



## EZ Prep™ koncentratas (10X)

Katalogo numeris 950-102

### INDIKACIJOS IR NAUDOJIMAS

#### Numatomas naudojimas

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

Ventana® Medical Systems (Ventana) EZ Prep koncentratas (10X) tirpalas naudojamas pašalinti parafinui nuo audinių bandinių imunohistocheminių ir *in situ* hibridizacijos reakcijų metu ir skiesti 2X SSC koregavimo plovimų metu *in situ* hibridizacijos reakcijose, atliekamos Ventana automatinuose objektinių stiklėlių dažytuvuose.

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

#### Apžvalga ir paaiškinimas

Tech spec. 1.1 EZ Prep yra vandeninio pagrindo tirpalas, kuris turi būti praskiestas prieš naudojimą.

Praskiestas EZ Prep (1X) tirpalas supilamas į tinkamą (EZ Prep) konteinerį automatinų fluidų modulyje automatiname objektinių stiklėlių dažytuve. Prietaisais pateikia EZ Prep (1X) tirpalą automatiškai, kai to reikalauja vykdomas dažymo protokolas. Papildoma informacija pateikiama atitinkamo automatinio objekcinio stiklėlių dažytuvo vartotojo vadove.

#### Principai ir procedūros

Parafino įtvirtinantis terpės pašalinamas nuo audinių sekcijų Ventana automatinuose objektinių stiklėlių dažytuvuose atliekamas derinant karštį, švelnų detergentinį tirpalą (EZ Prep) ir sukūrinį maišymą. Detergentas sumažina paviršiaus įtempimą vandeniniame tirpale ir padeda pasišalinti ištirpusiam parafinui nuo audinio ir stiklo paviršiaus ir todėl jis išplaunkia į vandeninės balutės paviršių. Sukūrinis maišymas trukdo parafinui vėl nusėsti ant objekcinio stiklėlio ir leidžia jį efektyviai pašalinti plaukiant. Pašalinus parafiną audinys lieka sudrėkintas automatinio dažymo proceso skysčio likučiu.

#### MEDŽIAGOS IR METODAI

##### Pateikiami reagentai

1 – 2 L butelis EZ Prep koncentrato (10X) vandeninio pagrindo tirpalo.

##### Atkūrimas, maišymas, skiedimas ir titravimas

EZ Prep koncentratas (10X) turi būti praskiestas devyniomis dalimis distiliuoto ar dejonizuoto vandens prieš naudojimą automatinuose objektinių stiklėlių dažytuvuose.

1. Užpildykite maždaug tris ketvirčius 20 L graduoto didbutelio distiliuotu ar dejonizuotu vandeniu. Prieš pildami vandenį, įsitikinkite, kad didbutelio čiaupas yra uždarytas.
2. Supilkite visą 2 L 10X EZ Prep butelio turinį į didbutelį.
3. Pripilkite distiliuoto ar dejonizuoto vandens, kad užpildytumėte didbutelį iki 20 litrų žymės. Jeigu susidaro daug burbuliukų, leiskite tirpalui nusistovėti, kol jie išsisklaidys.

Uždėkite dangtelį ant konteinerio, keletą kartų sumaišykite tirpalą, kad užtikrintumėte, jog koncentratas tolygiai susimaišys su vandeniu. Praskiestas EZ Prep (1X) tirpalas paruoštas naudoti automatinuose dažytuvuose.

##### 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 teigiama kontrolė arba ISH DNR neigiamos kontrolės zondas\*.
3. Mikroskopiniai objekciniai stiklėliai, teigiamai įkrauti.
4. Teigiamos ir neigiamos audinių kontrolės.
5. Džiovinimo krosnis, galinti palaikyti 70 °C ± 5 °C temperatūrą.
6. Juostinių kodų etiketės (tinkamos tiriama neigiamai kontrolei ar pirminiams antikūnams).
7. 10 % neutralus (su buferiu) formalinas.
8. Dažymo indai ar vonelės.
9. Laikrodys.
10. Ksilenas.
11. Etanolis ar reagentinis alkoholis.
12. Dejonizuotas ar distiliuotas vanduo.
13. BenchMark arba BenchMark XT automatiniai objektinių stiklėlių dažytuvai.
14. Ventana ISH MIEW Blue™ rinkinys\*.
15. Ventana ISH signalo nuskaitytojas\*.
16. Zondas\*.
17. Ventana ISH Proteazė 1, 2 ar 3\*.
18. Ventana ISH Raudonasis foninis dažas\*.
19. Ventana MIEW™ DAB (pagėdaujamas), AEC, V Red (ALK PHOS) arba Enhanced V Red detekcijos rinkiniai\*.
20. Ventana endogeninio biotino blokavimo rinkinys\*.
21. Pirminis antikūnas\*.
22. Ventana LSC, dengiamasis tirpalas.

23. Ventana Ląstelių kondicionierius 1 (CC1) arba Ląstelių kondicionierius 2 (CC2)\*.
  24. Ventana Proteazė I, II ar III\*.
  25. Ventana Hematoksilino foninis dažas\*.
  26. Ventana Melsvinimo reagentas\*.
  27. Ventana Reakcijos buferis.
  28. Dengimo skystis.
  29. Dengiamasis stiklėlis.
  30. Šviesinis mikroskopas (20-80X).
- \*Jei reikia specifiniam taikymui.

#### Laikymas ir naudojimas

Laikyti kambario temperatūroje (nuo 20 °C iki 28 °C) nepasiekiamoje saulės spindulių vietoje. 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.

Paskiestas 1X reagentas gali būti laikomas kambario temperatūroje (nuo 20 °C iki 28 °C) nepasiekiamoje saulės spindulių vietoje iki bus pasiruošta jį naudoti prietaise. Prieš naudojimą būtina patikrinti, ar EZ Prep (10X) neturi mikrobio užkrėtimo požymių. Požymiai, rodantys užkrėtimą ar šio produkto nestabilumą, yra tirpalo drumstumas, kvapo atsiradimas, tirpale matomos nuosėdos. Pasirodžius galimo reagento užkrėtimo ar 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 objektinių stiklėlių dažytuvais (žr. skyrelį „Reikalingos, bet nepateikiamos medžiagos ir reagentai“). Rekomenduojamas audinio fiksatyvas yra 10 % neutralus (su buferiu) formalinas. 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 objekcinio stiklėlio. Objekciniai 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. Naudodamiesi reagentais, imkitės tinkamų atsargumo priemonių. Naudokite vienkartines pirštines, kai naudojate medžiagas, kurios gali būti karcinogeninės ar toksinės (pavyzdžiui, ksilenas ar formaldehidas).
2. Venkite akių ir gleivinių membranų kontakto su reagentais. Jeigu reagentai patenka ant jautrių sričių, gausiai nuplaukite vandeniu.
3. Nerūkykite, nevalgykite ir negerkite zonose, kuriose dirbama su bandiniais ir reagentais.
4. Pacientų bandiniai ir visos medžiagos, susiduriančios su jais, turėtų būti laikomi biologinio pavojaus medžiagomis ir išmetami su atitinkamomis atsargumo priemonėmis. Niekomet nesuirbkite medžiagų į pipetę burna.
5. Venkite reagentų mikrobiologinio užkrėtimo, kadangi dėl to gali būti gaunami netikslūs rezultatai.
6. Šis reagentas optimizuotas 1:10 (1X) skiedimui. Tolimesni skiedimai gali lemti prastą prietaiso veikimą ir dažymo praradimą. Vartotojas turi validuoti bet kokius tokius pakeitimus.
7. Vartojamas pagal nurodymus, produktas yra nepavojingas.
8. Šis reagentas gali būti žalingas prarijus arba įkvėpus. Šis reagentas gali sukelti trumpalaikius odos ar akių sudirginimus ir gali dirginti gleivinių membranų bei viršutinius kvėpavimo takus. Įkvėpus dideles garų ar aerozolio koncentracijas gali pasireikšti galvos skausmai, galvos svaigimas, neįtrauta, dusimas, sąmonės praradimas ir kiti centrinės nervų sistemos simptomai. OSHA leistina ekspozicijos riba 5 mg/m<sup>3</sup> (alyvos aerozolis).
9. Šis reagentas nedegus.

#### NAUDOJIMO NURODYMAI

Praskiestas EZ Prep (1X) tirpalas supilamas į atitinkamoje pozicijoje (EZ Prep) esantį konteinerį automatiname fluidų modulyje Ventana automatiname objektinių stiklėlių dažytuve. EZ Prep (1X) automatiškai pateikiamas, kai to reikalauja vykdomas protokolas.

Prieš pirmąjį EZ Prep (1X) tipalo naudojimą vartotojo laboratorijoje, tinkamas dažymasis turėtų būti patvirtintas nudažant keletą teigiamų ir neigiamų kontrolių. Ventana rekomenduoja teigiamas kontroles dėti ant to paties objekcinio stiklėlio kaip ir paciento audinio bandinys.

#### Procedūra žingsnis po žingsnio

Ventana reagentai buvo sukurti naudojimui Ventana automatinuose objektinių stiklėlių dažytuvuose kartu su Ventana detekcijos rinkiniais, pirminiais antikūnais, zondais ir priedais. Rekomenduojami dažymo protokoliai automatinams objektinių 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 objektinių stiklėlių dažytuvų veikimo parametrai nustatomi gamykloje. Detalus nurodymai ir papildomos protokolų pasirinktys pateikiami prietaiso vartotojo vadove.

BenchMark ir BenchMark XT automatiniams objektinių stiklėlių dažytuvams

1. Užklijuokite objektinių stiklėlių juostinių kodų etiketę, atitinkančią atliekamą zondo protokolą.
2. Uždėkite pirminį antikūną ar zondą, tinkamą detekcijos rinkinį ir reikalingus papildomus reagentus ant reagentų padėklų ir įdėkite jį į automatinį objektinių stiklėlių dažytuvą. Patikrinkite tūrinis fluidus ir atliekas.
3. Sudėkite objektinius stiklėlius į automatinį objektinių stiklėlių dažytuvą.
4. Paleiskite dažymo procesą.
5. Pasibaigus procesui, išimkite objektinius stiklėlius iš automatinio objektinių 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 objektiniai 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 objektinius stiklėlius į vonelę su distiliuotu vandeniu maždaug 1 – 3 minutėms. Nukratykite vandens perteklių.
10. Patikrinkite šios ir visų kitų vonelių lygius. Įsitinkinkite, kad visi tirpalai visiškai padengs objektinius stiklėlius, sudėtas padėkle. Pridėkite pakankamą kiekį naujo reagento į kiekvieną konteinerį, kad objektiniai stiklėliai visuomet būtų padengti. Įsitinkinkite, kad pašalinate fluido perteklių po kiekvieno žingsnio.
11. Perkelkite objektinius stiklėlius į 90 % etanolį maždaug 1 – 3 minutėms.
12. Perkelkite objektinius stiklėlius į 100 % etanolį maždaug 1 – 3 minutėms.
13. Perkelkite objektinius stiklėlius į antrąją 100 % etanolio vonelę maždaug 1 – 3 minutėms.
14. Perkelkite objektinius stiklėlius į pirmąją ksileno vonelę maždaug 1 – 3 minutėms.
15. Perkelkite objektinius stiklėlius į antrąją ksileno vonelę maždaug 1 – 3 minutėms. Objektiniai 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 veikė. 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. Jeigu specifinis dažymas atsiranda neigiamos audinio kontrolės srityse, rezultatai su paciento bandiniais turėtų būti laikomi negaliojančiais.

### Nepaaiškinami neatitikimai

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. Objektinis stiklėlis turėtų būti dažomas su Neigiamos kontrolės reagentu (pelėms) 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 antisėrumas. 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 keletas antikūnų panelių, neigiama reagento kontrolė ant vieno objekto stiklėlio gali būti neigiama ar nespecifinio susirišimo fono kontrolė kitiems antikūnams.

### 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 sąrašo ir NCCLS patvirtintų direktyvų kokybės kontrolės rekomendacijos. Šios kokybės kontrolės procedūros turėtų būti karojamos 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, patyręs imunohistocheminėse procedūrose, turi įvertinti teigiamas ir neigiamas kontroles prieš interpretuodamas rezultatus.

### Teigiama audinio kontrolė

Nudažytas teigiamas audinys turėtų būti tiriamas pirmas, kad išsiaiškintumėte, ar visi reagentai veikia 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 blyškio 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.

### 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. Interpretuoti 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* hibridizacijos tyrimai yra daugiapakopis diagnostinis procesas, kuriam būtinas specializuotas paruošimas pasirenkant tinkamus reagentus, audinius, fiksuojant, apdorojant, paruošiant imunohistocheminius objektinius stiklėlius ir interpretuojant dažymo rezultatus.
2. Imunohistocheminiuose tyrimuose 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 peroksidadės aktyvumo (citochromas C), šarminės fosfatazės aktyvumo ar endogeninio biotino (pavyzdžiui, kepenyse, smegenyse, kūtyse, inkstuose).
3. Audinio dažymasis priklauso nuo audinio paruošimo ir apdorojimo prieš dažymą. Netinkamas fiksavimas, užšaldymas, atšildymas, džiovinimas, kaitinimas, sekcijų pjaustymas ar užteršimas kitais audiniais ar fluide gali lemti artefaktų susidarymą, nespecifinį antikūnų sugavimą ar klaidingus neigiamus rezultatus. Nenuoseklūs rezultatai gali būti gaunami dėl fiksavimo ir įtvirtinimo metodų variacijų ar dėl būdingų nereguliarumų audinyje.
4. Perteklinis ar nepakankamas foninis dažymas gali trukdyti tinkamai interpretuoti rezultatus.
5. Klinikinė bet kokie teigiamo dažymo ar jo nebuvimo interpretacija turi būti įvertinta klinikinės istorijos, morfologijos ar kitų histopatologinių kriterijų kontekste. Klinikinė bet kokie 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.

6. Ventana tiekia reagentus, kurių skiedimai, darbo metu sekant pateikiamus nurodymus, yra optimalūs. Bet kokie nuokrypiai nuo rekomenduojamos testo procedūros gali anuluoti laukiamus rezultatus. Tinkamos kontrolės turi būti naudojamos ir dokumentuojamos. Vartotojai, kurie nukrypsta nuo rekomenduojamų testo procedūrų, turi prisiimti atsakomybę už paciento rezultatų interpretavimą.
7. 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 audiniuose. Jei gaunate ir dokumentuojate netikėtą reakciją, susisiekite su vietiniu Ventana atstovu.

#### Specifiniai apribojimai

1. Prieš naudojimą reikia patikrinti, ar EZ Prep (10X) neturi mikrobinio užkrėtimo požymių. Požymiai rodantys užkrėtimą ar šio produkto nestabilumą, yra tirpalo drumstumas, kvapo atsiradimas, tirpale matomos nuosėdos. Pasirodžius galimo reagento užkrėtimo ar nestabilumo požymiams iškart kreiptis į vietinį Ventana atstovą.
2. Šis reagentas optimizuotas 1:10 (1X) skiedimui. Tolimesni skiedimai gali lemti prastą prietaiso veikimą ir dažymo praradimą. Vartotojas turi patvirtinti bet kokius tokius pakelimus.

#### LAUKIAMŲ REZULTATŲ APŽVALGA

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

1. EZ Prep tirpalas naudotas audinių bandinių deparafinizavimui imunohistocheminėse reakcijose išimtinai Benchmark ir Benchmark XT automatinėse dažymo platformose. EZ Prep buvo patikrintas su įvairiais antikūnais, atitinkančiais krūties vėžio, limfomos ir leukemijos panelius taikant įvairias inkubavimo trukmes su specifiniais audinių tipais. Antikūnai apima PR, ER, ki67, p53, CD5, CD3, CD, CD10, CD79a, Bcl-2, CD15, CD30, cikliną D1, sinaptosiną, keratiną, CD8, CD4 and vimentiną. Audinių tipai apima krūties karcinomą, tonziles, dengiamųjų ląstelių limfomą, blužnį, antinksčių vėžį, Schwannoma, nervo dangalo vėžį, gaubtinės žarnos karcinomą, skydliaukės karcinomą, čiobrialiaukę, limfomą ir Hodžkinso limfomą.
2. Atsikartojamumas viename dažymo procese ir tarp skirtingų procesų buvo patikrintas vertinant skirtingus dažymo intensyvumus kiekvienam iš trijų objektnių stiklėlių kiekvienam bandymui trijuose procesuose. Kiekvieno objektnio stiklelio dažymo intensyvumas viename dažymo procese ir tarp skirtingų procesų buvo įvertintas trijų kvalifikuotų patologų ir visais atvejais nesisiskyrė daugiau nei per vieną laipsnį. Visais atvejais audinių bandiniai buvo įvertinti ir nustatyta, kad jų dažymo kokybė tinkama morfologiniams ląstelių dažymosi tyrimams.

#### PROBLEMŲ SPRENDIMAS

1. Jeigu teigiamai kontrolei gautas silpnas 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 stiklelio 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 sekcijos 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

Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and practice of histotechnology, 2nd Edition. The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1980.

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

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

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

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 Pathol 73(5): 626-32, 1980.

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

#### INTELEKTINĖ NUOSAVYBĖ

CONFIRM™, EZ Prep™, N/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.