



LCS (praskiestas)

Katalogo numeris 650-010

INDIKACIJOS IR NAUDOJIMAS

Numatomas naudojimas

Šis reagentas skirtas naudoti *in vitro* diagnostikai (IVD).

Ventana® Medical Systems (Ventana) LCS (praskiestas) taip pat žinomas kaip LCS arba skystas dengiamasis stiklėlis (aukštos temperatūros) yra praskiestas dengiamasis tirpalas, naudojamas kaip barjeras tarp vandeninių reagentų ir oro. Šis barjeras užkerta kelią garavimui, taip suteikdamas stabilią vandeninę aplinką imunohistocheminėms arba *in situ* hibridizacijos reakcijoms, vykdomoms Ventana automatinuose objektyvinių stiklėlių dažytuvuose.

Šis reagentas skirtas naudoti BenchMark® ir BenchMark® XT automatinuose objektyvinių stiklėlių dažytuvuose. Šis reagentas netinkamas naudoti Ventana NexES® IHC, NexES® Special Stains ar ES® automatinuose objektyvinių stiklėlių dažytuvuose.

Apžvalga ir paaiškinimas

LCS yra mažo tankio n-parafininių angliavandenilių ir kitų alyvų derinys. Jis supilamas į atitinkamą konteinerį (LCS) automatiniam fluidų modulyje automatiniam objektyvinių stiklėlių dažytuvui. Prietaisas pateikia LCS automatiškai, kai to reikalauja vykdomas dažymo protokolas.

Principai ir procedūros

LCS sudarytas iš organinių alyvų molekulių, kurių tankis žymiai mažesnis už vandens. Kai LCS pateikiamas ant vandeninio buferio paviršiaus, dėl paviršiaus įtempio jėgų lengvesnė alyva pasklinda ant buferio paviršiaus ir suformuoja uždarą kamerą. Dėl to susidaro efektyvus barjeras tarp buferio ir oro, neleidžiantis vandeniniams reagentams garuoti. Be to, paviršinis LCS sluoksnis leidžia papildomiems kitiems vandeniniams reagentams iš viršaus praeiti pro dengiamąjį sluoksnį ir patekti į buferio balutę ant objektyvinio stiklėlio. Ventana automatiniai objektyvinių stiklėlių dažytuvai automatiškai pateikia LCS, kai to reikia įvairiose dažymo protokoluose.

MEDŽIAGOS IR METODAI

Pateikiami reagentai

Viename 2 litrų LCS tirpalo butelyje yra mažo tankio n-parafininiai angliavandeniliai, nudažyti Sudano raudonoju 5B dažu.

Atkūrimas, maišymas, skiedimas ir titravimas

Šis reagentas paruoštas naudojimui tiesiai iš butelio, jo nereikia skiesti.

Reikalingos, bet nepateikiamos medžiagos ir reagentai

Toliau išvardinti reagentai ir medžiagos gali būti reikalingi dažymui, bet nėra pateikiami:

1. Ventana neigiamos kontrolės reagentas arba triušio neigiamą kontrolę*.
2. RNR teigiamą kontrolę arba ISH DNR neigiamos kontrolės zondas*.
3. Mikroskopiniai objektyviniai stiklėliai, teigiamai įkrauti.
4. Teigiamos ir neigiamos audinių kontrolės.
5. Džiovinimo krosnis, galinti palaikyti 70 °C ± 5 °C temperatūrą.
6. Juostinių kodų etiketės (tinkamos tiriamai neigiamai kontrolei ar pirminiams antikūnams).
7. 10 % neutralus (su buferiu) formalinas.
8. Dažymo indai ar vonelės.
9. Laikrodis.
10. Ksilenas.
11. Etanolis ar reagentinis alkoholis.
12. Dejonizuotas ar distiliuotas vanduo.
13. BenchMark arba BenchMark XT automatiniai objektyvinių stiklėlių dažytuvai.
14. Tinkamas Ventana detekcijos rinkinys.
15. Ventana endogeninio biotino blokavimo rinkinys*.
16. Pirminis antikūnas ar zondas.
17. Ventana EZ Prep™ tirpalas*.
18. Ventana SSC tirpalas*.
19. Ventana Reakcijos buferio tirpalas.
20. Ventana Ląstelių kondicionierius 1 (CC1), Ląstelių kondicionierius 2 (CC2)*.
21. Ventana Proteazė I, II ar III arba ISH Proteazė 1, 2 ar 3*.
22. Ventana Hematoksilino arba ISH Raudonasis foninis dažas.
23. Ventana Melsvinimo reagentas*.
24. Dengimo skystis.
25. Dengiamasis stiklėlis.
26. Šviesinis mikroskopas (20-80X).
27. 20 litrų didbutelis.

*Jei reikia specifiniam taikymui.

Laikymas ir naudojimas

Laikyti kambario temperatūroje (nuo 20 °C iki 28 °C). Neužšaldyti. Vartotojas turi validuoti bet kokias laikymo sąlygas, kitokias nei nurodyta ant informacinio lapelio, esančio pakuotėje.

Šis reagentas turi ribotą galiojimo laiką. Kai laikomas tinkamai, reagentas yra stabilus iki datos, nurodytos ant etiketės. Nenaudokite reagento, pasibaigus jo galiojimo laikui nurodytam laikymo metodui.

Nėra jokių pavyzdinių požymių, rodančių, kad šis produktas nestabilus; todėl kartu su nežinomais bandiniais turėtų būti atliekami teigiamų ir neigiamų kontrolių dažymai. Pasirodžius galimo reagento nestabilumo požymiams iškart kreipkitės į vietinį Ventana atstovą.

Bandinių ėmimas ir paruošimas analizei

Rutiniškai apdoroti, formalinu fiksuoti, parafine įtvirtinti audiniai yra tinkami naudoti su šiuo reagentu, kai jis naudojamas kartu su Ventana pirminiais antikūnais, detekcijos rinkiniais, papildomais reagentais ir automatiniais objektyvinių stiklėlių dažytuvais (žr. skyrelį „Reikalingos, bet nepateikiamos medžiagos ir reagentai“). Rekomenduojamas audinio fiksatyvas yra 10 % neutralus (su buferiu) formalinas¹. Nepastovūs rezultatai gali būti lemiami per ilgo fiksavimo ar specialių procedūrų, tokių kaip kaulų čiulpų ruošinių dekalifikavimas.

Kiekviena sekcija turėtų būti atpjauta tinkamo storio ir padėta ant teigiamai įkrauto objektyvinio stiklėlio. Objektyviniai stiklėliai su audinio sekcija gali būti kaitinami mažiausiai 2 valandas (bet ne ilgiau kaip 24 valandas) 70 °C ± 5 °C temperatūros krosnyje.

PERSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

1. LCS yra skirtas naudoti BenchMark ir BenchMark XT automatinuose objektyvinių stiklėlių dažytuvuose. Šis reagentas netinkamas naudoti Ventana NexES IHC, NexES Special Stains ar ES automatinuose objektyvinių stiklėlių dažytuvuose. Liquid Coverslip™ tirpalas, kuris šiuo metu naudojamas Ventana NexES IHC, NexES Special Stains ar ES automatinuose objektyvinių stiklėlių dažytuvuose negali būti naudojamas kaip šio produkto pakaitalas.
2. Naudodamiesi reagentais, imkitės tinkamų atsargumo priemonių. Naudokite vienkartinę pirštinę, kai naudojate medžiagas, kurios gali būti karcinogeninės ar toksinės (pavyzdžiui, ksilenas ar formaldehidai).
3. Venkite akių ir gleivinių membranų kontakto su reagentais. Jeigu reagentai patenka ant jautrių sričių, gausiai nuplaukite vandeniu.
4. Nerūkykite, nevalgykite ir negerkite zonose, kuriose dirbama su bandiniais ir reagentais.
5. Pacientų bandiniai ir visos medžiagos, susiduriančios su jais, turėtų būti laikomi biologinio pavojaus medžiagomis ir išmetami su atitinkamomis atsargumo priemonėmis. Niekomet nesiurbkite medžiagų į pipetę burna.
6. Venkite reagentų mikrobiologinio užkrėtimo, kadangi dėl to gali būti gaunami netikslūs rezultatai.
7. Reagentai yra optimaliai praskiesti, tolimesni skiedimai gali lemti antigeninio dažymo praradimą. Vartotojas turi validuoti bet kokius tokius pakeitimus.
8. Kai naudojamas pagal nurodymus, šis produktas nėra pavojingas.
9. Šis reagentas yra B klasės degus skystis. Nelaikykite šalia liepsnos. Naudokite putas, sausus chemikalus ar vandens purškiklį. Tiesiogiai nepilkite vandens. Naudokite vandens purškiklį, kad atvėsintumėte ugnies įkaitintus paviršius ir apsaugotumėte personalą. Atskirkite degios medžiagos konteinerį nuo ugnies. Dėvėkite nešiojamus kvėpavimo aparatus ir apsauginius drabužius. Venkite tiesioginio kontakto su gaisro gesinimo nuotekomis. Pilant medžiagą gali susidaryti statinis krūvis, galintis uždegti šį produktą arba greta esančius degius skysčius ar garus. Pildami laikykite tinkamas žeminio procedūras. Garai gali pasiekti tolimesnius užsidedimo šaltinius. Su tuščiais konteineriais elkitės atsargiai, kadangi juose gali būti degių garų. Degdamas išskiria toksiškus dūmus.
10. Šis reagentas gali būti žalingas prarijus arba įkvėpus. Šis reagentas gali sukelti trumpalaikius odos ar akių sudirginimus ir gali dirginti gleivinės membranas bei kvėpavimo takus. Įkvėpus dideles garų ar aerozolio koncentracijas gali pasireikšti galvos skausmai, galvos svaigimas, neajautra, dusimas, sąmonės praradimas ir kiti centrinės nervų sistemos simptomai. OSHA leistina ekspozicijos riba 5 mg/m³ (alyvos aerozolis).

NAUDOJIMO NURODYMAI

LCS supilamas tiesiai į 2 litrų LCS butelį, esantį atitinkamoje pozicijoje (LCS) automatiniam fluidų modulyje. LCS tirpalas automatiškai pateikiamas automatinio objektyvinių stiklėlių dažytuvo, kai to reikalauja vykdomas protokolas.

Prieš pirmąjį LCS tirpalo naudojimą vartotojo laboratorijoje, tinkamas dažymasis turėtų būti patvirtintas nudažant keletą teigiamų ir neigiamų kontrolių. Ventana rekomenduoja teigiamas kontroles dėti ant to paties objektyvinio stiklėlio kaip ir paciento audinio bandinys. Nepastovūs rezultatai gali būti gaunami dėl audinio fiksacijos. Bet kokių dažymų ar dažymo nebuvimo klinikinė interpretacija turi būti papildyta morfologiniais tyrimais ir tinkamų kontrolių įvertinimu. Vertinimas turi būti atliekamas kvalifikuoto patologo, atsižvelgiant į paciento klinikinę istoriją ir kitus diagnostinius testus.

Procedūra žingsnis po žingsnio

Ventana reagentai buvo sukurti naudojimui Ventana automatinuose objektyvinių stiklėlių dažytuvuose kartu su Ventana detekcijos rinkiniais, pirminiais antikūnais, zondais ir priedais. Rekomenduojami dažymo protokoliai automatiniam objektyvinių stiklėlių dažytuvams pateikiami atitinkamų pirminių antikūnų ar zondų informaciniuose lapeliuose. Automatinų procedūrų parametrai gali būti pateikiami, atspausdinami ir redaguojami priklausomai nuo procedūrų, pateiktų vartotojo vadove. Kiti automatinų

objektyvinių stiklėlių dažytuvų veikimo parametrai nustatomi gamykloje. Detalus nurodymai ir papildomos protokolų pasirinktys pateikiami prietaiso vartotojo vadove.

BenchMark ir BenchMark XT automatiniai objektyvinių stiklėlių dažytuvams

1. Užklijuokite objektyvinio stiklėlio juostinio kodo etiketę, atitinkančią atliekamą zondo protokolą.
2. Uždėkite pirminį antikūną ar zondą, tinkamą detekcijos rinkinį ir reikalingus papildomus reagentus ant reagentų padėklo ir įdėkite jį į automatinį objektyvinių stiklėlių dažytuvą. Patikrinkite turinius fluidus ir atliekas.
3. Sudėkite objektyvinius stiklėlius į automatinį objektyvinių stiklėlių dažytuvą.
4. Paleiskite dažymo procesą.
5. Pasibaigus procesui, išimkite objektyvinius stiklėlius iš automatinio objektyvinių stiklėlių dažytuvo.
6. MIEW DAB ir Ventana Red kit protokolams nuplaukite švelniame indų plovimo detergente ar alkoholyje, kad pašalintumėte dengiamąjį tirpalą; pašalinkite vandenį, nuvalykite ir įprastu būdu padenkite pastoviu dengimo skysčiu.
7. AES chromogenui nepašalinkite vandens ir nevalykite. Uždėkite AEC su vandeniniu dengiamuoju skysčiu. Nudažyti objektyviniai stiklėliai turėtų būti nuskaityti per dvi – tris dienas po dažymo ir yra stabilūs mažiausiai dvejus metus, jeigu tinkamai laikomi kambario temperatūroje (nuo 20 °C iki 28 °C).
8. ISH MIEW Blue detekcijos rinkiniui nuplaukite švelniame indų plovimo detergente ar alkoholyje, kad pašalintumėte dengiamąjį tirpalą.
9. Perkelkite objektyvinius stiklėlius į vonelę su distiliuotu vandeniu maždaug 1 – 3 minutėms. Nukratykite vandens perteklių.
10. Patikrinkite šios ir visų kitų vonelių lygius. Įsitikinkite, kad visi tirpalai visiškai padengs objektyvinius stiklėlius, sudėtus padėkle. Pridėkite pakankamą kiekį naujo reagento į kiekvieną konteinerį, kad objektyviniai stiklėliai visuomet būtų padengti. Įsitikinkite, kad pašalinatė fluידo perteklių po kiekvieno žingsnio.
11. Perkelkite objektyvinius stiklėlius į 90 % etanolį maždaug 1 – 3 minutėms.
12. Perkelkite objektyvinius stiklėlius į 100 % etanolį maždaug 1 – 3 minutėms.
13. Perkelkite objektyvinius stiklėlius į antrąją 100 % etanolio vonelę maždaug 1 – 3 minutėms.
14. Perkelkite objektyvinius stiklėlius į pirmąją ksileno vonelę maždaug 1 – 3 minutėms.
15. Perkelkite objektyvinius stiklėlius į antrąją ksileno vonelę maždaug 1 – 3 minutėms. Objektyviniai stiklėliai gali būti palikti šioje ksileno vonelėje kol bus padengiami dengiamaisiais stiklėliais.
16. Uždenkite visus indus ir išjunkite traukos spintą.

Kokybės kontrolės procedūros

Teigiama audinio kontrolė

Teigiama audinio kontrolė turi būti apdorojama kiekvienos atliekamos dažymo procedūros metu. Teigiamos kontrolės medžiagos pavyzdžiai pateikiami atitinkamuose Ventana pirminių antikūnų pakuotėse esančiuose informaciniuose lapeliuose.

Teigiamos kontrolės naudojamos patvirtinti, kad antikūnas buvo uždėtas ir kad prietaisas tinkamai veikia. Šis audinys gali turėti tiek teigiamai, tiek neigiamai besidažančių ląstelių ar audinių komponentų ir tikti tiek kaip teigiamos, tiek kaip neigiamos kontrolės audinys. Kontroliniai audiniai turėtų būti švieži autopsiniai, biopsiniai ar chirurginiai bandiniai, paruošti ar fiksuoti kaip galima greičiau tuo pačiu būdu kaip ir testinės sekcijos. Tokie audiniai gali būti naudojami stebėti visus procedūros žingsnius nuo audinio paruošimo iki dažymo. Naudojant audinio sekcijas, kurios fiksuotos ar apdorotos skirtingai nei testinės bandinys, bus gaunama kontrolė visiems reagentų ir metodų žingsniams, išskyrus fiksavimą ir audinio apdorojimą. Audinys su silpnu teigiamu dažymu yra tinkamesnis optimaliai kokybės kontrolei ir nustatant nedidelės reagentų degradacijos lygius.

Žinomos teigiamos audinių kontrolės turėtų būti naudojamos tik stebėti tinkamam apdorotų audinių dažymo atlikimui ir reagentų tikrinimui, o ne kaip pagalba nustatant specifinę paciento pavyzdžių diagnozę. Jeigu teigiamoms audinių kontrolėms negaunamas teigiamas dažymas, rezultatai su testiniu bandiniu turėtų būti laikomi negaliojančiais.

Neigiama audinio kontrolė

Tas pats audinys, naudotas teigiamai audinio kontrolei, gali būti naudojamas kaip neigiama audinio kontrolė. Ląstelių tipų įvairovė, esanti daugelyje audinių sekcijų, pateikia vidines neigiamos kontrolės sritis, tačiau jos turi būti patvirtintos vartotojo. Nesidažantys komponentai turėtų būti be specifinio dažymo ir pateikti nespecifinio foninio dažymo požymius. Jei specifinis dažymas atsiranda neigiamos audinio kontrolės srityse, rezultatai su paciento bandiniais turėtų būti laikomi negaliojančiais.

Nepaaiškinami neatitiktimai

Dėl nepaaiškinamų neatitikimų kontrolėse turėtų būti nedelsiant konsultuojamasi su vietiniu Ventana atstovu. Jeigu kokybės kontrolės rezultatai neatitinka specifikacijų, paciento rezultatai yra negaliojantys.

Žr. šio informacinio lapelio skyrelį „Problemų sprendimas“. Identifikuokite ir pašalinkite problemą, tuomet pakartokite paciento pavyzdžių dažymą.

Neigiama reagento kontrolė

Neigiama reagento kontrolė turėtų būti atliekama kiekvienam bandiniui siekiant palengvinti rezultatų interpretavimą. Neigiama reagento kontrolė naudojama vietoj pirminio antikūno siekiant įvertinti nespecifinį dažymą. Objektyvinis stiklėlis turėtų būti

dažomas su Neigiamos kontrolės reagentu (pelės) arba Triušio neigiama kontrole, priklausomai nuo to, kaip reikia. Jeigu naudojama alternatyvi neigiama reagento kontrolė, praskieskite ją Ventana Antikūnų skiedikliu iki tos pačios koncentracijos kaip ir pirminio antikūno antiserumas. Vienas skiediklis gali būti naudojamas kaip alternatyva prieš tai aprašytoms neigiamoms reagento kontrolėms. Inkubavimo trukmė neigiamai reagento kontrolei turėtų būti tokia pačia kaip ir pirminiam antikūnui. Kai serijinėms sekcijoms naudojamas keleto antikūnų panelis, neigiama reagento kontrolė ant vieno objektyvinio stiklėlio gali būti neigiama ar nespecifinio susirišimo fono kontrolė kitiems antikūnams.

In situ hibridizacijai taip pat turi būti apdorojama neigiama kontrolė. Ventana rekomenduoja sekti kokybės kontrolės rekomendacijomis, pateiktomis Amerikos patologų laboratorijų akreditavimo programos kolegijos, Anatomijos patologijos kontrolinio sąrašo.

Bandymo patvirtinimas

Prieš diagnostinei procedūrai pirmą kartą naudojant antikūną ar dažymo sistemą, turėtų būti patvirtintas antikūno specifiskumas, patikrinant jį su serija audinių su žinomomis imunohistocheminėmis savybėmis, atitinkančių žinomus teigiamus ir neigiamus audinius (remkitės atitinkamų Ventana pirminių antikūnų informaciniame lapelyje esančiu skyreliu „Kokybės kontrolės procedūros“, kuriame pateikiamos Amerikos patologų laboratorijų akreditavimo programos kolegijos, Anatomijos patologijos kontrolinio sąrašo² ir NCCLS patvirtintų direktyvų kokybės kontrolės rekomendacijos³. Šios kokybės kontrolės procedūros turėtų būti kartojamos kiekvienai naujai antikūnų partijai ar kada tik pakeičiami bandymo parametrai.

Rezultatų interpretavimas

Ventana automatinė imunodažymo procedūra lemia spalvoto reakcijos produkto susidarymą. Remkitės atitinkamo detekcijos rinkinio pakuotėje esančiu informaciniu lapeliu, kuriame aprašomos laukiamos spalvinės reakcijos. Kvalifikuotas patologas turi įvertinti teigiamas ir neigiamas kontroles prieš interpretuodamas rezultatus.

Teigiama audinio kontrolė

Nudažytas teigiamas audinys turėtų būti tiriamas pirmas, kad išsiaiškintumėte, ar visi reagentai veikė tinkamai. Tinkamos spalvos reakcijos produkto buvimas taikininėse ląstelėse nurodo, kad reakingumas yra tinkamas. Laukiama spalvinė reakcija aprašyta informaciniame lapelyje, esančiame detekcijos rinkinio pakuotėje. Foninio dažymo intensyvumas priklausys nuo inkubavimo trukmės.

Priklausomai nuo inkubacijos trukmės ir naudojamo hematoksilino stiprumo, foninio dažymo metu ląstelių branduoliai bus gauti nuo blyškų iki tamsiai mėlynų. *In situ* hibridizacijai priklausomai nuo foninio dažymo inkubacijos trukmės ir naudojamo ISH Red stiprumo ląstelių branduolių spalva varijuos nuo blyškiai iki tamsiai rožinės.

Perteklinis arba nepakankamas foninis dažymas gali trukdyti tinkamai interpretuoti rezultatus. Jeigu teigiamoje audinio kontrolėje negaunamas teigiamas dažymas, bet kokie rezultatai testiniuose bandiniuose turėtų būti laikomi negaliojančiais.

Neigiama audinio kontrolė

Neigiama audinio kontrolė turėtų būti tirama po teigiamos audinio kontrolės, kad patvirtintumėte specifinį taikininio antigeno žymėjimą pirminiais antikūnais. Specifinio dažymo nebuvimas neigiamoje audinio kontrolėje patvirtina, kad antikūnai kryžmiškai nereagavo su ląstelėmis ar ląsteliniais komponentais. Jeigu neigiamoje audinio kontrolėje atsiranda specifinis dažymas, paciento bandinio rezultatai turėtų būti laikomi negaliojančiais.

Jeigu bus, nespecifinis dažymas atrodo išsisklaidęs. Taip pat gali būti stebimas atsitiktinis šviesus jungiamojo audinio dažymas sekcijose iš pernelyg formalinu fiksuotų audinių. Dažymo rezultatų vertinimui turėtų būti naudojamos intaklinės ląstelės. Nekrotinės ar degeneravusios ląstelės dažnai dažosi nespecifiškai.

Paciento audinys

Paciento bandiniai turėtų būti tiriami paskutiniai. Teigiamo dažymo intensyvumas turėtų būti įvertintas pagal neigiamos reagento kontrolės foninį dažymą.

Kaip bet kokiame imunohistocheminiame teste, neigiamas rezultatas reiškia, kad dominantis antigenas nebuvo aptiktas, o ne kad antigeno nėra tirtose ląstelėse ar audinyje. Jeigu reikia, naudokite antikūnų panelę, kad lengviau nustatytumėte klaidingus neigiamus rezultatus (žr. skyrelį „Laukiamų rezultatų apžvalga“).

In situ hibridizacijos testuose neigiamas rezultatas reiškia, kad taikininė RNR ar DNR seka buvo arba nenustatyta, arba kopijų skaičius buvo žemiau rinkinio detekcijos lygio, o ne tai, kad sekos nebuvo tirtose ląstelėse.

Interpretuojant bet kokius imunohistocheminius rezultatus, taip pat turėtų būti iširta kiekvieno audinio bandinio morfologija naudojant hematoksilinu ir eozinu nudažytas sekcijas. Paciento morfologiniai rezultatai ir susiję klinikiniai duomenys turi būti interpretuojami kvalifikuoto patologo.

APRIBOJIMAI

Bendri apribojimai

1. Imunohistochemija ir *in situ* hibridizacija yra daugiapakopiai diagnostiniai procesai, kuriems būtinas specializuotas paruošimas pasirenkant tinkamus reagentus, audinius, fiksuojant, apdorojant, paruošiant imunohistocheminius objektyvinius stiklėlius ir interpretuojant dažymo rezultatus.
2. Audinio dažymasis priklauso nuo audinio paruošimo ir apdorojimo prieš dažymą. Netinkamas fiksavimas, užšaldymas, atšildymas, džiovinimas,

kaitinimas, sekčių pjaustymas ar užteršimas kitais audiniais ar fluidais gali lemti artefaktų susidarymą, nespecifinį antikūnų sugavimą ar klaidingus neigiamus rezultatus. Nenuoseklūs rezultatai gali būti gaunami dėl fiksavimo ir įvirtinimo metodų variacijų ar dėl būdingų nereguliarumų audinyje.

3. Perteklinis ar nepakankamas foninis dažymas gali trukdyti tinkamai interpretuoti rezultatus.
4. Klinikinė bet kokio teigiamo dažymo ar jo nebuvimo interpretacija turi būti įvertinta klinikinės istorijos, morfologijos ar kitų histopatologinių kriterijų kontekste. Klinikinė bet kokio teigiamo dažymo ar jo nebuvimo interpretacija turi būti papildyta morfologiniais tyrimais ir tinkamomis kontrolėmis bei kitais diagnostiniais testais. Kvalifikuotas patologas yra atsakingas už susipažinimą su antikūnais, reagentais ir metodais, naudojamais gauti dažytą bandinį. Dažymas turi būti atliekamas sertifikuotoje licencijuotoje laboratorijoje prižiūrint patologui, kuris yra atsakingas už nudažytų objektnių stiklėlių peržiūrą ir teigiamų bei neigiamų kontrolių tinkamumo užtikrinimą.
5. Ventana tiekia antikūnus, zondus ir reagentus, kurių skiedimai, darbo metu sekant pateikiamus nurodymus, yra optimalūs. Bet kokie nuokrypiai nuo rekomenduojamos testo procedūros gali anuliuoti laukiamus rezultatus. Tinkamos kontrolės turi būti naudojamos ir dokumentuojamos. Vartotojai, kurie nukrypsta nuo rekomenduojamų testo procedūrų, turi prisiimti atsakomybę už paciento rezultatų interpretavimą.
6. Anksčiau netikrintuose audiniuose reagentų reakcijos gali būti netikėtos. Netikėtų reakcijų galimybė net ir patikrintų audinių grupėse negali būti visiškai eliminuota dėl antigeno raiškos biologinio nepastovumo neoplazmose ar kituose patologiniuose audiniuose⁴. Jei gaunate ir dokumentuojate netikėtą reakciją, susisiekite su vietiniu Ventana atstovu.
7. Klaidingi teigiami rezultatai gali būti matomi dėl neimunitinio baltymų ar substrato reakcijos produktų susirišimo. Priklausomai nuo naudojamo imunodažymo tipo jie taip pat gali būti lemiami pseudoperoksidazės aktyvumo (eritrocituose), endogeninio peroksidadzės aktyvumo (citochromas C), šarminės fosfatazės aktyvumo ar endogeninio biotino (pavyzdžiui, kepenyse, smegenyse, krūtyse, inkstuose)⁵.
8. Kaip bet kokiame imunohistocheminiame teste, neigiamas rezultatas reiškia, kad dominantis antigenas nebuvo aptiktas, o ne kad antigeno nėra tirtoje ląstelėje ar audinyje.

Specifiniai apribojimai

1. Prieš naudojimą reikia patikrinti, ar LCS tirpalas neturi mikrobinio užkrėtimo požymių. Požymiai rodantys užkrėtimą ar šio produkto nestabilumą, yra tirpalo drumstumas, kvapo atsiradimas, tirpale matomos nuosėdos. Pasirodžius galimo reagento nestabilumo požymiams iškart kreipkitės į vietinį Ventana atstovą.
2. LCS tirpalo sudėtis buvo optimizuota naudojimui Ventana automatinuose objektnių stiklėlių dažytuvuose. Šio produkto skiedimas gali lemti prastą prietaiso veikimą ir galimą dažymo praradimą.

LAUKIAMŲ REZULTATŲ APŽVALGA

Laukiami paciento bandinio rezultatai aprašyti atitinkamame Ventana pirminių antikūnų informaciniame lapelyje. Tinkami bandinio kontrolės rezultatai patvirtina, kad reagentas ir sistema veikia tinkamai.

PROBLEMŲ SPRENDIMAS

1. Jeigu teigiamai kontrolei gautas silpnesnis dažymas nei tikėtasi, turėtų būti patikrintos kitos teigiamos kontrolės, apdorotos tame pačiame prietaise, kad nustatytumėte, ar tai dėl pirminio antikūno, ar dėl vieno iš bendrų antrinių reagentų.
2. Jeigu teigiama kontrolė nenusidažė, reikėtų patikrinti, ar ant jos objektnio stiklėlio užklijuota tinkama juostinio kodo etiketė. Jeigu objektnis stiklėlis pažymėtas tinkamai, turėtų būti patikrintos kitos teigiamos kontrolės, apdorotos tame pačiame prietaise, kad nustatytumėte, ar tai dėl pirminio antikūno, ar dėl vieno iš bendrų antrinių reagentų. Audiniai gali būti neteisingai paimti, užfiksuoti ar deparafinizuoti. Imant audinius, juos laikant ir fiksuojant turėtų būti laikomasi tinkamos procedūros.
3. Jeigu gaunamas perteklinis fono dažymasis, gali būti, kad endogeninis biotino lygis yra aukštas. Turėtų būti įtrauktas biotino blokavimo žingsnis.
4. Jeigu buvo pašalintas ne visas parafinas, deparafinizacijos procedūra turėtų būti pakartota.
5. Jeigu specifinis antikūnų dažymas yra per intensyvus, objektnių stiklėlių apdorojimas turėtų būti kartojamas trumpinant inkubacijos trukmę 4 minutėmis, kol bus gautas norimas dažymo intensyvumas.
6. Jei audinių sekscijos nusiplauna nuo objektnių stiklėlių, reikia patikrinti, ar jie teigiamai įkrauti.
7. Spręsdami problemas remkitės skyreliu „Procedūra žingsnis po žingsnio“, automatinio objektnių stiklėlių dažytuvo vartotojo vadovu arba susisiekite su vietiniu Ventana atstovu.

LITERATŪRA

1. Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and practice of histotechnology, 2nd Edition. The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1980.
2. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2001.
3. NCCLS. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. NCCLS document MM4-A- (ISBN 1-56238-396-5). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
4. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem 66(4): 194-199, 1991.
5. Nadjl M, Morales AR. Immunoperoxidase: part 1. The technique and its pitfalls. Lab Med 14: 767, 1983.

INTELEKTINĖ NUOSAVYBĖ

CONFIRM™, EZ Prep™, VIEW™ ir Liquid Coverslip™ yra Ventana Medical Systems, Inc. prekiniai ženklai; BenchMark®, ES®, Gen II®, NexES® and Ventana® registruoti Ventana Medical Systems, Inc. prekiniai ženklai.

Saugoma šių patentų: U.S. Pat. Nos. 6045 759, 6192 945 B1, 6416 713 B1 ir kitų šalių analogų.