendimiento son adecuados para la verificación del ensayo.

Solución de problemas:

siga las recomendaciones del protocolo específico de anticuerpos 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 MACH 2 Mouse AP-Polymer 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.¹²

Cuando se usa una contratinción, según la duración de la incubación y la potencia de la contratinción utilizada, la contratinción dará como resultado una coloración de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Consulte los protocolos para la contratinción 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 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 reactivo negativo. 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.¹³



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

83/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
8627 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Spanish

BIOCARE
M E D I C A L

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.¹⁴
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.¹⁵ 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.¹³
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 bloque de peroxidasa) o un exceso de interacción proteica no específica (utilice una proteína bloquea, 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.

Referencias:

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



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

84/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Swedish

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Avsedd användning:

För *in vitro* diagnostisk användning

MACH 2 Mouse AP-Polymer är avsedd att användas i antingen manuell eller automatiserad immunhistokemi (IHC) färgningsprotokoll med användning av en enstegsappliceringsmetod för alkaliskt fosfatas (AP) polymer. Detta mikropolymerdetektionskit är utformat för att detektera primära mus-IgG-antikroppar bundna till målantigener i de formalinfixerade, paraffinbäddade (FPPE) vävnaderna under IHC-färgningsprocessen. Den kliniska tolkningen av eventuell färgning eller dess frånvaro 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 2 Mouse AP-Polymer är designad med en enstegsmetod för att detektera primära musantikroppar för att bilda ett antikropp-enzymkomplex. Detta komplex visualiseras sedan med användning av ett lämpligt substrat/kromogen. I enstegsmetoden appliceras en sekundär antikropp direkt kopplad till mikropolymeren.

Procedurprincip:

Detta mikropolymerdetektionskit kan användas vid immunhistokemistestning av formalinfixerade, paraffinbäddade vävnadssnitt. I allmänhet immunhistokemiska (IHC) färgningstekniker möjliggör visualisering av antigener 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 kromogent substrat med mellanliggande tvättsteg. Den enzymatiska aktiveringen av kromogenen resulterar i en synlig reaktionsprodukt vid antigenstället. Provet kan sedan motfärgas och täckglas. Resultaten tolkas med hjälp av ett ljus mikroskop och hjälp vid differentialdiagnostik av patofysiologiska processer, som kan eller kanske inte är associerad med ett visst antigen.

Material och metoder:

Reagents Provided:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 mL

Rekonstitution, blandning, utspädning, titrering:

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

Kända tillämpningar:

Immunhistokemi (formalinfixerade paraffinbäddade vävnader)

Arter Reaktivitet:

Mus IgG tunga och lätta kedjor

Levereras som:

Bufferad saltlösning, pH 7,6-7,8, innehållande en proteinbärrare 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
Etanol 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*
Ljuskroskop
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.

Positiva och negativa kontroller bör köras samtidigt med alla patientprover. Om oväntad färgning observeras som inte kan förklaras av variationer i laborierprocedurer 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 att använda före paraffinbäddning. Össös 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}

 Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

85/102



TP v2 (02/09/2023)

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

 EMERGO EUROPE
Westervoortsewijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123


Swedish

BIOCARE
M E D I C A L

Varning och försiktighetsåtgärder:

1. Kit-reagenser 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 klassificerat som irriterande och kan orsaka hudkontaktsensibilisering. Undvik kontakt med ögon, hud och slemhinnor.
2. 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.^{6,7}
3. 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. Pipettera aldrig reagens genom munnen och undvik att komma i kontakt med huden och slemhinnorna med reagenser och prover. Om reagenser eller prover kommer i kontakt med känsliga områden, tvätta med rikliga mängder vatten.⁸
4. Mikrobiell kontaminering av reagenser kan resultera i en ökning av ospecifik färgning.
5. Andra inkubationstider eller temperaturer än de angivna kan ge felaktiga resultat. Användaren måste validera alla sådana ändringar.
6. Använd inte reagens efter det utgångsdatum som är tryckt på flaskan.
7. 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.
8. Följ lokala och/eller statliga myndigheters krav för avfallshantering.
9. Säkerhetsdatabladet är tillgängligt på begäran och finns på <http://biocare.net>.
10. 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 antikropsprotokoll som följs. När du använder ett automatiserat färgningsinstrument, se den specifika instrumentets användarmanual och bruksanvisningar för driftsparametrar.

Allmänna procedursteg för att utföra IHC:

1. Avparaffinering: Avparaffinera objektglaset i Slide Brite eller xylen. Hydrera objektglaset i en serie graderade alkoholer till vatten.
2. Peroxidblock (valfritt): Blockera i 5 minuter med Peroxidazed 1.
3. Förbehandlingslösning/-protokoll: Se respektive datablad för primära antikroppar för rekommenderad förbehandlingslösning och protokoll.
4. Proteinblock (valfritt): Inkubera i 5-10 minuter vid rumstemperatur (RT) med Background Punisher.
5. Primär antikropp: Se respektive datablad för primär antikropp för inkubationstid.

6. Polymer: Inkubera i 30 minuter vid RT med MACH 2 Mouse AP-Polymer.
7. Kromogen: Inkubera i 5-7 minuter vid RT med Warp Red.
8. Motfärgning: Motfärgning med hematoxylin. Skölj med avjoniserat vatten. Applicera Tacha's Blueing Solution i 1 minut. Skölj med avjoniserat vatten.

Tekniska anmärkningar:

1. Använd TBS för tvättstegen. PBS tvättbuffertar kommer att hämma alkalisk fosfatfärgning.
2. Blockering för endogent peroxid krävs inte; nedsänkning av objektglas i Peroxidazed 1 bleker dock vävnader och röda blodkroppar, vilket ger bättre kontrast vid färgning av alkaliskt fosfat.

Kvalitetskontroll:

Se CLSI kvalitetsstandarder för design och implementering av immunhistokemianalyser; Godkänd guideline-andra upplagan (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁹

Positiv vävnadskontroll:

Extern positiv kontrollmaterial bör vara färskare prover fixerade, bearbetade och inbäddade så snart som möjligt på samma sätt som patientprovet/patienterna. Positiva vävnadskontroller tyder på korrekt preparerade vävnader och korrekta färgningstekniker. En positiv extern vävnadskontroll för varje uppsättning testbetingelser bör inkluderas i varje färgningskörning.

De vävnader som används för de externa positiva kontrollmaterialen bör väljas från patientprover med välkarakteriserade låga nivåer av den positiva målaktiviteten som ger svag positiv färgning. Den låga nivån av positivitet för externa positiva kontroller är utformad för att säkerställa upptäckt av subtila förändringar i den primära antikroppens känslighet från instabilitet eller problem med IHC-metoden. Kommersiellt tillgängliga 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 hjälpmedel 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 bakgrunds-färgning (falsk positiv färgning). Det kan också mångfalden av olika celltyper som finns i de flesta vävnadssnitt användas av laboratoriet som interna negativa kontrollplattor för att verifiera IHC:s prestanda specifikationer. Typer och källor för prover som kan användas för negativ vävnadskontrollerna 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 preparerats (dvs spädd till samma koncentration med samma spädningsmedel) för användning på samma sätt som den primära

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Swedish

BIOCARE
M E D I C A L

antikroppen men uppvisar ingen specifik reaktivitet med mänskliga vävnader i samma matris/lösning som Biocare antikropp. 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/ickespecifik bindningsbakgrundskontroll för andra antikroppar. För att differentiera endogen enzymaktivitet eller ospecifik bindning av enzymer från specifik immunreaktivitet, kan ytterligare patientvävnader färgas uteslutande med substrat-kromogen eller enzymkomplex (PAP, avidin-biotin, streptavidin) respektive substrat-kromogen.

Analysverifiering:

Innan en antikropp eller färgningssystem används i ett diagnostiskt förfarande bör användaren verifiera antikroppens specificitet genom att testa den på en serie interna vävnader med kända immunhistokemiska prestandaegenskaper som representerar kända positiva och negativa vävnader. Se de kvalitetskontrollprocedurer som tidigare beskrivits i detta avsnitt av produktbilagan och till kvalitetskontrollrekommendationerna i CAP Certification Program[®] for Immunohistochemistry och/eller NCCLS IHC-riktlinje¹. Dessa kvalitetskontrollprocedurer bör upprepas för varje nytt antikroppsparti, eller närhelst 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 2 Mouse AP-polymer producerar en röd färgreaktion vid antigenställena lokaliserade av den primära antikroppen. Före tolkning av patientresultat måste färgningen av kontroller utvärderas av en kvalificerad patolog. Negativa kontroller utvärderas och jämförs med färgade objektglas för att säkerställa att eventuell observerad färgning inte är ett resultat av ospecifika interaktioner.

Positiv vävnadskontroll:

Den positiva vävnadskontrollen färgad med indikerad antikropp bör undersökas först för att säkerställa att alla reagenser fungerar korrekt. Lämplig färgning av målceller (som indikerat ovan) indikerar positiv reaktivitet. Om de positiva vävnadskontrollerna inte visar positiv färgning, bör alla resultat med testproverna anses ogiltiga.

Färgen på reaktionsprodukten kan variera beroende på använda substratkromogener. Se substratets bipacksedel för förväntade färgreaktioner. Vidare kan metakromasi observeras i variationer av färgningsmetoden.¹²

När en motfärgning används, beroende på inkubationslängden och styrkan hos den använda motfärgningen, kommer motfärgning att resultera i en färgning av cellkärnorna. Överdriven eller ofullständig motfärgning kan äventyra korrekt tolkning av resultaten. Se protokoll för rekommenderad motfärgning.

Negativ vävnadskontroll:

Den negativa vävnadskontrollen bör undersökas efter den positiva vävnadskontrollen för att verifiera specificiteten för märkningen av målantigenet med den primära antikroppen. Frånvaron av specifik färgning i den negativa vävnadskontrollen bekräftar avsaknaden av antikroppskorsreaktivitet mot celler/cellulära komponenter. Om specifik färgning (falsk positiv färgning) inträffar i den negativa externa vävnadskontrollen, bör resultatet 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 Sammanfattning och förklaring, begränsningar och prestandaegenskaper för specifik information om indikerad antikroppsimmunreaktivitet.

Begränsningar:

Allmänna begränsningar:

1. För *in vitro*-diagnostik (IVD)
2. Denna produkt är endast avsedd för professionellt bruk: Immunhistokemi är en diagnostisk process i flera steg som består av specialiserad utbildning i val av lämpliga reagenser; vävnadsval, fixering och bearbetning; förberedelse av IHC-objektglaset; och tolkning av färgningsresultaten.
3. Endast för användning av läkares recept. (Endast Rx)
4. Vävnadsfärgning är beroende av hantering och bearbetning av vävnaden före färgning. Felaktig fixering, frysning, upptining, tvättning, torkning, uppvärmning, sektionering eller kontaminering med andra vävnader eller vätskor kan ge artefakter, antikroppsfångning eller falskt negativa resultat. Inkonsekventa resultat kan bero på variationer i fixerings- och inbäddningsmetoder, eller på inneboende oregelbundenheter i vävnaden.¹³
5. Överdriven eller ofullständig motfärgning kan äventyra korrekt tolkning av resultaten.
6. Den kliniska tolkningen av positiv eller negativ färgning bör utvärderas mot bakgrund av klinisk presentation, morfologi och andra histopatologiska kriterier. Den kliniska tolkningen av positiv eller negativ färgning bör kompletteras med morfologiska studier med korrekta positiva och negativa interna och externa kontroller samt andra diagnostiska tester. Det är en kvalificerad patolog som är bekant med korrekt användning av IHC-antikroppar, reagens och metoder som ansvarar för att tolka alla steg som används för att förbereda och tolka det slutliga IHC-preparatet.
7. De optimala protokollen för en specifik applikation kan variera. Dessa inkluderar, men är inte begränsade till fixering, värmeåtervinningsmetod, inkubationstider, antikroppsspädning, vävnadssnittjocklek och detektionskit som används. Se den primära antikroppen och andra hjälpreaktionsanvisningar 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. Vävnader från personer infekterade med hepatit B-virus och som innehåller hepatit B-ytantigen (HBsAg) kan uppvisa ospecifik färgning med pepparrotsperoxididas.¹⁴
10. Reagenser kan uppvisa oväntade reaktioner i tidigare oprovade 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.¹⁵ Kontakta Biocares tekniska support på 1-800-542-2002, eller via den tekniska supportinformationen på biocare.net, med dokumenterade oväntade reaktioner.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

87/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsewijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

Swedish

BIOCARE
M E D I C A L

11. Normala/icke-immuna sera från samma djurkälla som sekundära antiserer 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 (erythrocyter), endogen peroxidaktivitet (cytokrom C) eller endogent biotin (t.ex. lever, bröst, hjärna, njure) beroende på vilken typ av immunfärgning som används.¹³
13. Ett negativt resultat betyder att antigenet inte 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 erhöles 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 peroxidblock) eller överskott av icke-specifik 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 applicerades på objektglaset, samt korrekta inkubationstider för alla reagenser. Se dessutom till att protokollet har tillräckligt med tvättsteg för att ta bort överflödigt reagens efter att inkubationsstegen har slutförts.

Referenser:

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

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



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

88/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Turkish

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Kullanım Amacı:

İçin *In vitro* Tanı Amaçlı Kullanım

MACH 2 Fare AP-Polimerinin, bir alkin fosfataz (AP) polimer tek adımlı uygulama yöntemi kullanan manuel veya otomatik İmmünohistokimya (IHC) boyama protokollerinde kullanılması amaçlanmıştır. Bu mikro polimer saptama kiti, IHC boyama işlemi sırasında formalinle sabitlenmiş, parafine gömülmüş (FFPE) dokulardaki hedef antijenlere bağlanan fare 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 teşhis testleri bağlamında kalifiye bir patolog tarafından değerlendirilmelidir.

Özet ve Açıklama:

MACH 2 Fare AP-Polimeri, bir antikor-enzim kompleksi oluşturmak üzere fare birincil antikorlarını saptamak için tek 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 uygulanır.

Prosedür Prensipleri:

Bu mikro polimer saptama kiti, formalinle sabitlenmiş, parafine gömülmüş doku bölümlerinin immünohistokimya testinde kullanılabilir. Genel olarak immünohistokimyasal (IHC) boyama teknikleri, antijenlerin sıralı uygulanması yoluyla görselleştirilmesine izin verir. antijene spesifik antikor (birincil antikor), birincil antikora ikincil bir antikor (isteğe bağlı bağlantı antikor/prob), bir enzim kompleksi ve araya giren yıkama adımları olan bir kromojenik substrat. Kromojenin enzimatik aktivasyonu, antijen bölgesinde görünür bir reaksiyon ürünü ile sonuçlanır. Numune daha sonra zıt boyanabilir ve lamellenebilir. Sonuçlar bir ışık kullanılarak yorumlanır mikroskop ve patofizyolojik süreçlerin ayrıntı tanısında yardımcı olabilir veya belirli bir antijen ile ilişkili olmayabilir.

Malzemeler ve Yöntemler:

Sağlanan Reaktifler:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 mL

Sulandırma, Karıştırma, Seyreltme, Titrasyon:

Mikro polimer saptama kiti reaktif(ler)i optimize edilmiştir ve Biocare antikorları ve yardımcı reaktiflerle kullanıma hazırdır. Sulandırma, karıştırma, seyreltme veya titrasyon gerekmez.

Bilinen Uygulamalar:

İmmünohistokimya (formalinle sabitlenmiş parafine gömülmüş dokular)

Tür Reaktivite:

Fare IgG ağır ve hafif zincirleri

Temin Şekli:

Tamponlu salin çözümü, pH 7,6-7,8, bir protein taşıyıcı ve %0,01'den az ProClin 300 ve/veya Koruyucu olarak %0,5 ProClin 950. Ek ayrıntılar için Güvenlik Veri Sayfasına bakın.

Gerekli Ama Sağlanmayan Malzemeler ve Reaktifler:

lamları, pozitif yüklü ve negatif doku kontrolleri
Desert Chamber*
Pozitif Mikroskop benzeri veya Yıkama tamponu*
Ön tedavi reaktifleri* (isteğe bağlı)
Enzim sindirimi* (isteğe bağlı)
Peroxidaz bloğu* (isteğe bağlı)
Protein bloğu* (isteğe bağlı)
Birincil antikor*
Negatif kontrol reaktifleri*
Kromojenler*
Hematoksilen* (karşı boyama)
Bluing reaktif*
Montaj ortamı*
Lamel
Işık Mikroskobu (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 ila 8°C'de saklayın. Ürün, bu koşullar altında saklandığında flakon etiketinde yazılı olan son kullanma tarihine kadar stabildir. Son kullanma tarihinden sonra kullanmayınız. Belirtilenler dışındaki herhangi bir koşulda depolama doğrulanmalıdır. Kit reaktif(ler)i kullanıma hazırdır ve seyreltilmemelidir. Kullanıcı tarafından seyreltilmiş reaktifin stabilitesi Biocare tarafından belirlenmemiştir.

Pozitif ve negatif kontroller, tüm hasta numuneleriyle aynı anda yapılmalıdır. Laboratuvar prosedürlerindeki değişikliklerle açıklanamayan beklenmedik bir lekelenme 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.

Örnek Hazırlama:

Formalinde fikse edilmiş dokular parafine gömmeden önce kullanıma uygundur. Doku kesimini kolaylaştırmak ve mikrotom bıçaklarının zarar görmesini önlemek için doku işlemeyen 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) gerçekleştirin. IHC'den önce HIER'in rutin kullanımının tutarsızlığı en aza indirdiği ve boyamayı standartlaştırdığı gösterilmiştir.^{4,5}



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

89/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123


Turkish

BIOCARE
M E D I C A L

Uyarı ve Önlemler:

1. Kit reaktifleri %0,05'ten az ProClin 300 ve/veya %1'den az ProClin 950 içerir. ProClin tahriş edici olarak sınıflandırıldığından ve cilt temasında hassasiyete neden olabileceğinden, eldiven ve koruyucu kıyafet giyin ve kullanırken makul önlemler alın. Göz, cilt ve mukoza zarlarıyla temasından kaçının.
2. İnsan veya hayvan kaynaklı malzemeleri potansiyel olarak biyolojik olarak tehlikeli olarak kullanın ve bu tür malzemeleri uygun önlemlerle atın. Maruz kalma durumunda, kullanıldığı yerde sorumlu makamların sağlık direktiflerine uyun.^{6,7}
3. Fiksasyon öncesi ve sonrası numuneler ve bunlara maruz kalan tüm materyaller, enfeksiyon bulaştırabileceği 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.⁸
4. Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonu spesifik olmayan boyamada artışa neden olabilir.
5. Belirtilenlerin dışındaki inkübasyon süreleri veya sıcaklıkları hatalı sonuçlar verebilir. Kullanıcı bu tür değişiklikleri doğrulamalıdır.
6. Reaktifli flakonun üzerinde yazılı olan son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
7. Mikro polimer saptama kiti reaktif(ler)i optimize edilmiştir ve Biocare antikoları ve yardımcı reaktiflerle kullanıma hazırdır. Önerilen protokoller ve kullanım koşulları için birincil antikor ve diğer yardımcı reaktif kullanım talimatlarına bakın.
8. Bertaraf etme yöntemi için yerel ve/veya eyalet makamlarının gerekliliklerine uyun.
9. SDS istek üzerine mevcuttur ve <http://biocare.net> adresinde.
10. Bu cihazla ilgili herhangi bir ciddi olayı, yerel Biocare temsilcisi ve Üye Devlet veya kullanıcının bulunduğu ülkenin geçerli yetkili makama 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 edilmiştir ve Biocare antikoları ve yardımcı reaktiflerle kullanıma hazırdır. Önerilen protokoller ve kullanım koşulları için birincil antikor ve diğer yardımcı reaktif kullanım talimatlarına bakın. Kuluçka süreleri ve sıcaklıkları, izlenen spesifik antikor protokolüne bağlı olarak değişecektir. Otomatik bir boyama aleti kullanırken, ilgili aletin kullanım kılavuzuna ve çalışma parametreleri için kullanım talimatlarına bakın.

IHC gerçekleştirme için genel prosedür adımları:

1. Parafinden arındırma: Slaytları Slide Brite veya ksilen içinde parafinden arındırın. Slaytları bir dizi dereceli alkolde suya hidratlayın.
2. Peroksit Bloğu (İsteğe Bağlı): Peroxidazed 1 ile 5 dakika bloke edin.
3. Ön Muamele Solüsyonu/Protokolü: Önerilen ön muamele solüsyonu ve protokolü için lütfen ilgili birincil antikor veri sayfasına bakın.
4. Protein Bloğu (İsteğe Bağlı): Background Punisher ile oda sıcaklığında (RT) 5-10 dakika inkübe edin.
5. Birincil Antikor: Kuluçka süresi için lütfen ilgili birincil antikor veri sayfasına bakın.

6. Polimer: MACH 2 Mouse AP-Polymer ile oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edin.
7. Kromojen: Çözümlü Kırmızı ile oda sıcaklığında 5-7 dakika inkübe edin.
8. Karşı boyama: Hematoksilen ile karşı boyama. Deiyonize su ile durulayın. Tacha'nın Bluing Solüsyonunu 1 dakika süreyle uygulayın. Deiyonize su ile durulayın.

Teknik Notlar:

1. Yıkama adımları için TBS kullanın. PBS yıkama tamponları, alkalın fosfataz lekelenmesini önleyecektir.
2. Endojen peroksidad için blokama gerekli değildir; ancak slaytları Peroxidazed 1'e daldırmak, dokuları ve kırmızı kan hücrelerini ağartarak alkalın fosfataz boyama prosedürleri için daha iyi kontrast üretir.

Kalite Kontrol:

İmmünohistokimya Testlerinin Tasarımı ve Uygulanması için CLSI Kalite Standartlarına bakın; Onaylı Kılavuz-İkinci baskı (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA ABD (www.clsi.org). 2011⁹

Pozitif Doku Kontrolü:

Harici pozitif kontrol malzemeleri, hasta numuneleriyle aynı şekilde en kısa sürede sabitlenmiş, işlenmiş ve gömülmüş 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 hasta numunelerinden seçilmelidir. Harici pozitif kontroller için düşük pozitiflik düzeyi, IHC metodolojisindeki istikrarsızlık veya sorunlardan kaynaklanan birincil antikor duyarlılığındaki ince değişikliklerin 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 doğrular.

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 antikorunun özgüllüğünü doğrulamak için her boyama çalışmasında hasta numune(ler)iyle 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 kullanılacak 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

için her hasta örneğinin bir bölümü ile birincil antikor yerine spesifik olmayan bir negatif reaktif kontrolü kullanın ve antijen bölgesindeki spesifik boyamanın daha iyi yorumlanmasını sağlamaktır. Bir negatif reaktif kontrolü, birincil antikorla aynı şekilde kullanılmak üzere üretilmiş ve hazırlanmış (yani aynı seyreltilmiş) bir antikor içerir, ancak insan dokuları ile aynı matris/çözümlü içinde spesifik bir reaktivite sergilemez. Biocare



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

90/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Turkish

BIOCARE
M E D I C A L

antikor. 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 kullanıldığında, bir slaydın negatif boyanan alanları, diğer antikorlar için negatif/spesifik olmayan bağlanma arka plan kontrolü görevi görebilir. Endojen enzim aktivitesini veya enzimlerin spesifik olmayan bağlanmasını 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:

Tanısal bir prosedürde bir antikor veya boyama sisteminin ilk kullanımından önce kullanıcı, antikorun özgüllüğünü, bilinen pozitif ve negatif dokuları temsil eden bilinen immünohistokimyasal performans özelliklerine sahip bir dizi kurum içi doku üzerinde test ederek doğrulanmalıdır. Ürün prospektüsünün bu bölümünde daha önce özetlenen kalite kontrol prosedürlerine ve İmmünohistokimya için CAP Sertifikasyon Programı¹⁰ ve/veya NCCLS IHC kılavuzu¹¹. 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. Alışılmadık sonuçlar ortaya çıkarsa, 1-800-542-2002 numaralı telefondan Biocare'in Teknik Desteği ile iletişime geçin.

Boyamanın Yorumlanması:

MACH 2 Fare AP-Polimeri, birincil antikor tarafından lokalize edilen antijen bölgelerinde kırmızı renk reaksiyonu üretir. Hasta sonuçlarının yorumlanmasından 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 karşılaştırılır.

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 renk reaksiyonları için alt tabaka prospektüslerine bakın. Ayrıca, boyama yönteminin varyasyonlarında metakromazi görülebilir.¹² Bir karşı boyama kullanıldığında, kullanılan karşı boyamanın inkübasyon uzunluğuna ve gücüne bağlı olarak, karşı boyama hücre çekirdeklerinin renklenmesine neden olur. Aşırı veya eksik zıt boyama, sonuçların doğru yorumlanmasını tehlikeye atabilir. Önerilen karşı boyama için protokol(ler)e bakın.

Negatif Doku Kontrolü:

Primer antikor tarafından hedef antijenin etiketlenmesinin özgüllüğünü doğrulamak için pozitif doku kontrolünden sonra negatif doku kontrolü incelenmelidir. Negatif doku kontrolünde spesifik lekelenmenin olmaması, hücrelere/hücresele 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 görünüme sahiptir. Aşırı formalinle sabitlenmiş dokulardan alınan kesitlerde bağ dokusunun

sporadik boyanması da gözlenebilir. Boyama sonuçlarının yorumlanması için bozulmamış hücreleri kullanın. Nekrotik veya dejenere 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 testte 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 Özet ve Açıklama, Sınırlamalar ve Performans Özelliklerine bakın.

Kısıtlamalar:

Genel Kısıtlamalar:

1. İn vitro diagnostik (IVD) Kullanım
2. İncidir Bu ürün yalnızca profesyonel kullanım içindir: İmmünohistokimya, uygun reaktiflerin seçiminde özel eğitim içeren çok adımlı bir teşhis sürecidir; doku seçimi, sabitleme ve işleme; IHC slaytının hazırlanması; ve boyama sonuçlarının yorumlanması.
3. Sadece doktor reçetesi ile kullanım içindir. (Yalnızca Rx)
4. Doku boyama, boyamadan önce dokunun kullanılmasına ve işlenmesine bağlıdır. Uygun olmayan fiksasyon, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit alma veya diğer dokular veya sıvılarla kontaminasyon artefaktlara, antikor yakalamaya veya yanlış negatif sonuçlara neden olabilir. Tutarsız sonuçlar, fiksasyon ve gömme yöntemlerindeki farklılıklardan veya doku içindeki doğal düzensizliklerden kaynaklanabilir.¹³
5. Aşırı veya eksik zıt boyama, sonuçların doğru yorumlanmasını 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 kullanımına aşına olan kalifiye bir patoloğun sorumluluğundadır.
7. Belirli bir uygulama için optimum protokoller değişebilir. 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 protokolleri, 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 peroksidazı ile spesifik olmayan lekelenme sergileyebilir.¹⁴
10. Reaktifler daha önce test edilmemiş dokularda beklenmeyen reaksiyonlar gösterebilir. Neoplazmalarda veya diğer patolojik dokularda antijen ekspresyonunun biyolojik değişkenliği nedeniyle, test edilen doku gruplarında bile beklenmeyen reaksiyon olasılığı tamamen ortadan kaldırılamaz.¹⁵ Biocare'in Teknik Desteği ile 1-800-542-2002 numaralı telefondan veya biocare.net'te sağlanan teknik destek bilgileri aracılığıyla, belgelenmiş beklenmeyen reaksiyon(lar) ile iletişime geçin.
11. Bloke etme adımlarında kullanılan sekonder antiserumlarla aynı hayvan kaynağından alınan normal/immün olmayan serumlar, otoantikolar



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

91/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

Turkish

BIOCARE
M E D I C A L

- veya doğal antikorlar nedeniyle yanlış negatif veya yanlış pozitif sonuçlara neden olabilir.
12. Proteinlerin veya substrat reaksiyon ürünlerinin immünolojik 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.¹³
 13. Negatif bir sonuç, antijenin incelenen hücrelerde veya dokuda bulunmadığı anlamına gelmez, antijenin tespit edilmediği anlamına gelir.

Ürüne Özgü Sınırlamalar:

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

üretilebilirlik: Biocare'in saptama sistemlerinin ve sistem reaktiflerinin tekrar üretilebilirliği, çeşitli operatörler, analistler, reaktif lotları, doku numuneleri ve ekipman kullanılarak uzun bir süre boyunca çeşitli reaktif lotlarının test edildiği bir ara kesinlik ölçümüyle doğrulanır. Değerlendirilen her tespit reaktif için elde edilen boyama tutarlıydı ve beklendiği 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 ürünleri kullanılıyorsa), kromojeni renkli son ürüne dönüştüren endojen HRP aktivitesi (peroksidaz bloğu kullanın) veya aşırı spesifik olmayan protein etkileşimi (bir protein kullanın) 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 – Slayta 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 olduğundan emin olun.

Referanslar:

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

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

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

92/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

French

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Utilisation prévue :

Pour *in vitro* usage diagnostique

Le MACH 2 Mouse AP-Polymer est destiné à être utilisé dans des protocoles de coloration immunohistochimique (IHC) manuels ou automatisés utilisant une méthode d'application en une étape de polymère de phosphatase alcaline (AP). Ce kit de détection de micro-polymères est conçu pour la détection des anticorps primaires IgG de souris liés aux antigènes cibles dans les tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE) pendant le processus de coloration IHC. L'interprétation clinique de toute coloration ou de son absence doit être complétée par des études morphologiques et des contrôles appropriés et doit être évaluée dans le contexte des antécédents cliniques du patient et d'autres tests de diagnostic par un pathologiste qualifié.

Résumé et explication :

Le MACH 2 Mouse AP-Polymer est conçu à l'aide d'une méthode en une étape pour détecter les anticorps primaires de souris 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.

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 d'une lamelle. Les résultats sont interprétés à l'aide d'une lumière microscope et aide au diagnostic différentiel des processus physiopathologiques, qui peuvent ou peut ne pas être associé à un antigène particulier.

Matériels et méthodes :

Réactifs fournis :

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 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

Fourni sous forme de :

Solution saline tamponnée, pH 7,6-7,8, contenant une protéine porteuse et moins de 0,01 % de ProClin 300 et/ou moins de 0,5% 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 désoccultation* 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 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 :

Tissus fixés dans du formol conviennent pour 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.^{1,2}

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



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

93/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

French

BIOCARE
M E D I C A L

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 :

1. 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 le ProClin est classé comme irritant et peut provoquer une sensibilisation par contact cutané. Éviter le contact avec les yeux, la peau et les muqueuses.
2. 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.^{6,7}
3. 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 éviter 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.⁸
4. La contamination microbienne des réactifs peut entraîner une augmentation de la coloration non spécifique.
5. Des durées d'incubation ou des températures autres que celles spécifiées peuvent donner des résultats erronés. L'utilisateur doit valider un tel changement.
6. Ne pas utiliser de réactif après la date de péremption imprimée sur le flacon.
7. 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.
8. Suivez les exigences des autorités locales et/ou nationales pour la méthode d'élimination.
9. La FDS est disponible sur demande et se trouve sur <http://biocare.net>.
10. 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 :

1. Déparaffinage : déparaffiner les lames dans du Slide Brite ou du xylène. Hydrater les lames dans une série d'alcools gradués à l'eau.
2. Bloc peroxyde (facultatif) : Bloquer pendant 5 minutes avec Peroxidized 1.
3. 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.
4. Bloc protéique (facultatif) : Incuber pendant 5 à 10 minutes à température ambiante (RT) avec Background Punisher.
5. Anticorps primaire : Veuillez vous référer à la fiche technique respective de l'anticorps primaire pour le temps d'incubation.
6. Polymère : Incuber pendant 30 minutes à température ambiante avec MACH 2 Mouse AP-Polymer.
7. Chromogène : incuber pendant 5 à 7 minutes à température ambiante avec Warp Red.
8. Contre-coloration : Contre-coloration à l'hématoxyline. Rincer à l'eau déminéralisée. Appliquez la solution de blanchissement de Tacha pendant 1 minute. Rincer à l'eau déminéralisée.

Notes techniques :

1. Utilisez du TBS pour les étapes de lavage. Les tampons de lavage PBS inhiberont la coloration à la phosphatase alcaline.
2. Le blocage de la peroxydase endogène n'est pas nécessaire ; cependant, l'immersion des lames dans Peroxidized 1 blanchit les tissus et les globules rouges, ce qui produit un meilleur contraste pour les procédures de coloration à la phosphatase alcaline.

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). 2011⁹

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 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.

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

French

BIOCARE
M E D I C A L

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 le 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 CAP[®] pour l'immunohistochimie et/ou de la directive NCCLS IHC¹. 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 MACH 2 Mouse 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.¹² 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.

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)

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

French

BIOCARE
M E D I C A L

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.¹³
5. Une contre-coloration excessive ou incomplète peut compromettre la bonne interprétation des résultats.
6. L'interprétation clinique de toute coloration positive ou négative doit être évaluée dans le contexte de la présentation clinique, de la morphologie et d'autres critères histopathologiques. L'interprétation clinique de toute coloration positive ou négative doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles internes et externes positifs et négatifs appropriés ainsi que d'autres tests de diagnostic. Il est de la responsabilité d'un pathologiste qualifié qui 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.¹⁴
10. Les réactifs peuvent présenter des réactions inattendues dans des tissus non testés auparavant. La possibilité de réactions inattendues même dans les groupes de tissus testés ne peut pas être complètement éliminée en raison de la variabilité biologique de l'expression de l'antigène dans les néoplasmes ou d'autres tissus pathologiques.¹⁵ 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 sérums normaux/non immuns provenant de la même source animale que les antisérums 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.¹³
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 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. *Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories*. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. *Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work*.
8. *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014*.
9. *CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org)*. 2011
10. *College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry*. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. *Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline*. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretz K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. *Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques*. *Histochemistry* 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. *Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls*. *Lab Med* 1983; 14:767.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

96/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

French

BIOCARE
M E D I C A L

14. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *AmJ Clin Path* 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

97/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

German

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
MALP521G	6.0 mL
MALP521H	25 mL
MALP521L	100 mL

Verwendungszweck:

Zur *In-vitro* Diagnostik

Das MACH 2 Mouse AP-Polymer ist für die Verwendung in manuellen oder automatisierten Immunhistochemie (IHC)-Färbeprotokollen unter Verwendung einer Ein-Schritt-Anwendungsmethode für alkalische Phosphatase (AP)-Polymer vorgesehen. Dieses Mikropolymer-Nachweiskit dient zum Nachweis von Maus-IgG-Primärantikörpern, die während des IHC-Färbeverfahrens in Formalin-fixierten, Paraffin-eingebetteten (FFPE) Geweben an Zielantigene 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 2 Maus AP-Polymer wurde unter Verwendung einer Ein-Schritt-Methode zum Nachweis primärer Maus-Antikörper entwickelt, um einen Antikörper-Enzym-Komplex zu bilden. Dieser Komplex wird dann unter Verwendung eines geeigneten Substrats/Chromogens sichtbar gemacht. Bei der Ein-Schritt-Methode wird ein direkt mit dem Mikropolymer verknüpfter sekundärer Antikörper aufgetragen.

Verfahrensprinzip:

Dieses Mikropolymer-Nachweiskit kann für immunhistochemische Tests von formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden. Im Allgemeinen immunhistochemisch (IHC) Färbetechniken 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 Waschschrritten. Die enzymatische Aktivierung des Chromogens führt zu einem sichtbaren Reaktionsprodukt an der Antigenstelle. Die Probe kann dann gegengefärbt und mit einem Deckglas versehen 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:

Reagents Provided:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
MALP521G	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 6.0 mL
MALP521H	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 25 mL
MALP521L	MACH 2 Mouse AP-Polymer	1 x 100 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 Paraffin-eingebettete Gewebe)

Speziesreaktivität:

Schwere und leichte Ketten von Maus-IgG

Lieferung als:

Gepufferte Kochsalzlösung, pH 7,6–7,8, die einen Proteinträger und weniger als 0,01 % ProClin 300 und/oder weniger als enthält 0,5 % ProClin 950 als Konservierungsmittel. Siehe Sicherheitsdatenblatt für weitere Details.

Benötigte, aber nicht mitgelieferte Materialien und Reagenzien:

Objektträger, positiv geladen
Positive und negative Gewebekontrollen
Wüstenkammer* oder ähnliches Trockenofen (optional)
Xylol 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.

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:

In Formalin fixierte Gewebe eignen sich zur Verwendung vor der Paraffineinbettung. Knochengewebe sollte vor der Gewebeerarbeitung



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

98/102



TP v2 (02/09/2023)

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



Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

German

BIOCARE
M E D I C A L

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 Objektträger 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:

1. Kit-Reagenzien enthalten weniger als 0,05 % ProClin 300 und/oder weniger als 1 % ProClin 950. Tragen Sie Handschuhe und Schutzkleidung und treffen Sie angemessene Vorsichtsmaßnahmen bei der Handhabung, da ProClin als reizend eingestuft ist und Hautkontaktsensibilisierung verursachen kann. Kontakt mit Augen, Haut und Schleimhäuten vermeiden.
2. 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.^{6,7}
3. Proben vor und nach der Fixierung sowie alle ihnen ausgesetzten Materialien sollten so behandelt werden, als ob sie Infektionen übertragen könnten, und mit 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.⁸
4. Eine mikrobielle Kontamination von Reagenzien kann zu einer Zunahme unspezifischer Färbungen führen.
5. Andere als die angegebenen Inkubationszeiten oder -temperaturen können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Der Benutzer muss jede solche Änderung bestätigen.
6. Reagenz nach Ablauf des auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
7. 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.
8. Befolgen Sie die Vorschriften der örtlichen und/oder staatlichen Behörden für die Entsorgungsmethode.
9. Das Sicherheitsdatenblatt ist auf Anfrage erhältlich und befindet sich unter <http://biocare.net>.
10. 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	Schädlich für Wasserlebewesen.

	H412	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:

1. Entparaffinierung: Objektträger in Slide Brite oder Xyloil entparaffinieren. Objektträger in einer Reihe von abgestuften Alkoholen zu Wasser hydratisieren.
2. Peroxid-Blockierung (optional): 5 Minuten lang mit Peroxidazed 1 blockieren.
3. Vorbehandlungslösung/Protokoll: Die empfohlene Vorbehandlungslösung und das empfohlene Protokoll entnehmen Sie bitte dem Datenblatt des jeweiligen primären Antikörpers.
4. Proteinblock (optional): 5-10 Minuten bei Raumtemperatur (RT) mit Background Punisher inkubieren.
5. Primärantikörper: Die Inkubationszeit entnehmen Sie bitte dem Datenblatt des jeweiligen Primärantikörpers.
6. Polymer: 30 Minuten bei RT mit MACH 2 Mouse AP-Polymer inkubieren.
7. Chromogen: 5-7 Minuten bei RT mit Warp Red inkubieren.
8. 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 für Waschschritte. PBS-Waschpuffer hemmen die Färbung durch alkalische Phosphatase.
2. Eine Blockierung für endogene Peroxidase ist nicht erforderlich; Das Eintauchen von Objektträgern in Peroxidazed 1 bleicht jedoch Gewebe und rote Blutkörperchen, was einen besseren Kontrast für alkalische Phosphatase-Färbeverfahren erzeugt.

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). 2011⁹

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 Gewebepreparierung.

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection
901-MALP521-080123

German

BIOCARE
M E D I C A L

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 Gewebeschnitten 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 Steuerelemente sind im Abschnitt „Leistungsmerkmale“ aufgeführt.

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

Unspezifische Negativreagenzkontrolle:

Verwenden Sie 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 unter Verwendung des gleichen Verdünnungsmittels verdünnt) wurde, aber keine spezifische Reaktivität mit menschlichen Geweben in der gleichen Matrix/Lösung wie der zeigt Biocare-Antikörper. 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 Immunreaktivität zu unterscheiden, können weitere Patientengewebe ausschließlich mit Substrat-Chromogen oder Enzymkomplexen (PAP, Avidin-Biotin, Streptavidin) bzw. Substrat-Chromogen gefärbt werden.

Assay-Verifizierung:

Vor der erstmaligen Verwendung eines Antikörpers oder Färbesystems in einem diagnostischen Verfahren sollte der Benutzer die Spezifität des Antikörpers überprüfen, indem er ihn an einer Reihe von hausinternen Geweben mit bekannten immunhistochemischen Leistungsmerkmalen testet, die bekannte positive und negative Gewebe darstellen. Beachten Sie die zuvor in diesem Abschnitt der Packungsbeilage beschriebenen Qualitätskontrollverfahren und die Qualitätskontrollempfehlungen des CAP-Zertifizierungsprogramms® für Immunhistochemie und/oder der NCCLS-IHC-Richtlinie. 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 2 Maus AP-Polymer erzeugt eine rote Farbreaktion an den vom Primärantikörper lokalisierten 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 Substratchromogenen variieren. Siehe Packungsbeilagen des Substrats für erwartete Farbreaktionen. Darüber hinaus kann Metachromasie bei Variationen der Färbemethode beobachtet werden.¹²

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-Kreuzreaktivität 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 Färberegebnisse 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-Immunreaktivität finden Sie unter Zusammenfassung und Erläuterung, Einschränkungen und Leistungsmerkmale.

MACH 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

German

BIOCARE
M E D I C A L

Einschränkungen:

Allgemeine Einschränkungen:

1. Zur *in der 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 Färberegebnisse.
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.¹³
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, Antikörperverdünnung, Gewebeschnittdicke und verwendeter 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.¹⁴
10. Reagenzien können unerwartete Reaktionen in zuvor nicht getesteten Geweben zeigen. Die Möglichkeit unerwarteter Reaktionen selbst in getesteten Gewebegruppen kann aufgrund der biologischen Variabilität der Antigenexpression in Neoplasmen oder anderen pathologischen Geweben nicht vollständig ausgeschlossen werden.¹⁵ 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-Immunsereen 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.¹³

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 Positivkontrollgewebe, Antikörper und Nachweisprodukte verwendet wurden. Auf unvollständige oder unsachgemäße Wachsentsfernung oder Vorbehandlung prüfen.
2. Schwache Färbung aller Objektträger – Überprüfen Sie, ob geeignetes Positivkontrollgewebe, Antikörper und Nachweisprodukte verwendet wurden.
3. Übermäßiger Hintergrund aller Objektträger – Es können hohe Konzentrationen an endogenem Biotin (bei Verwendung von Biotin-basierten Nachweisprodukten), 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. Gewebeschnitte 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 Waschschrte 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. *Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories*. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. *Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work*.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

101/102



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 2 Mouse AP-Polymer

Micro-polymer detection

901-MALP521-080123

German

BIOCARE
M E D I C A L

8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
9. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
12. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

102/102



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