



Ląstelių kondicionavimo tirpalas (CC1)

Katalogo numeris 950-124

INDIKACIJOS IR NAUDOJIMAS

Numatomas naudojimas

Šis reagentas skirtas naudoti *in vitro* diagnostikai.

Ventana® Medical Systems (Ventana) Ląstelių kondicionavimo tirpalas (CC1) yra iš anksto praskiestas tirpalas, naudojamas pirminio apdoravimo žingsnyje apdorojant audinių bandinius imunohistocheminėse (IHC) reakcijose, atliekamosse Ventana BenchMark® ir BenchMark® XT automatinuose objektnių stiklėlių dažytuvuose.

Apžvalga ir paaiškinimas

CC1 yra buferis Tris pagrindu, kurio nereikia skiesti. CC1 supilamas į butelį atitinkamoje pozicijoje (CC1) automatiname fluidų modulyje automatinio objektnių stiklėlių dažymo sistemoje. Prietaisas pateikia CC1 tirpalą automatiškai, kai to reikalauja vykdomas dažymo protokolas.

Principai ir procedūros

Fiksuojant audinius formalinu susidaro kovalentiniai ryšiai tarp aldehido ir audinyje esančių amino grupių. Šių ryšių susidarymas denatūroja baltymus ir gali lemti antigeniškumo praradimą. Be to, formaldehidai gali sudaryti metileno tiltelius, kurie kryžmiškai sujungia audinių baltymus ir taip sumažina didelių molekulių, kaip antikūnų, prasiskverbimą į audinius.

CC1 yra buferis Tris pagrindu su šiek tiek baziniu pH, kuris aukštesnėse temperatūrose pakankamas hidrolizuoti kovalentinius ryšius, audiniuose sudarytus formalino. Pašalinus šiuos ryšius renatūruojamos baltymų molekulės ir padidinamas antikūnų prieinamumas. Dažnai šie pokyčiai lemia reikšmingus antikūnų prisijungimo ir pagerėjusio signalo ir triukšmo santykio padidėjimus. Automatinis objektnių stiklėlių dažytuvus automatiškai pakaitina objektnių stiklėlių iki tinkamos temperatūros ir palaiko temperatūrą tam tikrą laiko intervalą, pasirinktą vartotojo.

MEDŽIAGOS IR METODAI

Pateikiami reagentai

1 – 2 L butelyje CC1 yra buferis Tris pagrindu su konservantu.

Atkūrimas, maišymas, skiedimas ir titravimas

Šis reagentas paruoštas naudoti tiesiai iš butelio ir neturi būti skiedžiamas.

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 neigiama kontrolė.
2. Mikroskopiniai objektniai stiklėliai, teigiamai įkrauti.
3. Teigiamos ir neigiamos audinių kontrolės.
4. Džiovinimo krosnis, galinti palaikyti 70 °C ± 5 °C temperatūrą.
5. Juostinių kodų etiketės (tinkamos protokolui).
6. 10 % neutralus (su buferiu) formalinas.
7. Dažymo indai ar vonelės.
8. Laikrodis.
9. Ksilenas.
10. Etanolis ar reagentinis alkoholis.
11. Dejonizuotas ar distiliuotas vanduo.
12. BenchMark arba BenchMark XT automatiniai objektnių stiklėlių dažytuvai.
13. MIEW™ DAB, AEC, V Red (ALK PHOS) arba Enhanced V Red detekcijos rinkiniai*.
14. Ventana endogeninio biotino blokavimo rinkinys*.
15. Pirminis antikūnas.
16. Ventana EZ Prep™ tirpalas*.
17. Ventana LSC, dengiamasis tirpalas.
18. Ventana Proteazė I, II ar III*.
19. Ventana Hematokslino foninis dažas*.
20. Ventana Melsvinio reagentas*.
21. Ventana Reakcijos buferis.
22. Dengimo skystis.
23. Dengiamasis stiklėlis.
24. Šviesinis mikroskopas (20-80X).

*Jei reikia specifiniam taikymui.

Laikymas ir naudojimas

Laikyti kambario temperatūroje (nuo 20 °C iki 28 °C). Saugoti nuo tiesioginių saulės spindulių. 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.

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 objektnių 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 objektnio stiklėlio. Objektniai 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 vienkartinės pirštinės, kai naudojate medžiagas, kurios gali būti karcinogeninės ar toksinės (pavyzdžiui, ksilenas ar formaldehidai).
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 nesiurbkite medžiagų į pipetę burna.
5. Venkite reagentų mikrobiologinio užkrėtimo, kadangi dėl to gali būti gaunami netikslūs rezultatai.
6. Šis reagentas gali sukelti odos ir akių sudirginimus. Jis taip pat gali dirginti gleivinių membranas ir viršutinius kvėpavimo takus. Jautriems asmenims galimos alerginės kvėpavimo ar odos reakcijos.
7. CC1 yra nedegus.
8. Vartojamas pagal nurodymus, produktas nėra klasifikuojamas kaip pavojinga medžiaga. Reagento konservantas yra ProClin 5000, kurio aktyvūs ingredientai yra 5-chloro-2-metil-4-izotiazin-3-onas ir 2-metil-4-izotiazolin-3-onas. Per ilgo kontakto su ProClin 5000 simptomai apima odos ir akių sudirginimą bei gleivinių membranų ir viršutinių kvėpavimo takų dirginimą. Jautriems asmenims galimos alerginės kvėpavimo takų ar odos reakcijos. ProClin 5000 koncentracija šiame produkte yra 0,05 % ir neatitinka OSHA kriterijų pavojingoms medžiagoms. Jautriems asmenims galimos sisteminės alerginės reakcijos.

NAUDOJIMO NURODYMAI

CC1 supilamas į atitinkamoje pozicijoje (CC1) esantį butelį automatiname fluidų modulyje Ventana automatiname objektnių stiklėlių dažytuve. CC1 pateikiamas ant audinių bandinių pašalinus parafiną prieš užnešant kitus reagentus, naudojamus nustatyti analizei, kaip reikalauja atliekamas dažymo protokolas. CC1 tirpalą prietaisas pateikia automatiškai. Vartotojas gali pasirinkti švelnų (30 minučių), standartinį (60 minučių) ar pailgintą (90 minučių) ląstelių kondicionavimą. Prieš pirmąjį CC1 tipalo naudojimą vartotojo laboratorijoje, tinkamas dažymasis turėtų būti patvirtintas nudažant keletą teigiamų ir neigiamų kontrolių su žinomomis dažymosi charakteristikomis antikūnui, kuriam reikalingas taikinio atidengimas. Kasdieninis bandymo patvirtinimas gali būti atliekamas tinkamai naudojant teigiamas ir neigiamas kontroles. Ventana rekomenduoja teigiamas kontroles dėti ant paties objektnio stiklėlio kaip ir paciento audinio bandinys. Vartotojas gali koreguoti bandymo parametrus, optimizuodamas dažymo rezultatus su švelnaus, standartinio ir pailginto kondicionavimo pasirinktimis bei koreguodamas inkubavimo su pasirinktu pirminiu antikūnu trukmę.

Procedūra žingsnis po žingsnio

Ventana reagentai buvo sukurti naudojimui Ventana automatinuose objektnių stiklėlių dažytuvuose kartu su Ventana detekcijos rinkiniais ir priedais. Rekomenduojami dažymo protokolai automatiniam objektnių stiklėlių dažytuvams pateikiami atitinkamų pirminių antikūnų ar zonų informaciniuose lapeliuose. Automatinų procedūrų parametrai gali būti pateikiami, atspausdinami ir redaguojami priklausomai nuo procedūrų, pateiktų vartotojo vadove. Kiti automatinų objektnių stiklėlių dažytuvų veikimo parametrai nustatomi gamykloje. Detalūs nurodymai ir papildomos protokolų pasirinktys pateikiami prietaiso vartotojo vadove.

BenchMark ir BenchMark XT automatiniam objektnių stiklėlių dažytuvams

1. Užklijuokite objektnio stiklėlio juostinio kodo etiketę, atitinkančią atliekamą zondo protokolą.
2. Uždėkite pirminį antikūną ar zoną, tinkamą detekcijos rinkinį ir reikalingus papildomus reagentus ant reagentų padėklo ir įdėkite jį į automatinį objektnių stiklėlių dažytuvą. Patikrinkite turinius fluidus ir atliekas.
3. Sudėkite objektnius stiklėlius į automatinį objektnių stiklėlių dažytuvą.
4. Paleiskite dažymo procesą.
5. Pasibaigus procesui, išimkite objektnius stiklėlius iš automatinio objektnių 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 objektniai 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).

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 testinis 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 (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 tokios pačios kaip ir pirminiam antikūnui. Kai serijinėms sekcijoms naudojamas keletas antikūnų panelis, neigiama reagento kontrolė ant vieno objekcinio 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 kartojamos kiekvienai naujai antikūnų partijai ar kada tik pakeičiami bandymo parametrai.

Rezultatų interpretavimas

Ventana automatinė dažymo procedūra lemia spalvoto reakcijos produkto susidarymą. Remkitės atitinkamo detekcijos rinkinio pakuotėje esančiu informaciniu lapeliu, kuriame aprašomos laukiamos spalvinės reakcijos. Kvalifikuotas patologas, patyręs imunohistocheminės procedūros, 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 reaktingumas yra tinkamas. Laukiama spalvinė reakcija aprašyta informaciniame lapelyje, esančiame detekcijos rinkinio pakuotėje. Foninio dažymo intensyvumas priklausys nuo inkubavimo trukmės.

IHC foniniam dažymui priklausomai nuo inkubacijos trukmės ir naudojamo hematoksilino stiprumo, foninio dažymo metu ląstelių branduoliai bus gauti nuo blyškių iki tamsiai mėlynų.

Perteklinis arba nepakankamas foninis dažymas gali trukdyti tinkamai interpretuoti rezultatus. Jeigu teigiamoje audinio kontroleje 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. IHC testuose 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. Interpretuojant bet kokius rezultatus, taip pat turėtų būti iširta kiekvieno audinio bandinio morfologija naudojant hematoksilino ir eozinu nudažytas sekcijas. Paciento morfologiniai rezultatai ir susiję klinikiniai duomenys turi būti interpretuojami kvalifikuoto patologo.

APRIBOJIMAI

Bendri apribojimai

1. IHC yra daugiapakopis diagnostinis procesas, kuriam būtinas specializuotas paruošimas pasirenkant tinkamus reagentus, audinius, fiksuojant, apdorojant, paruošiant imunohistocheminius objekcinius stiklėlius ir interpretuojant dažymo rezultatus.
2. Imunohistocheminiuose tyrimuose klaidingi teigiami rezultatai gali būti matomi dėl neimuninio baltymų ar substrato reakcijos produktų susirišimo. Priklausomai nuo naudojamo imunodažymo tipo jie taip pat gali būti lemiami pseudoperoksidazės aktyvumo (eritrocituose), endogeninio peroksidazės aktyvumo (citochromas C), šarminės fosfatazės aktyvumo ar endogeninio biotino (pavyzdžiui, kepenyse, smegenyse, krūtyse, 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 fluidais 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 objekcinių stiklėlių peržiūrą ir teigiamų bei neigiamų kontrolių tinkamumo užtikrinimą.
6. Ventana tiekia reagentus, kurių skiedimai, darbo metu sekant pateikiamus testo procedūros gali anuliuoti laukiamus rezultatus. Tinkamos kontroles 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 CC1 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 kreipkitės į vietinį Ventana atstovą.
2. CC1 optimizuotas naudojimui Ventana automatinuose objekcinių stiklėlių dažytuvuose. Šio produkto skiedimas lems prastą prietaiso veikimą ir dažymo pradžią.

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.

1. Ląstelių kondicionavimo tirpalas (CC1) yra buferis Tris pagrindu, naudojamas kaip pirminio apdorojimo žingsnis, reikalingas kaip pagalba pagerinti antigeno atpažinimą apdorojant audinių bandinius imunohistocheminėse ar *in situ* hibridizacijos reakcijose. Šio reagento jautrumas ir specifiskumas kaip atskiro reagento negali būti tikrinamas; jis kokybiškai chemiškai padaugina taikininį antigeną ir gali būti naudojamas kaip įrankis sustiprinti dažymui. CC1 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, Schwannomą, nervo dangalo vėžį, gaublinės žarnos karcinomą, skydliaukės karcinomą, čiobrialiaukę, limfomą ir Hodžkinso limfomą.

2. Atsikartojamumas viename dažymo procese ir tarp skirtingų procesų buvo patikrintas nustatant kiekvieno objekcinio stiklėlio dažymosi intensyvumą po trijų procesų. Vertinimas buvo atliktas trijų kvalifikuotų patologų ir visų objektnių stiklėlių dažymo intensyvumas viename procese ir tarp skirtingų dažymosi procesų visais atvejais nesiskyrė daugiau nei per vieną laipsnį.

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 nenusidazė, reikėtų patikrinti, ar ant jos objekcinio 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 sekcijos nusiplauna nuo objektnių stiklėlių, reikia patikrinti, ar jie teigiamai įkrauti.
7. Spręsdami problemas remkitės skyrelių „Procedūra žingsnis po žingsnio“, automatinio objektnių stiklėlių dažytuvo vartotojo vadovu arba susisiekite su vietiniu Ventana atstovu.

LITERATŪRA

Beesley JE. Immunocytochemistry and *in situ* Hybridization in the Biomedical Sciences. Birkhäuser.2001.

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.

Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

Nadji 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.