

Novolink Polymer Detection Systems

Product No: RE7140-K, RE7150-K, RE7280-K, RE7290-K

Novolink Polymer

Product No: RE7200-K, RE7260-K

Novolink DAB (Polymer)

Product No: RE7230-K, RE7270-K

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West
Benton Lane
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW
United Kingdom
☎ +44 191 215 4242



[EN](#) [FR](#) [IT](#) [DE](#) [ES](#) [PT](#) [SV](#) [EL](#) [DA](#) [NL](#)

[NO](#) [TR](#) [BG](#) [HU](#) [RO](#) [RU](#) [PL](#) [SL](#) [CS](#) [SK](#)



[AR](#) [SR](#) [LV](#) [LT](#) [ET](#)

Instructions for Use

Please read before using this product.

Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

Istruzioni per L'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

Instrucciones de Uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

Instruktioner vid Användning

Var god läs innan ni använder produkten.

Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

Bruksanvisning

Læs venligst før produktet tages i brug.

Gebruiksaanwijzing

Lezen vóór gebruik van dit product.

Bruksanvisning

Vennligst les denne før du bruker produktet.

Kullanım Talimatları

Lütfen bu ürünü kullanmadan önce okuyunuz.

Инструкции за употреба

Моля, прочетете преди употреба на този продукт.

Használati utasítás

A termék használatba vétele előtt olvassa el.

Instrucțiuni de utilizare

Citiți aceste instrucțiuni înainte de a utiliza produsul.

Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

Instrukcja obsługi

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

Návod k použití

Čtěte před použitím tohoto výrobku.

Návod na použitie

Prosím, prečítajte si ho pred použitím produktov.

إرشادات الاستعمال

يُرجى القراءة قبل استخدام هذا المنتج.

Uputstvo za upotrebu

Pročitajte uputstvo pre upotrebe ovog proizvoda.

Lietošanas norādījumi

Lūdzu, izlasiet pirms produkta lietošanas.

Naudojimo instrukcija

Perskaitykite prieš pradėdami naudoti šį produktą.

Kasutusjuhised

Lugege enne toote kasutamist.

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Product No: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Product No: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Product No: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Product No: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Product No: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Product No: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Product No: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Product No: RE7230-K

For Professional Use Only

Intended Purpose

For *in vitro* diagnostic use.

Novolink Polymer Detection Systems are used for the visualization of mouse IgG, mouse IgM and rabbit IgG primary antibodies. They are intended for target visualization by manual immunohistochemistry (IHC) in sections of formalin fixed, paraffin-embedded tissue. Novolink Polymer and Novolink DAB (Polymer) are component reagents of these systems.

The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies and proper controls should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer and Novolink DAB (Polymer) are intended to be used with other devices for visualization of staining and as such, qualitative or semi-quantitative diagnostic function including specific disease indication and intended use population is described within the associated device labelling as required for that device.

Test Principle

The first immunohistochemical technique was reported by Nakane and Pierce.¹ Since then many developments have occurred, leading to increased sensitivity over earlier techniques. A recent development has been the use of polymeric labeling. This technology has been applied to both primary antibodies² and detection systems. The Novolink Polymer Detection Systems utilize a novel controlled polymerization technology to prepare polymeric HRP-linker antibody conjugates. Therefore, the problem of non-specific staining that can occur with Streptavidin/Biotin detection systems due to endogenous biotin does not occur.

These products are used in an immunohistochemical (IHC) procedure, which allows the qualitative identification by light microscopy of antigens in sections of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue, via sequential steps with interposed washing steps. If required by the primary antibody, sections are subjected to epitope retrieval prior to staining. Endogenous peroxidase activity is neutralized using the Peroxidase Block. This is followed by application of the Novocastra Protein Block to reduce non-specific binding of primary antibodies and polymer. The section is subsequently incubated with optimally diluted primary antibody. Post Primary (Rabbit anti mouse IgG) is then used to detect mouse antibodies. The Novolink Polymer recognizes rabbit immunoglobulins, it detects the post primary and any tissue-bound rabbit primary antibodies. Sections are further incubated with the substrate/chromogen, 3,3' - diaminobenzidine (DAB), prepared from DAB Chromogen and Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer), as described below. Reaction with the peroxidase produces a visible brown precipitate at the antigen site. Sections are counterstained with Hematoxylin 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.

Reagent Description

Details of which reagents from the following list are supplied in each product are given in the table below.

1. Peroxidase Block. 3–4% (v/v) Hydrogen peroxide.
2. Protein Block. 0.4% Casein in phosphate-buffered saline, with stabilizers, surfactant, and 0.2% Bronidox L as a preservative.
3. Post Primary. Rabbit anti mouse IgG (<10 µg/mL) in 10% (v/v) animal serum in tris-buffered saline/0.1% ProClin™ 950.
4. Novolink Polymer. Anti-rabbit Poly-HRP-IgG (<25 µg/mL) containing 10% (v/v) animal serum in tris-buffered saline/0.1% ProClin™ 950.
5. DAB Chromogen. 1.74% w/v 3,3' - diaminobenzidine, in a stabilizer solution.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Buffered solution containing ≤0.1% hydrogen peroxide and preservative.
7. Hematoxylin. <0.1% Hematoxylin.

Reagents	Product Number	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Reagents	Product Number	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

Reconstitution, Mixing, Dilution, Titration

The Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer and Hematoxylin are prediluted. Reconstitution, mixing, dilution, or titration of these reagents is not recommended. Further dilution may result in loss of antigen staining. The user must validate any such change.

The DAB Chromogen requires dilution to 1/20 in Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) prior to use. Further dilution may result in loss of antigen staining. The user must validate any such change.

Materials Required But Not Provided

Standard solvents used in immunohistochemistry.

50mM tris-buffered saline (TBS) pH7.6.

Antigen retrieval solution(s).

Enzyme retrieval solution(s).

Antibody diluent.

Primary antibody.

Mounting medium.

Equipment required for antigen retrieval, if recommended for the primary antibody.

General immunohistochemistry laboratory equipment.

Storage and Stability

Store at 2–8 °C. Do not freeze. Return to 2–8 °C immediately after use. Do not use after expiration date indicated on the product label. Storage conditions other than those specified must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product therefore positive and negative controls should be run simultaneously with patient samples.

Specimen Preparation

The recommended fixative is 10% neutral-buffered formalin for paraffin-embedded tissue sections.

Precautions and Product Specific Limitations

A Material Safety Data Sheet is available upon request or available from LeicaBiosystems.com

Do not mix reagents from different detection systems.

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.⁴

Never pipette reagents by mouth and avoid contacting the skin and mucus membranes with reagents and specimens. If reagents or specimens come in contact with sensitive areas, wash with copious amounts of water.

Consult Federal, State or local regulations for disposal of any potentially toxic components.

Minimize microbial contamination of reagents or an increase in non-specific staining may occur. Incubation times or temperatures other than those specified may give erroneous results. Any such change must be validated by the user.

Should any serious incident occur in relation to the product, the user shall report the incident to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user is established.

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.

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.⁸

Excessive or incomplete counterstaining may compromise proper interpretation of results.

The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Novolink Polymer Detection Systems and their components are for use on paraffin-embedded sections with specific fixation requirements. Unexpected antigen expression may occur, especially in neoplasms. The clinical interpretation of any stained tissue section must include morphological analysis and the evaluation of appropriate controls.

Instructions for Use

Prior to undertaking this methodology, users must be trained in immunohistochemical techniques.

All steps must be followed as directed or performance may be impaired.

The combination of the primary antibody, its dilution, together with the detection system should be validated by the user on a series of known positive and negative controls.

Unless indicated, all steps are performed at room temperature (25 °C).

For use on frozen tissue, cut sections and fix according to recommendations for primary antibody, commence at step 11.

1. Cut and mount sections on slides coated with a suitable tissue adhesive.
2. De-paraffinize sections in xylene or xylene substitutes.
3. Re-hydrate through graded alcohols.
4. Wash slides in running tap water.
5. Perform antigen retrieval as required (see **Instructions for Use** for primary antibody).
6. Wash slides in de-ionized water.
7. Neutralize endogenous peroxidase using Peroxidase Block for 5 minutes.

8. Wash in TBS for 2 x 5 minutes.
9. Incubate with Protein Block for 5 minutes.
10. Wash in TBS for 2 x 5 minutes.
11. Incubate with optimally diluted primary antibody (see **Instructions for Use** for primary antibody).
12. Wash in TBS for 2 x 5 minutes.
13. Incubate with Post Primary for 30 minutes.
14. Wash in TBS for 2 x 5 minutes.
15. Incubate with Novolink Polymer for 30 minutes.
16. Wash in TBS for 2 x 5 minutes with gentle rocking.
17. Develop peroxidase activity with DAB working solution (see DAB Working Solution) for 5 minutes.
18. Rinse slides in water.
19. Counterstain with Hematoxylin.
20. Rinse slides in water for 5 minutes.
21. Dehydrate, clear and mount sections.

DAB Working Solution

Add 50 µl of DAB Chromogen to 1 ml of Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Use within six hours of preparation.

Performance Characteristics

The performance of Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer and Novolink DAB (Polymer) have been validated using a range of Novocastra mouse IgG, mouse IgM* and rabbit IgG primary antibodies.

*Weak staining may be seen with some antibodies of IgM isotype.

These products are stable up to the expiry date(s) printed on the product label.

Bibliography

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. *Pathology International*. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, PA. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadjm M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. *Current Diagnostic Pathology*. 2001; 7:161–167.
8. 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. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.

Intellectual Property

Copyright © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. All rights reserved. LEICA and the Leica Logo are registered trademarks of Leica Microsystems IR GmbH in the US and many other countries. BOND and Novocastra are registered trademarks of the Leica Biosystems group of companies in the USA and optionally in other countries.

Change History

Revision: Date of Issue	Detail of Revision
06 May 2021	<p>Intended Purpose: Update of device Intended Purpose, in accordance with REGULATION (EU) 2017/746 Chapter III 20.4.1.</p> <p>Materials Required But Not Provided: Updated to list materials.</p> <p>Precautions and Product Specific Limitations: Change to section title.</p> <p>Intellectual Property: Addition of new "Intellectual Property" section.</p> <p>Change History: Addition of new "Change History" section.</p>

Revision/Date of Issue

06 May 2021

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

N° de produit : RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

N° de produit : RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

N° de produit : RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

N° de produit : RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

N° de produit : RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

N° de produit : RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

N° de produit : RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

N° de produit : RE7230-K

Pour usage professionnel seulement

Objectif prévu

Diagnostic *in vitro*.

Les Novolink Polymer Detection Systems sont utilisés pour la visualisation des anticorps primaires IgG de souris, des IgM de souris et des IgG de lapin. Ils sont destinés à la visualisation des cibles par immunohistochimie manuelle (IHC) dans les coupes de tissus fixés à la formaline et enrobés de paraffine. Novolink Polymer et Novolink DAB (Polymer) sont des réactifs inclus dans ces systèmes.

L'interprétation clinique d'une coloration ou d'une absence de coloration doit être complétée par des études morphologiques et des contrôles adéquats doivent être évalués dans le contexte de l'anamnèse clinique du patient et d'autres tests diagnostiques réalisés par un pathologiste qualifié.

Les Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer et Novolink DAB (Polymer) sont destinés à être utilisés avec d'autres dispositifs pour la visualisation de la coloration et, en tant que telle, la fonction de diagnostic qualitatif ou semi-quantitatif, y compris l'indication spécifique de la maladie et la population d'utilisation visée, est décrite dans l'étiquetage du dispositif associé, comme requis pour ce dispositif.

Principe du test

La première technique basée sur l'immunohistoperoxydase a été décrite par Nakane et Pierce¹. Depuis, de nombreux progrès ont été accomplis, avec une sensibilité accrue par rapport aux techniques précédentes. L'utilisation du marquage polymère constitue l'un des développements récents réalisés dans ce domaine. Cette technologie a été appliquée à la fois aux anticorps primaires² et aux systèmes de détection. Les Novolink Polymer Detection Systems utilisent une technologie novatrice de polymérisation contrôlée afin de préparer des conjugués polymériques d'anticorps liés à la HRP. De ce fait, ils éliminent les problèmes de marquage non spécifique des systèmes de détection utilisant la streptavidine et la biotine, dus à la présence de biotine endogène.

Ces produits sont utilisés dans le cadre d'une procédure immunohistochemique (IHC), qui permet l'identification qualitative par microscopie optique des antigènes dans les coupes de tissus enrobés de paraffine et fixés à la formaline, via des étapes séquentielles entrecoupées d'étapes de rinçage. Si nécessaire pour l'anticorps primaire, les coupes subissent une récupération des épitopes avant rinçage. L'activité de la peroxydase endogène est neutralisée à l'aide de Peroxidase Block. Elle est suivie par l'application de Novocastra Protein Block pour réduire la liaison non spécifique des anticorps primaires et du polymère. Cette coupe est ensuite incubée avec un anticorps primaire dilué de manière optimale. Post Primary (IgG anti-souris de lapin) est ensuite utilisé pour détecter les anticorps de souris. Le Novolink Polymer reconnaît les immunoglobulines de lapin, il détecte les anticorps post-primaires et tous les anticorps primaires de lapin liés à des tissus. Les coupes sont ensuite incubées avec le substrat/chromogène, le 3,3' - diaminobenzidine (DAB), préparé à l'aide de DAB Chromogen et Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer), conformément au processus décrit ci-dessous. La réaction avec la peroxydase produit un précipité marron visible sur le site des antigènes. Les coupes sont contre-colorées à l'aide d'Hematoxylin et couvertes d'une lamelle. Les résultats sont interprétés à l'aide d'un microscope optique et aident à réaliser le diagnostic différentiel des processus physiopathologiques, qui pourraient être associés ou non à un antigène particulier.

Description du réactif

Vous trouverez dans le tableau ci-dessous les détails des réactifs de la liste suivante, fournis avec chaque produit.

1. Peroxidase Block. Contient 3-4 % (v/v) de peroxyde d'hydrogène.
2. Protein Block. 0,4 % de caséine dans un tampon phosphate salin, avec stabilisants, surfactant et 0,2 % de Bronidox L en tant que conservateur.
3. Post Primary. IgG anti-souris de lapin (< 10 µg/ml) contenant 10 % (v/v) de sérum animal dans une solution saline tamponnée au Tris / 0,1 % de ProClin™ 950.
4. Novolink Polymer. Poly-HRP-IgG anti-lapin (< 25 µg/ml) contenant 10 % (v/v) de sérum animal dans une solution saline tamponnée au Tris / 0,1 % ProClin™ 950.
5. DAB Chromogen. 1,74 % w/v 3,3' - diaminobenzidine dans une solution stabilisatrice.

Réactifs auxiliaires	Numéro de produit	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Réactifs auxiliaires	Numéro de produit	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Solution tampon contenant ≤ 0,1 % de peroxyde d'hydrogène et un conservateur.
7. Hematoxylin. < 0,1 % d'hématoxyline.

Reconstitution, mélange, dilution, titrage

Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer et Hematoxylin sont pré-dilués. Il n'est pas recommandé de reconstituer, mélanger, diluer ou titrer ces réactifs. Une dilution supplémentaire peut entraîner une perte de la coloration de l'antigène. L'utilisateur doit valider un tel changement.

Le DAB Chromogen nécessite une dilution à hauteur de 1/20 dans Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) avant utilisation. Une dilution supplémentaire peut entraîner une perte de la coloration de l'antigène. L'utilisateur doit valider un tel changement.

Matériels nécessaires mais non fournis

Solvants standard utilisés en immunohistochimie.

50 mm de solution saline tamponnée au Tris (TBS) pH 7,6.

Solution(s) de récupération d'antigènes.

Solution(s) de récupération d'enzymes.

Diluant pour anticorps.

Anticorps primaire.

Milieu de montage.

Équipement nécessaire pour la récupération des antigènes, si recommandé pour l'anticorps primaire.

Équipement de laboratoire général pour l'immunohistochimie.

Conservation et stabilité

Conservé à 2–8 °C. Ne pas congeler. Remettre immédiatement à 2–8 °C après utilisation. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du produit. Les conditions de conservation autres que celles spécifiées doivent faire l'objet d'une vérification par l'utilisateur. Il n'existe aucun signe évident d'instabilité du produit. Des tissus de contrôle positifs et négatifs doivent donc être traités simultanément avec les échantillons patient.

Préparation des Spécimens

Le fixateur recommandé est le formol neutre tamponné à 10 % pour les coupes de tissus enrobés de paraffine.

Précautions et limitations spécifiques au produit

Une Fiche de données de sécurité est disponible sur demande ou sur le site LeicaBiosystems.com

Ne pas mélanger les réactifs de systèmes de détection différents.

Les échantillons, avant et après la fixation, ainsi que tous les matériaux exposés à ces échantillons, doivent être traités comme s'ils étaient susceptibles de transmettre une infection et éliminés avec les précautions qui s'imposent.⁴

Ne jamais pipeter les réactifs à la bouche et veiller à éviter tout contact des réactifs et des échantillons avec la peau et les membranes muqueuses. Rincer avec de grandes quantités d'eau en cas de contact des réactifs ou des spécimens avec des zones sensibles.

Consulter les réglementations nationales, régionales ou locales relatives à l'élimination des composants potentiellement toxiques.

Minimiser la contamination microbienne des réactifs, faute de quoi un accroissement de la coloration non spécifique est susceptible de se produire. Des durées ou températures d'incubation autres que celles précisées peuvent produire des résultats erronés. Toute modification de ces paramètres doit être validée par l'utilisateur.

En cas d'incident grave lié au produit, l'utilisateur doit signaler l'incident au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur est établi.

L'immunohistochimie est un processus diagnostique constitué de plusieurs étapes qui nécessitent une formation spécialisée relative au choix des réactifs appropriés ; au choix, à la fixation et au traitement des tissus ; à la préparation des lames IHC ; et à l'interprétation des résultats du marquage.

La coloration du tissu 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 incorrecte ou une contamination avec d'autres tissus ou fluides risquent de produire un artefact, un piégeage de l'anticorps ou des résultats faussement négatifs. Des résultats non homogènes peuvent provenir des variations des méthodes de fixation et d'enrobage, ou des irrégularités inhérentes au tissu.⁸

Une coloration de contraste excessive ou incomplète peut également compromettre l'interprétation correcte des résultats.

L'interprétation clinique de tout marquage, ou absence de marquage, doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée par un pathologiste qualifié à la lumière de l'anamnèse clinique du patient et d'autres analyses diagnostiques.

Novolink Polymer Detection Systems et ses composants sont destinés à être utilisés sur les coupes enrobées de paraffine avec des exigences de fixation spécifiques. Une expression inattendue d'antigènes peut se produire, particulièrement dans les néoplasmes. L'interprétation clinique de toute coupe de tissus colorée doit comprendre une analyse morphologique et l'évaluation de mesures de contrôles adéquates.

Mode d'emploi

Avant d'utiliser cette méthodologie, les utilisateurs doivent avoir suivi une formation portant sur les techniques immunohistochimiques.

Toutes les étapes doivent être suivies conformément aux instructions, ou les performances peuvent être compromises.

La combinaison de l'anticorps primaire, de sa dilution et du système de détection doit être validée par l'utilisateur à l'aide d'une série de contrôles positifs et négatifs connus.

Sauf indication contraire, toutes les étapes sont effectuées à température ambiante (25 °C).

Dans le cas d'une utilisation sur des tissus congelés, coupez les coupes et fixez conformément aux recommandations pour l'anticorps primaire, commencez par l'étape 11.

1. Couper et monter les coupes sur des lames revêtues d'un adhésif tissulaire adéquat.
2. Déparaffiner les coupes dans du xylène ou des substituts de xylène.
3. Réhydrater à l'aide d'alcools dénaturés.
4. Rincer les lames à l'eau du robinet.
5. Effectuer la récupération des antigènes, le cas échéant (voir le **mode d'emploi** de l'anticorps primaire).
6. Rincer les lames dans de l'eau dé-ionisée.
7. Neutraliser la peroxydase endogène à l'aide de Peroxidase Block pendant 5 minutes.
8. Rincer dans une solution TBS pendant 2 x 5 minutes.
9. Incuber avec Protein Block pendant 5 minutes.
10. Rincer dans une solution TBS pendant 2 x 5 minutes.
11. Incuber avec un anticorps primaire dilué de manière optimale (voir le **mode d'emploi** de l'anticorps primaire).
12. Rincer dans une solution TBS pendant 2 x 5 minutes.
13. Incuber avec Post Primary pendant 30 minutes.
14. Rincer dans une solution TBS pendant 2 x 5 minutes.
15. Incuber avec Novolink Polymer pendant 30 minutes.
16. Rincer dans une solution TBS pendant 2 x 5 minutes en agitant doucement.
17. Développer l'activité de la peroxydase avec une solution de travail DAB (voir Solution de travail DAB) pendant 5 minutes.
18. Rincer les lames dans l'eau.
19. Contre-colorer avec Hematoxylin.
20. Rincer les lames dans l'eau pendant 5 minutes.
21. Déshydrater, purger et monter les coupes.

Solution de travail DAB

Ajouter 50 µl de DAB Chromogen à 1 ml de Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Utiliser dans les six heures suivant la préparation.

Caractéristiques de performances

Les performances de Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer et Novolink DAB (Polymer) ont été validées à l'aide d'une gamme d'anticorps primaires Novocastra IgG de souris, IgM de souris et IgG de lapin.

*Une coloration faible peut être observée avec certains anticorps d'isotype IgM.

Ces produits sont stables jusqu'aux dates d'expiration imprimées sur l'étiquette du produit.

Bibliographie

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. *Pathology International*. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. *Current Diagnostic Pathology*. 2001; 7:161–167.
8. 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. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.

Propriété intellectuelle

Copyright © 2020 Leica Biosystems Newcastle, Inc. Tous droits réservés. LEICA et le logo Leica sont des marques déposées de Leica Microsystems IR GmbH aux États-Unis et sont utilisées dans plusieurs autres pays. BOND et Novocastra sont des marques déposées du groupe de sociétés Leica Biosystems aux États-Unis et éventuellement dans d'autres pays.

Historique des modifications

Révision : Date de publication	Date de révision
06 Mai 2021	Objectif prévu : Mise à jour de l'usage prévu de l'appareil, conformément au RÈGLEMENT (UE) 2017/746 Chapitre III 20.4.1. Matériels nécessaires mais non fournis : Mis à jour pour lister les matériels. Précautions et limitations spécifiques au produit : Modification du titre de la section. Propriété intellectuelle : Ajout d'une nouvelle section « Propriété intellectuelle ». Historique des modifications : Ajout d'une nouvelle section « Historique des modifications ».

Révision / Date de publication

06 Mai 2021

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Prodotto n.: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Prodotto n.: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Prodotto n.: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Prodotto n.: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Prodotto n.: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Prodotto n.: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Prodotto n.: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Prodotto n.: RE7230-K

Solo per uso professionale

Uso previsto

Per uso diagnostico *in vitro*.

Novolink Polymer Detection Systems sono utilizzati per la visualizzazione di anticorpi primari IgG e IgM di topo, e IgG di coniglio. Sono destinati alla visualizzazione del target mediante immunostochimica manuale (IHC) in sezioni di tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina. Novolink Polymer e Novolink DAB (Polymer) sono reagenti componenti di questi sistemi.

L'interpretazione clinica di un'eventuale colorazione o della sua assenza deve avvalersi di studi morfologici e devono essere effettuati opportuni controlli da patologi qualificati, nel contesto dell'anamnesi clinica del paziente e di altri test diagnostici.

Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer e Novolink DAB (Polymer) sono destinati ad essere utilizzati con altri dispositivi per la visualizzazione della colorazione e, come tale, la funzione diagnostica qualitativa o semi-quantitativa, compresa l'indicazione della malattia specifica e la popolazione d'uso prevista, è descritta nell'etichettatura del dispositivo associato come richiesto per quel dispositivo.

Principio del test

La prima tecnica di immunostochimica è stata riportata da Nakane e Pierce.¹ Da allora si sono verificati molti sviluppi che hanno portato a una maggiore sensibilità rispetto alle tecniche precedenti. Un recente sviluppo ha riguardato l'uso della marcatura polimerica. Tale tecnologia è stata applicata sia agli anticorpi primari² sia ai sistemi di rilevamento. Novolink Polymer Detection Systems utilizzano una tecnologia di polimerizzazione controllata per la preparazione di coniugati anticorpali polimerici leganti HRP. Pertanto, non si corre il rischio di colorazioni non-specifiche che possono verificarsi con l'impiego di sistemi di rivelamento streptavidina/biotina a causa della presenza di biotina endogena.

Questi prodotti sono utilizzati in una procedura immunostochimica (IHC), che permette l'identificazione qualitativa al microscopio ottico di antigeni in sezioni di tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina, attraverso passaggi sequenziali con fasi di lavaggio interposte. Se richiesto dall'anticorpo primario, le sezioni sono sottoposte allo smascheramento dell'epitopo prima della colorazione. L'attività della perossidasi endogena viene neutralizzata utilizzando il Peroxidase Block. Questo è seguito dall'applicazione del Novocastra Protein Block per ridurre il legame non specifico degli anticorpi primari e del polimero. La sezione viene successivamente incubata con l'anticorpo primario diluito in modo ottimale. Il Post Primary (IgG di coniglio anti-topo) viene quindi utilizzato per rilevare gli anticorpi del topo. Novolink Polymer riconosce le immunoglobuline di coniglio, rileva il primary post e qualsiasi anticorpo primario di coniglio legato ai tessuti. Le sezioni vengono ulteriormente incubate con il substrato/cromogeno, 3,3' - diaminobenzidina (DAB), preparato da DAB Chromogen e Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer), come descritto di seguito. La reazione con la perossidasi produce un precipitato marrone visibile nel sito dell'antigene. Le sezioni sono controcolorate con Hematoxylin e coperte con vetrino coprioggetto. I risultati vengono interpretati utilizzando un microscopio ottico e consentono la diagnosi differenziale dei processi patofisiologici, associabili o meno ad un antigene specifico.

Descrizione del reagente

I dettagli di quali reagenti della seguente lista sono forniti in ogni prodotto sono riportati nella tabella sottostante.

1. Peroxidase Block. 3–4% (v/v) di perossido di idrogeno.
2. Blocco della proteina. Caseina allo 0,4% in tampone fosfato salino, con stabilizzatori, tensioattivo e Bronidox L allo 0,2% come conservante.
3. Post Primary. IgG di coniglio anti-topo (<10 µg/ml) in siero animale al 10% (v/v) in tampone salino tris/0,1% ProClin™ 950.
4. Novolink Polymer. IgG Poli-HRP anti-coniglio (<25 µg/ml) contenente siero animale al 10% (v/v) in tampone salino tris/0,1% ProClin™ 950.
5. DAB Chromogen. 1,74% w/v 3,3' - diaminobenzidina, in una soluzione stabilizzante.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Soluzione tampone contenente ≤0,1% di perossido di idrogeno e conservante.
7. Hematoxylin. <0,1% di ematosilina.

Reagenti	Codice prodotto	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Reagenti	Codice prodotto	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

Ricostituzione, miscelazione, diluizione, titolazione

Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer and Hematoxylin sono prediluiti. Questi reagenti non necessitano di ricostituzione, miscelazione, diluizione né titolazione. Un'ulteriore diluizione può portare alla perdita di colorazione dell'antigene. L'utente deve convalidare qualsiasi cambiamento di questo tipo.

DAB Chromogen richiede una diluizione 1/20 in Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) prima dell'uso. Un'ulteriore diluizione può portare alla perdita di colorazione dell'antigene. L'utente deve convalidare qualsiasi cambiamento di questo tipo.

Materiali necessari ma non forniti

Solventi standard usati nell'immunocistochemica.

Tampone salino tris (TBS) 50mM pH 7,6.

Soluzione/i di smascheramento dell'antigene.

Soluzione/i di smascheramento dell'enzima.

Diluente anticorpale.

Anticorpo primario.

Mezzo di montaggio.

Apparecchiature necessarie per il recupero dell'antigene, se raccomandato per l'anticorpo primario.

Apparecchiature generali del laboratorio di immunocistochemica.

Conservazione e stabilità

Conservare a 2–8 °C. Non congelare. Riportare a 2–8 °C immediatamente dopo l'uso. Non utilizzare dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta del flacone. L'utente deve verificare eventuali condizioni di conservazione diverse da quelle specificate. Non ci sono segni evidenti che indicano instabilità del prodotto, pertanto i controlli positivi e negativi devono essere eseguiti contemporaneamente con campioni dei pazienti.

Preparazione del campione

Il fissativo consigliato è la formalina neutra tamponata al 10% per sezioni di tessuto incluso in paraffina.

Precauzioni e limitazioni specifiche del prodotto

Una scheda di sicurezza è disponibile su richiesta oppure su LeicaBiosystems.com

Non miscelare reagenti di sistemi di rilevamento diversi.

I campioni, prima e dopo la fissazione, e tutti i materiali a essi esposti, devono essere manipolati come potenziali vettori di infezione e smaltiti con le opportune precauzioni.⁴

Non pipettare mai i reagenti con la bocca ed evitare il contatto dei reagenti e dei campioni con la pelle e le mucose. Se i reagenti o i campioni biologici vengono a contatto con aree sensibili, lavare abbondantemente con acqua.

Per lo smaltimento di eventuali componenti potenzialmente tossici consultare i regolamenti nazionali, regionali o locali.

Ridurre al minimo la contaminazione microbica dei reagenti per evitare un aumento di colorazione aspecifica. Tempi o temperature di incubazione diversi da quelli specificati possono fornire risultati erranei. Ogni eventuale modifica deve essere validata dall'utente.

In caso di incidente grave in relazione al prodotto, l'utente deve segnalare l'incidente al produttore e all'autorità competente dello Stato membro in cui è stabilito l'utente.

L'immunocistochemica è un processo diagnostico a fasi multiple che richiede una formazione specialistica per la scelta dei reagenti adeguati; per la scelta di tessuti, fissazione e trattamento; per la preparazione del vetrino IHC e l'interpretazione dei risultati della colorazione.

La colorazione del tessuto dipende dalla manipolazione e dal trattamento del tessuto precedenti alla colorazione. Fissazione errata, congelamento, scongelamento, lavaggio, asciugatura, riscaldamento, sezionamento o contaminazione con altri tessuti o fluidi possono produrre artefatti, l'intrappolamento dell'anticorpo o risultati falsi negativi. I risultati incoerenti possono essere imputabili a variazioni nella fissazione, ai metodi di inclusione o a irregolarità inerenti al tessuto.⁸

Una controcolorazione eccessiva o incompleta può compromettere la corretta interpretazione dei risultati.

L'interpretazione clinica di un'eventuale colorazione o della sua assenza deve avvalersi di studi morfologici e di opportuni controlli ed essere effettuata da patologi qualificati, nel contesto dell'anamnesi clinica del paziente e di altri test diagnostici.

Novolink Polymer Detection Systems e i loro componenti sono destinati all'uso su sezioni incluse in paraffina con specifici requisiti di fissazione. Potrebbe verificarsi l'espressione inattesa dell'antigene, specialmente nei neoplasmi. L'interpretazione clinica di ogni sezione tissutale colorata va integrata da studi morfologici e dalla valutazione di controlli appropriati.

Istruzioni per l'uso

Prima di applicare questa metodologia, gli utenti devono apprendere le tecniche di immunocistochemica.

Tutte le fasi devono essere seguite come indicato o le prestazioni potrebbero essere compromesse.

La combinazione dell'anticorpo primario, la sua diluizione e il sistema di rilevazione devono essere convalidati dall'utente su una serie di controlli positivi e negativi noti.

Se non indicato, tutte le fasi vengono eseguite a temperatura ambiente (25 °C).

Per l'uso su tessuto congelato, tagliare sezioni e fissare secondo le raccomandazioni per l'anticorpo primario, dal punto 11.

1. Tagliare e montare le sezioni su vetrini rivestiti con un adesivo per tessuto adatto.
2. De-paraffinizzare le sezioni in xilene o sostituti dello xilene.
3. Reidratare attraverso alcoli a gradazione.
4. Lavare i vetrini in acqua corrente.
5. Eseguire lo smascheramento dell'antigene come richiesto (vedere le **Istruzioni per l'uso** dell'anticorpo primario).
6. Lavare i vetrini in acqua deionizzata.

7. Neutralizzare la perossidasi endogena usando Peroxidase Block per 5 minuti.
8. Lavare in TBS per 2 x 5 minuti.
9. Incubare con Protein Block per 5 minuti.
10. Lavare in TBS per 2 x 5 minuti.
11. Incubare con l'anticorpo primario diluito in modo ottimale (vedere le **Istruzioni per l'uso** dell'anticorpo primario).
12. Lavare in TBS per 2 x 5 minuti.
13. Incubare con Post Primary per 30 minuti.
14. Lavare in TBS per 2 x 5 minuti.
15. Incubare con Novolink Polymer per 30 minuti.
16. Lavare in TBS per 2 x 5 minuti mediante delicate oscillazioni.
17. Sviluppare l'attività della perossidasi con la soluzione di lavoro DAB (vedere Soluzione di lavoro DAB) per 5 minuti.
18. Risciacquare i vetrini in acqua.
19. Controcolorare con Hematoxylin.
20. Risciacquare i vetrini in acqua per 5 minuti.
21. Disidratare, pulire e montare le sezioni.

Soluzione di lavoro DAB

Aggiungere 50 µl di DAB Chromogen a 1 ml di Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Utilizzare entro sei ore dalla preparazione.

Caratteristiche prestazionali

Le performance di Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer e Novolink DAB (Polymer) sono state validate utilizzando una gamma di anticorpi primari Novocastra IgG di topo, IgM* di topo e IgG di coniglio.

*La colorazione debole può essere osservata con alcuni anticorpi di isotipo IgM.

Questi prodotti sono stabili fino alle date di scadenza stampate sull'etichetta del prodotto.

Bibliografia

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. *Pathology International*. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. *Current Diagnostic Pathology*. 2001; 7:161–167.
8. 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. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.

Proprietà intellettuale

Copyright © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Tutti i diritti riservati. LEICA e il logo Leica sono marchi registrati di Leica Microsystems IR GmbH negli USA e in diversi altri Paesi. BOND e Novocastra sono marchi registrati del gruppo di aziende Leica Biosystems negli USA e facoltativamente in altri Paesi.

Modifica della cronologia

Revisione: Data di pubblicazione	Dettagli della revisione
6 Maggio 2021	<p>Uso previsto: Aggiornamento dell'Uso previsto del dispositivo, in conformità al REGOLAMENTO (UE) 2017/746 Capitolo III 20.4.1.</p> <p>Materiali necessari ma non forniti: Aggiornato per elencare i materiali.</p> <p>Precauzioni e limitazioni specifiche del prodotto: Modifica del titolo della sezione.</p> <p>Proprietà intellettuale: Aggiunta di una nuova sezione "Proprietà intellettuale".</p> <p>Modifiche alla cronologia: Aggiunta di una nuova sezione "Modifica della cronologia".</p>

Revisione/Data di emissione

6 Maggio 2021

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Produkt-Nr.: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Produkt-Nr.: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Produkt-Nr.: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Produkt-Nr.: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Produkt-Nr.: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Produkt-Nr.: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Produkt-Nr.: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Produkt-Nr.: RE7230-K

Nur für die professionelle Anwendung

Verwendungszweck

Für *In-vitro*-Diagnostik.

Novolink Polymer Detection Systems sind für die Darstellung von Primärantikörpern gegen Maus-IgG, Maus-IgM und Kaninchen-IgG bestimmt. Sie sind zur Target-Visualisierung durch manuelle Verfahren der Immunhistochemie (IHC) in formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten Gewebeschnitten vorgesehen. Novolink Polymer und Novolink DAB (Polymer) sind Komponentenreagenzien dieser Systeme. Die klinische Interpretation jeglicher Färbungen oder das Ausbleiben dieser sollte durch morphologische Studien und Anwendung geeigneter Kontrollen ergänzt und unter Berücksichtigung der klinischen Vorgeschichte des Patienten sowie im Rahmen anderer diagnostischer Tests durch einen qualifizierten Pathologen bewertet werden.

Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer und Novolink DAB (Polymer) sind für die Verwendung mit anderen Geräten zur Visualisierung von Färbungen vorgesehen und bieten als solches eine qualitative und semi-quantitative Diagnosefunktion, einschließlich der spezifischen Krankheitsindikation. Die dem Verwendungszweck entsprechende Population ist auf dem für dieses Gerät erforderlichen zugehörigen Geräteetikett beschrieben.

Testprinzip

Die erste Immunperoxidasetechnik wurde von Nakane und Pierce beschrieben.¹ Seither führten etliche Weiterentwicklungen zu einer höheren Sensitivität gegenüber früheren Techniken. Eine seit kurzem eingesetzte Technik ist die Polymermarkierung. Diese Technologie wird sowohl auf Primärantikörper² als auch auf Detektionssysteme angewendet. Die Novolink Polymer Detection Systems nutzen eine neuartige Technologie aus dem Bereich der kontrollierten Polymerisierung zur Herstellung polymerer HRP-Linker-Antikörperkonjugate. Daher tritt das Problem einer unspezifischen Färbung, das man von Streptavidin-Biotin-Nachweissystemen aufgrund des endogenen Biotins kennt, nicht auf.

Diese Produkte werden in einem immunhistochemischen (IHC) Verfahren eingesetzt, das die lichtmikroskopische qualitative Bestimmung von Antigenen in formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten Gewebeschnitten in aufeinanderfolgenden Schritten mit Zwischwaschschritten ermöglicht. Sofern der Primärantikörper dies erfordert, werden die Schnitte vor der Färbung einer Epitopdemaskierung unterzogen. Die endogene Peroxidase-Aktivität wird mit dem Peroxidase Block neutralisiert. Anschließend wird der Novocastra Protein Block angewendet, um die unspezifische Bindung von Primärantikörpern und Polymer zu reduzieren. Anschließend wird der Schnitt mit einem optimal verdünnten Primärantikörper inkubiert. Post Primary (Kaninchen-anti-Maus-IgG) wird dann zum Nachweis von Maus-Antikörpern verwendet. Das Novolink Polymer erkennt Kaninchen-Immunglobuline und weist die postprimären Antikörper und alle gewebegebundenen Kaninchen-Primärantikörper nach. Die Schnitte werden mit dem Substrat/Chromogen (3,3'-Diaminobenzidin (DAB) inkubiert, das aus dem DAB Chromogen und dem Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) wie unten beschrieben hergestellt wird. Durch die Reaktion mit der Peroxidase entsteht ein sichtbares braunes Präzipitat an der Antigenstelle. Die Schnitte werden mit Hematoxylin gegengefärbt und mit einem Deckglas versehen. Die Ergebnisse werden mithilfe eines Lichtmikroskops interpretiert und unterstützen die Differentialdiagnose pathophysiologischer Prozesse, die mit einem bestimmten Antigen assoziiert sein könnten.

Beschreibung der Reagenz

Welche Reagenzien aus der hier folgenden Liste in den einzelnen Produkten enthalten sind, ist in der nachstehenden Tabelle angegeben.

1. Peroxidase Block. 3–4% (v/v) Wasserstoffperoxid.
2. Protein Block. 0,4% Casein in phosphatgepufferter Salzlösung, mit Stabilisatoren, Tensid und 0,2% Bronidox L als Konservierungsmittel.
3. Post Primary. Kaninchen-Anti-Maus-IgG (<10 µg/ml) mit 10% (v/v) tierischem Serum in trisgepufferter physiologischer Salzlösung/0,1% ProCin™ 950.
4. Novolink Polymer. Anti-Kaninchen-Poly-HRP-IgG (<25 µg/ml) mit 10% (v/v) tierischem Serum in trisgepufferter Salzlösung/0,1% ProCin™ 950.

Reagenzien	Produktnummer	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Reagenzien	Produktnummer	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

5. DAB Chromogen. 1,74% w/v 3,3' - diaminobenzidin, in einer Stabilisatorlösung.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Gepufferte Lösung mit $\leq 0,1\%$ Wasserstoffperoxid und Konservierungsmittel.
7. Hematoxylin. $<0,1\%$ Hämatoxylin.

Rekonstitution, Mischen, Verdünnung, Titration

Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer und Hematoxylin sind vorverdünnt. Die Rekonstitution, das Mischen, die Verdünnung oder Titration dieser Reagenzien wird nicht empfohlen. Eine stärkere Verdünnung kann zu einem Verlust der Antigenfärbung führen. Der Anwender muss alle derartigen Änderungen selbst validieren.

Das DAB Chromogen muss vor Gebrauch in Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) auf 1:20 verdünnt werden. Eine stärkere Verdünnung kann zu einem Verlust der Antigenfärbung führen. Der Anwender muss alle derartigen Änderungen selbst validieren.

Erforderliche, jedoch nicht mitgelieferte Materialien

In der Immunhistochemie verwendete Standardlösungsmittel.

50 mM trisgepufferte Salzlösung (TBS) pH 7,6.

Antigendemaskierungslösung(en).

Enzymdemaskierungslösung(en).

Antikörper-Verdünnungsmittel.

Primärantikörper.

Eindeckmedium.

Erforderliche Instrumente für die Antigendemaskierung, falls für den Primärantikörper empfohlen.

Allgemeine Laborinstrumente für die Immunhistochemie.

Lagerung und Stabilität

Bei 2–8 °C lagern. Nicht einfrieren. Nach dem Gebrauch sofort wieder bei 2–8 °C lagern. Nach Ablauf des auf dem Produktetikett angegebenen Ablaufdatums nicht mehr verwenden. Lagerbedingungen, die von den genannten Bedingungen abweichen, müssen vom Anwender verifiziert werden. Es gibt keine eindeutigen Anzeichen, die auf eine Instabilität dieses Produkts hinweisen. Aus diesem Grund sollten zeitgleich positive und negative Kontrollen mit Patientenproben durchgeführt werden.

Probenvorbereitung

Das empfohlene Fixiermittel ist 10% iges neutral gepuffertes Formalin für in Paraffin eingebettete Gewebeschnitte.

Vorsichtsmaßnahmen und produktspezifische Einschränkungen

Ein Material Sicherheits-Datenblatt steht auf Anfrage oder unter folgender Adresse zur Verfügung: LeicaBiosystems.com

Reagenzien unterschiedlicher Detektionssysteme dürfen nicht vermischt werden.

Proben vor und nach der Fixierung und alle mit ihnen in Kontakt kommenden Materialien sind wie infektiöses Material zu behandeln und mit den entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen zu entsorgen.⁴

Reagenzien dürfen unter keinen Umständen mit dem Mund pipettiert werden, und der Kontakt von Haut und Schleimhäuten mit Reagenzien und Proben ist zu vermeiden. Falls Reagenzien oder Proben mit empfindlichen Bereichen in Kontakt gekommen sind, müssen diese mit reichlich Wasser gespült werden.

Hinsichtlich der Entsorgung potenziell giftiger Komponenten muss auf die jeweils geltenden Bestimmungen Bezug genommen werden.

Die mikrobielle Verunreinigung von Reagenzien ist zu minimieren, da ansonsten eine erhöhte nichtspezifische Färbung auftreten kann. Eine von den angegebenen Spezifikationen abweichende Inkubationszeit oder Temperatur kann zu fehlerhaften Resultaten führen. Alle derartigen Änderungen müssen vom Anwender validiert werden.

Sollte ein schwerwiegender Vorfall im Zusammenhang mit dem Produkt auftreten, muss der Benutzer diesen Vorfall dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedsstaates melden, in dem der Benutzer seine Niederlassung hat.

Die Immunhistochemie ist ein mehrstufiges Diagnoseverfahren, das aus einer speziellen Schulung in der Auswahl der entsprechenden Reagenzien, der Auswahl, Fixierung und Bearbeitung von Gewebe, der Vorbereitung der IHC-Objektträger und der Interpretation der Färberegebnisse besteht.

Die Gewebefärbung setzt eine sachgemäße Vorbereitung und Bearbeitung des Gewebes voraus. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erwärmen, Anfertigen eines Schnitts oder eine Kontamination mit anderen Geweben oder Flüssigkeiten kann zu Artefakten, Antikörper-Trapping oder falsch-negativen Ergebnissen führen. Uneinheitliche Ergebnisse können auf Variationen bei Fixierung und Einbettmethoden oder auf inhärente Unregelmäßigkeiten innerhalb des Gewebes zurückzuführen sein.⁸

Übermäßige oder unvollständige Gegenfärbung kann eine entsprechende Interpretation der Ergebnisse erschweren.

Die klinische Einordnung der Färbung bzw. ihres Fehlens sollte durch morphologische Untersuchungen samt entsprechenden Kontrollen abgerundet und unter Berücksichtigung der klinischen Vorgeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

Novolink Polymer Detection Systems und ihre Komponenten sind für die Verwendung bei in Paraffin eingebetteten Schnitten mit spezifischen Fixierungsanforderungen bestimmt. Unerwartete Antigenexpression kann, insbesondere in Neoplasmen, auftreten. Die klinische Interpretation von gefärbten Gewebeschnitten muss in jedem Fall eine morphologische Analyse und die Beurteilung entsprechender Kontrollen beinhalten.

Gebrauchsanweisung

Vor dem Einsatz dieser Methodik müssen die Anwender in immunhistochemischen Methoden geschult werden.

Alle Schritte müssen wie vorgeschrieben durchgeführt werden, da sonst die Leistung beeinträchtigt werden kann.

Die Kombination aus dem Primärantikörper und seiner Verdünnung in Verbindung mit dem Detektionssystem sollte vom Anwender mithilfe einer Reihe bekannter positiver und negativer Kontrollen validiert werden.

Sofern nicht anders angegeben, sind alle Schritte bei Raumtemperatur durchzuführen (25 °C).

Die Schnitte zur Verwendung auf gefrorenem Gewebe zuschneiden und gemäß den Empfehlungen für Primärantikörper fixieren, wobei mit Schritt 11 begonnen wird.

1. Die Schnitte zuschneiden und die mit einem geeigneten Gewebekleber beschichteten Objektträger mit den Schnitten eindecken.
2. Die Schnitte in Xylol oder Xylol-Ersatzstoffen entparaffinieren.
3. Durch abgestufte Alkohole rehydrieren.
4. Objektträger unter fließendem Leitungswasser spülen.
5. Nach Bedarf Antigendemaskierung durchführen (siehe **Gebrauchsanweisung** für Primärantikörper).
6. Die Objektträger mit entionisiertem Wasser abspülen.
7. Die endogene Peroxidase mit dem Peroxidase Block für 5 Minuten neutralisieren.
8. 2 X 5 Minuten in TBS waschen.
9. 5 Minuten lang mit dem Protein Block inkubieren.
10. 2 X 5 Minuten in TBS waschen.
11. Mit optimal verdünntem Primärantikörper inkubieren (siehe **Gebrauchsanweisung** für Primärantikörper).
12. 2 X 5 Minuten in TBS waschen.
13. 30 Minuten lang mit dem Post Primary inkubieren.
14. 2 X 5 Minuten in TBS waschen.
15. 30 Minuten lang mit dem Novolink Polymer inkubieren.
16. 2 X 5 Minuten unter leichtem Hin- und Herschwenken in TBS waschen.
17. Die Peroxidase-Aktivität mit DAB-Arbeitslösung (siehe DAB Working Solution) 5 Minuten lang entwickeln.
18. Objektträger mit Wasser abspülen.
19. Mit Hematoxylin gegenfärben.
20. Objektträger 5 Minuten lang behutsam mit Wasser abspülen.
21. Dehydrieren und klären Sie die Schnitte und versehen Sie sie mit Deckgläsern.

DAB Working Solution

50 µl DAB Chromogen zu 1 ml Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) zugeben. Innerhalb von sechs Stunden nach der Vorbereitung verwenden.

Leistungsmerkmale

Die Leistung von Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer und Novolink DAB (Polymer) wurde mit einer Reihe von Maus-IgG-, Maus-IgM⁻- und Kaninchen-IgG-Primärantikörpern von Novocastra validiert.

*Bei einigen Antikörpern des IgM-Isotyps kann eine schwache Färbung auftreten.

Diese Produkte sind bis zu dem auf ihrem Etikett aufgedruckten Ablaufdatum haltbar.

Bibliographie

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. Pathology International. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. Current Diagnostic Pathology. 2001; 7:161–167.
8. 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. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.

Geistiges Eigentum

Copyright © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Alle Rechte vorbehalten. LEICA und das Leica-Logo sind eingetragene Marken von Leica Microsystems IR GmbH in den USA und vielen anderen Ländern. BOND und Novocastra sind eingetragene Marken der Leica Biosystems Unternehmensgruppen in den USA und wahlweise in anderen Ländern.

Änderungshistorie

Revision: Ausgabedatum	Änderungsdetail
06 May 2021	<p>Verwendungszweck: Aktualisierung des Verwendungszwecks des Geräts gemäß RICHTLINIE (EU) 2017/746, Kapitel III 20.4.1.</p> <p>Erforderliche, jedoch nicht mitgelieferte Materialien: Aktualisierung der Materialliste.</p> <p>Vorsichtsmaßnahmen und produktspezifische Einschränkungen: Änderung an der Kapitelüberschrift.</p> <p>Geistiges Eigentum: Hinzufügen eines neuen Kapitels mit der Überschrift „Geistiges Eigentum“.</p> <p>Änderungshistorie: Hinzufügen eines neuen Kapitels mit der Überschrift „Änderungshistorie“.</p>

Überarbeitung/Ausgabedatum

06 May 2021

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

N.º de producto RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

N.º de producto RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

N.º de producto RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

N.º de producto RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

N.º de producto RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

N.º de producto RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

N.º de producto RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

N.º de producto RE7230-K

De uso estrictamente profesional

Uso previsto

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Los Novolink Polymer Detection Systems se utilizan para la visualización de anticuerpos primarios de IgG de ratón, IgM de ratón e IgG de conejo. Están previstos para la visualización meta mediante inmunohistoquímica (IHC) en cortes de tejido fijado en formalina e incluido en parafina. Novolink Polymer y Novolink DAB (Polymer) son componentes reactivos de estos sistemas.

La interpretación clínica de toda tinción o de su ausencia deberá complementarse con estudios morfológicos que utilicen los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado deberá realizar su evaluación dentro del contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer y Novolink DAB (Polymer) han sido diseñados para utilizarse con otros dispositivos con el objetivo de visualizar la tinción, por lo tanto, en el etiquetado del dispositivo asociado, se describe la función cualitativa o semicuantitativa de diagnóstico, incluida la indicación específica de la enfermedad y la población de uso previsto, según lo requerido para dicho dispositivo.

Principio de prueba

La primera técnica de inmunohistoperoxidasa fue descrita por Nakane y Pierce¹, y desde son muchos los desarrollos que han dado lugar a una sensibilidad aumentada con respecto a técnicas anteriores. Un reciente avance ha sido el uso del etiquetado polimérico. Esta tecnología se ha aplicado en anticuerpos primarios² y sistemas de detección. Los Novolink Polymer Detection Systems utilizan una novedosa tecnología de polimerización controlada para preparar conjugados de anticuerpos poliméricos de enlace de HRP. Por ello, no se produce el problema de la tinción no específica que puede aparecer con los sistemas de detección de estreptavidina/biotina debido a la biotina endógena.

Estos productos se utilizan en un procedimiento inmunohistoquímico (IHC) que permite la identificación cualitativa mediante microscopía óptica de epítomos en cortes de tejido fijado en formalina e incluido en parafina, mediante pasos secuenciales con pasos de lavado interpuestos. Si el anticuerpo primario lo necesitara, las secciones están sujetas a la recuperación del epítipo previa a la tinción. La actividad endógena de la peroxidasa se neutraliza utilizando el Peroxidase Block. A continuación, se aplica el Novocastra Protein Block para reducir la unión no específica de los anticuerpos primarios y el polímero. La sección se incuba posteriormente con anticuerpos primarios diluidos de forma óptima. A continuación se utiliza Post Primary (IgG de conejo anti-ratón) para detectar anticuerpos de ratón. El Novolink Polymer reconoce inmunoglobulinas de conejo, detecta Post Primary y cualquier anticuerpo primario de conejo unido a tejidos. Se continúa incubando los cortes con el sustrato/cromógeno 3,3' - diaminobencidina (DAB), preparado a partir del DAB Chromogen y Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer), tal como se describe a continuación. La reacción con la peroxidasa produce un precipitado marrón visible en el sitio del antígeno. Los cortes se someten a contratinción con Hematoxylin y se cubren. Los resultados se interpretan utilizando un microscopio óptico y ayudan en el diagnóstico diferencial de los procesos patofisiológicos, que pueden o no asociarse con un antígeno particular.

Descripción del reactivo

En la siguiente tabla se detallan los reactivos de la siguiente lista que se suministran en cada producto.

1. Peroxidase Block. Contiene peróxido de hidrógeno (v/v) al 3–4%.
2. Protein Block. 0,4% de caseína en solución salina amortiguada en fosfato, con estabilizadores, surfactante y un 0,2% de Bronidox L como conservante.
3. Post Primary. IgG de conejo anti-ratón (<10 µg/ml) en suero animal al 10% (v/v) en solución salina tamponada de tris y ProClin™ 950 al 0,1%.

Reactivos	Número de producto	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Reactivos	Número de producto	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

4. Novolink Polymer. Poly-HRP-IgG anti-conejo (<25 µg/ml) que contiene suero animal al 10% (v/v) en solución salina tamponada con tris y ProClin™ 950 al 0,1%
5. Cromógeno DAB. 1,74% p/v 3,3' - diaminobencidina, en solución estabilizadora.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Solución tamponada que contiene ≤0,1% de peróxido de hidrógeno y conservantes.
7. Hematoxylin. <0,1% hematoxylin.

Reconstitución, Mezcla, Dilución, Titulación

Los Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer y Hematoxylin están prediluidos. No se recomienda la reconstitución, mezcla, dilución ni titulación de estos reactivos. Una mayor dilución podría resultar en la pérdida de tinción del antígeno. El usuario debe validar este tipo de cambios.

DAB Chromogen requiere una dilución de 1/20 en Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) antes de su uso. Una mayor dilución podría resultar en la pérdida de tinción del antígeno. El usuario debe validar este tipo de cambios.

Materiales necesarios pero no suministrados

Disolventes estándar utilizados en inmunohistoquímica.

Solución salina tamponada de Tris (TBS) con pH 7.6 de 50 mM.

Solución(es) de recuperación de antígenos.

Solución(es) de recuperación de enzimas.

Diluyente de anticuerpo.

Anticuerpo primario.

Medio de montaje.

Equipo requerido para la recuperación del antígeno, si se recomienda para el anticuerpo primario.

Equipo de laboratorio de inmunohistoquímica general.

Almacenamiento y estabilidad

Almacenar a una temperatura de 2–8 °C. No congelar. Devolver a 2–8 °C inmediatamente después de su uso. No utilizar después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del producto. Las condiciones de almacenamiento distintas a las especificadas deberán ser verificadas por el usuario. No hay signos claros que indiquen inestabilidad en este producto. Por ello, deberán efectuarse controles positivos y negativos simultáneos con muestras de pacientes.

Preparación de preparaciones

El fijador recomendado para secciones de tejido embebidas en parafina es formol tamponado neutro al 10%.

Precauciones y limitaciones específicas del producto

Existe una ficha de datos de seguridad de los materiales disponible previa petición, o en LeicaBiosystems.com

No mezcle reactivos de distintos sistemas de detección.

Las preparaciones, antes y después de ser fijadas, y todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como sustancias capaces de transmitir infecciones y eliminarse tomando las precauciones adecuadas⁴.

Nunca pipeteo los reactivos con la boca y evite el contacto de los reactivos y de las muestras con la piel y las membranas de la mucosa. Si los reactivos o las preparaciones entran en contacto con zonas delicadas, lávelas con abundante agua.

Consulte la normativa pertinente sobre la eliminación de componentes potencialmente tóxicos.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción inespecífica. Los tiempos de incubación y las temperaturas diferentes de las especificadas pueden dar lugar a resultados erróneos. Cualquiera de estos cambios debe ser validado por el usuario.

En caso de que se produzca un incidente grave relacionado con el producto, el usuario informará del incidente al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro donde se encuentre el usuario.

La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjetos para IHC, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de tejidos varía en función de la manipulación y el procesamiento del tejido antes de su tinción. Una inapropiada fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento, sección o la contaminación con otros tejidos o fluidos puede generar artefactos, captura de anticuerpos o resultados de falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden deberse a variaciones en los métodos de fijación e inclusión o a irregularidades inherentes del tejido.⁸

Una contratinción excesiva o incompleta puede influir negativamente en la correcta interpretación de los resultados.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de la ausencia de esta debe complementarse con estudios morfológicos usando controles adecuados y debe evaluarla un patólogo cualificado junto con el historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Novolink Polymer Detection Systems y sus componentes son para su uso en cortes embebidos en parafina con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñido debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles adecuados.

Instrucciones de uso

Antes de utilizar esta metodología, los usuarios deben recibir una completa formación en técnicas inmunohistoquímicas.

Deben seguirse todos los pasos tal como se indica o el rendimiento podría verse afectado.

La combinación del anticuerpo primario, su dilución, junto con el sistema de detección, deberán ser validados por el usuario en una serie de controles positivos y negativos conocidos.

Salvo que se indique lo contrario, todos los pasos se realizan a temperatura ambiente (25 °C).

Para utilizar en tejido congelado, cortar las secciones y fijar según las recomendaciones para el anticuerpo primario, empezar por el paso 11.

1. Copiar y montar las secciones en los portaobjetos con un adhesivo apto para tejidos.
2. Desparafinar las secciones en xileno o sustitutos de xileno.
3. Rehidratar mediante alcoholes con grado.
4. Lavar los portaobjetos con agua corriente en circulación.
5. Realizar la recuperación del antígeno según sea necesario (consultar las **Instrucciones de uso** para el anticuerpo primario).
6. Lavar los portaobjetos con agua desionizada.
7. Neutralizar la peroxidasa endógena utilizando Peroxidase Block durante 5 minutos.
8. Lavar en TBS durante 5 minutos dos veces.
9. Incubar con Protein Block durante 5 minutos.
10. Lavar en TBS durante 5 minutos dos veces.
11. Incubar con anticuerpo primario de dilución óptima (consultar **Instrucciones de uso** para anticuerpo primario).
12. Lavar en TBS durante 5 minutos dos veces.
13. Incubar con Post Primary durante 30 minutos.
14. Lavar en TBS durante 5 minutos dos veces.
15. Incubar con Novolink Polymer durante 30 minutos.
16. Lavar en TBS durante 5 minutos dos veces moviéndolo suavemente.
17. Desarrollar actividad de la peroxidasa con una solución de trabajo DAB (consultar la solución de trabajo DAB) durante 5 minutos.
18. Aclarar los portaobjetos en agua.
19. Realizar contratinción con Hematoxylin.
20. Aclare los portaobjetos cuidadosamente con agua durante 5 minutos.
21. Deshidrate, clarifique y monte los cortes de tejido.

Solución de trabajo DAB

Añadir 50 µl de DAB Chromogen en 1 ml de Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Utilizar antes de que transcurran 6 horas desde la preparación.

Características del rendimiento

El rendimiento de Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer y Novolink DAB (Polymer) ha sido validado utilizando una gama de anticuerpos primarios IgG de ratón Novocastra, IgM de ratón e IgG de conejo.

*La tinción débil puede verse en algunos antígenos de isotipo IgM.

Estos productos son estables hasta su fecha de caducidad, impresa en la etiqueta del producto.

Bibliografía

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. *Pathology International*. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. *Current Diagnostic Pathology*. 2001; 7:161–167.
8. 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. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.

Propiedad intelectual

Copyright © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Todos los derechos reservados. LEICA y el logotipo de Leica son marcas comerciales registradas de Leica Microsystems IR GmbH en los Estados Unidos y en muchos otros países. BOND y Novocastra son marcas registradas del grupo de empresas Leica Biosystems en los Estados Unidos y, opcionalmente, en otros países.

Historial de cambios

Revisión: Fecha de publicación	Detalle de la revisión
6 de Mayo de 2021	<p>Uso previsto: Actualización del uso previsto del dispositivo de acuerdo con la REGULACIÓN (EU) 2017/746, Capítulo III 20.4.1.</p> <p>Materiales necesarios pero no suministrados: Se actualizó para incluir los materiales.</p> <p>Precauciones y limitaciones específicas del producto: Cambio en el título de la sección.</p> <p>Propiedad intelectual: Se agregó la nueva sección "Propiedad intelectual".</p> <p>Historial de cambios: Se agregó la nueva sección "Historial de cambios".</p>

Revisión/Fecha de publicación

6 de Mayo de 2021

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Produto N.º: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Produto N.º: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Produto N.º: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Produto N.º: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Produto N.º: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Produto N.º: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Produto N.º: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Produto N.º: RE7230-K

Apenas para utilização profissional

Finalidade prevista

Para uso em diagnóstico *in vitro*.

O produto Novolink Polymer Detection Systems é utilizado para a visualização de anticorpos primários de IgG de rato, IgM de rato e IgG de coelho. Destina-se à visualização alvo por imunohistoquímica manual (IHC) em secções impregnadas em parafina e fixadas em formol. Novolink Polymer e Novolink DAB (Polymer) são componentes reagentes destes sistemas.

A interpretação clínica de qualquer coloração, ou da sua ausência, deve ser complementada por estudos morfológicos e os devidos controlos, avaliando-se no contexto do historial clínico do doente e de outros exames de diagnóstico por um patologista qualificado. Os produtos Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer e Novolink DAB (Polymer) destinam-se a ser utilizados com outros dispositivos de coloração e, como tal, a função de diagnóstico qualitativo ou semiquantitativo, incluindo a indicação para doenças específicas e a população de utilização prevista, é descrita nas etiquetas do dispositivo associado conforme necessário para esse dispositivo.

Princípio do teste

A primeira técnica de imunohistoperoxidase foi divulgada por Nakane e Pierce.¹ Desde então, ocorreram vários desenvolvimentos ocorreram que levaram a um aumento da sensibilidade em relação às técnicas anteriores. Um desenvolvimento recente foi o uso do rótulo polimérico. Esta tecnologia foi aplicada a sistemas de anticorpos primários² e de deteção. O produto Novolink Polymer Detection Systems utiliza uma tecnologia nova de polimerização controlada para preparar conjugados de anticorpos de ligador HRP poliméricos. Desta forma, o problema da coloração não específica que pode ocorrer nos sistemas de deteção de deteção com estreptavidina/biotina devido à biotina endógena não ocorre.

Estes produtos são utilizados num procedimento de imunohistoquímica (IHC), que permite a identificação qualitativa por microscopia ótica de antígenos em secções de tecido impregnadas em parafina e fixadas em formol, através de passos sequenciais com passos de lavagem de permeio. Se requerido pelo anticorpo primário, as secções são sujeitas à recuperação de epitopos antes da coloração. A atividade endógena da peroxidase é neutralizada utilizando o Peroxidase Block. Depois, segue-se a aplicação do Novocastra Protein Block para reduzir a ligação não específica de anticorpos primários e polímeros. A secção é posteriormente incubada com anticorpos primários diluídos de forma ótima. O Post Primary (IgG de coelho antirrato) é depois utilizado para detetar anticorpos de rato. O Novolink Polymer identifica imunoglobulinas de coelhos, deteta pós-primários e quaisquer anticorpos primários de coelhos ligados aos tecidos. As secções são ainda incubadas com o substrato/cromogénio, 3,3' - diaminobenzidina (DAB), preparado a partir de DAB Chromogen e Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) como descrito abaixo. A reação com a peroxidase produz um precipitado castanho visível no local do antígeno. As secções passam por um processo de coloração contrastante com Hematoxylin e são cobertas com lamelas. Os resultados são interpretados por meio de um microscópio ótico e ajudam a formular o diagnóstico diferencial de processos fisiopatológicos, os quais podem ou não estar associados a antígenos específicos.

Descrição do reagente

Os detalhes dos reagentes da lista seguinte que são fornecidos em cada produto são apresentados na tabela abaixo.

1. Peroxidase Block. 3–4% (v/v) de peróxido de hidrogénio.
2. Protein Block. 0,4% de Caseína em tampão fosfato salino, com estabilizadores, surfatante, e 0,2% de Bronidox L como conservante.
3. Post Primary. IgG de coelho antirrato (<10 µg/mL) em 10% (v/v) de soro animal em tampão salino de tris/0,1% ProClin™ 950.
4. Novolink Polymer. IgG anticoelho poli-HRP (<25 µg/mL) com 10% (v/v) de soro animal em tampão salino de tris/0,1% ProClin™ 950.
5. DAB Chromogen. 1,74% p/v 3,3' - diaminobenzidina, numa solução estabilizadora.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Solução de tampão com ≤0,1% de peróxido de hidrogénio e conservante.
7. Hematoxylin. <0,1% Hematoxilina.

Reagentes	Número do produto	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Reagentes	Número do produto	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

Reconstituição, Mistura, Diluição, Titulação

Os produtos Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer e Hematoxylin são pré-diluídos. A reconstituição, mistura, diluição ou titulação destes reagentes não é recomendada. Uma diluição adicional pode resultar em perda de coloração de antigénio. O utilizador deve validar qualquer alteração desta natureza.

O DAB Chromogen requer diluição até 1/20 em Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) antes de ser utilizado. Uma diluição adicional pode resultar em perda de coloração de antigénio. O utilizador deve validar qualquer alteração desta natureza.

Materiais necessários mas não fornecidos

Solventes padrão utilizados na imunohistoquímica.

50 mM de tampão salino de tris (TBS) pH 7,6.

Solução(ões) de recuperação de antigénio.

Solução(ões) de recuperação enzimática.

Diluente para anticorpos.

Anticorpos primários.

Meio de montagem.

Equipamento necessário para a recuperação de antigénios, se recomendado para o anticorpo primário.

Equipamento geral de laboratório de imunohistoquímica.

Armazenamento e estabilidade

Armazenar a 2–8 °C. Não congelar. Retomar temperatura de 2–8 °C imediatamente após a utilização. Não utilizar após o prazo de validade indicado no rótulo do produto. As condições de armazenamento que diferem das que foram especificadas devem ser verificadas pelo utilizador. Não há sinais óbvios indicadores de instabilidade deste produto, portanto os controlos positivos e negativos devem ser executados em simultâneo com as amostras do paciente.

Preparação do espécime

O fixador recomendado é formalina tamponada neutra a 10% para secções de tecido impregnadas em parafina.

Precauções e limitações específicas do produto

Encontra-se disponível uma Ficha de Dados de Segurança do Material, mediante pedido ou através do site LeicaBiosystems.com

Não misture reagentes de diferentes sistemas de deteção.

Os espécimes, antes e depois da fixação, bem como todos os materiais expostos a estes, devem ser manuseados como se fossem capazes de transmitir doenças infecciosas e descartados com as devidas precauções.⁴

Nunca pipete reagentes com a boca e evite o contacto da pele e das membranas mucosas com reagentes e espécimes. Caso os reagentes ou os espécimes entrem em contacto com áreas sensíveis, lave com água abundante.

Consulte os regulamentos locais, nacionais ou internacionais relativamente à eliminação de eventuais componentes que possam ser tóxicos.

Minimize a contaminação microbiana dos reagentes, senão poderá ocorrer um aumento da coloração não específica. Períodos de incubação ou temperaturas diferentes dos que foram especificados podem originar resultados erróneos. Qualquer alteração deve ser validada pelo utilizador.

Na ocorrência de um incidente grave associado ao dispositivo, o utilizador deve comunicar o incidente ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro em que o utilizador está estabelecido.

A imuno-histoquímica é um processo de diagnóstico em múltiplas etapas que consta de formação especializada na seleção dos reagentes adequados: seleção, fixação e processamento de tecidos; preparação das lâminas de IHC e interpretação dos resultados da coloração.

A coloração dos tecidos depende do seu manuseamento e processamento antes da coloração. A fixação, congelação, descongelação, lavagem, secagem, aquecimento, seccionamento ou contaminação com outros tecidos ou fluidos podem produzir artefactos, retenção de anticorpos ou resultados falsos negativos. Resultados inconsistentes podem ser provenientes das variações de fixação e dos métodos de impregnação ou de irregularidades inerentes dentro do tecido.⁸

A contracoloração excessiva ou incompleta também pode comprometer a interpretação correta dos resultados.

A interpretação clínica de qualquer coloração, ou da sua ausência, deve ser complementada por estudos morfológicos empregando os devidos controlos e deve ser avaliada por um patologista qualificado, dentro do contexto do historial clínico do doente e de outros testes de diagnóstico.

O produto Novolink Polymer Detection Systems e os seus componentes destinam-se à utilização em secções impregnadas em parafina com requisitos específicos de fixação. Pode ocorrer uma expressão inesperada de antígenos, especialmente em neoplasmas. A interpretação clínica de qualquer secção e de tecido colorido deverá incluir a análise morfológica e a avaliação dos controlos apropriados.

Instruções de utilização

Antes de realizar esta metodologia, os utilizadores devem receber formação em técnicas de imunohistoquímica.

Todos os passos devem ser seguidos conforme indicado, caso contrário, o desempenho pode ser prejudicado.

A combinação do anticorpo primário, da sua diluição, juntamente com o sistema de deteção, deve ser validada pelo utilizador numa série de controlos positivos e negativos conhecidos.

Salvo indicação em contrário, todos os passos deverão ser executados à temperatura ambiente (25 °C).

Para utilização em tecido congelado, corte de secções e fixação de acordo com as recomendações para anticorpos primários, comece no passo 11.

1. Cortar e montar as secções em lâminas revestidas com um adesivo adequado para tecidos.
2. Remover a parafina das secções em xileno ou substitutos de xileno.
3. Hidratar novamente através de álcoois graduados.

4. Lavar as lâminas em água corrente da torneira.
5. Realizar a recuperação de antigénios conforme necessário (consultar as **Instruções de Utilização** para anticorpos primários).
6. Lavar as lâminas em água desionizada.
7. Neutralizar a peroxidase endógena utilizando o Peroxidase Block durante 5 minutos.
8. Lavar utilizando TBS durante 2 x 5 minutos.
9. Incubar com Protein Block durante 5 minutos.
10. Lavar utilizando TBS durante 2 x 5 minutos.
11. Incubar com anticorpos primários diluídos de forma ótima (consultar **Instruções de Utilização** para anticorpos primários).
12. Lavar utilizando TBS durante 2 x 5 minutos.
13. Incubar com Post Primary durante 30 minutos.
14. Lavar utilizando TBS durante 2 x 5 minutos.
15. Incubar com Novolink Polymer durante 30 minutos.
16. Lavar utilizando TBS durante 2 x 5 minutos com ligeira oscilação.
17. Desenvolver a atividade da peroxidase com a solução ativa DAB (consultar Solução Ativa DAB) durante 5 minutos.
18. Lavar as lâminas com água.
19. Efetuar coloração contrastante com Hematoxylin.
20. Lavar as lâminas com água durante 5 minutos.
21. Desidratar, limpe e monte as secções.

Solução Ativa DAB

Adicionar 50 µl de DAB Chromogen a 1 ml de Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Utilizar dentro de seis horas após a preparação.

Características de desempenho

O desempenho dos produtos Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer e Novolink DAB (Polymer) foi validado utilizando uma gama de anticorpos primários Novocastra de IgG de rato, IgM* de rato e IgG de coelho.

*Pode observar-se coloração fraca com alguns anticorpos do isótipo IgM.

Estes produtos são estáveis até ao(s) prazo(s) de validade indicado(s) no rótulo dos produtos.

Bibliografia

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. *Pathology International*. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. *Current Diagnostic Pathology*. 2001; 7:161–167.
8. 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. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.

Propriedade intelectual

Copyright © 2020 Leica Biosystems Imaging, Inc. Todos os direitos reservados. Leica e o logótipo Leica são marcas comerciais registadas da Leica Microsystems IR GmbH nos EUA e noutros países. BOND e Novocastra são marcas comerciais registadas do grupo de empresas Leica Biosystems nos EUA e opcionalmente noutros países.

Histórico de alterações

Revisão: Data de emissão	Detalhe da revisão
06 de Maio de 2021	<p>Finalidade prevista: Atualização da Finalidade prevista do dispositivo, em conformidade com o Capítulo III, 20.4.1, do REGULAMENTO (UE) 2017/746.</p> <p>Materiais necessários mas não fornecidos: Atualização da lista de materiais.</p> <p>Precauções e limitações específicas do produto: Alteração do título da secção.</p> <p>Propriedade intelectual: Adição de nova secção "Propriedade intelectual".</p> <p>Histórico de alterações: Adição de nova secção "Histórico de alterações".</p>

Revisão/Data de emissão

06 de Maio de 2021

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Produktnr: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Produktnr: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Produktnr: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Produktnr: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Produktnr: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Produktnr: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Produktnr: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Produktnr: RE7230-K

Endast för professionell användning

Avsedd användning

För användning inom *in vitro*-diagnostik.

Novolink Polymer Detection Systems används för visualisering av primära antikroppar för mus-IgG, mus-IgM och kanin-IgG. Det är avsett för målvisualisering genom manuell immunhistokemi (IHC) i snitt av formalinfixerad, paraffinbäddad vävnad. Novolink Polymer och Novolink DAB (Polymer) är komponentreagenser i dessa system.

Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras av morfologiska studier och korrekta kontroller bör utvärderas mot bakgrund av patientens kliniska historia och andra diagnostiska tester av en kvalificerad patolog.

Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer och Novolink DAB (Polymer) är avsedda att användas med andra enheter för visualisering av färgning vilket innebär att kvalitativa eller semi-kvantitativa diagnostiska funktioner, såsom specifika sjukdomsindikatorer och avsedda populationer, beskrivs i tillhörande enheters nödvändiga dokumentation.

Testprincip

Den första immunoperoxidas tekniken rapporterades av Nakane och Pierce.¹ Sedan dess har många utvecklingar skett som leder till de immunoperoxidas tekniker som vanligtvis används idag. Den senaste utvecklingen är användningen av polymermärkning. Denna teknik har tillämpats på både primära antikroppar² och detekteringssystem. The Novolink Polymer Detection Systems använder en ny kontrollerad polymerisationsteknik för att framställa polymerade HRP-länk-antikropps konjugat. Därför uppstår inte problemet med icke-specifierad färgning som kan uppstå med Streptavidin/Biotin-detektionssystem på grund av endogent biotin.

Dessa produkter används i en immunhistokemisk (IHC) procedur som möjliggör kvalitativ identifiering genom ljusmikroskopi av antigener i snitt av formalinfixerad, paraffinbäddad vävnad, via sekventiella steg med mellanliggande tvättsteg. Om det krävs av den primära antikroppen, utsätts snitt för epitopåtervinning före färgning. Endogen peroxidaktivitet neutraliseras med hjälp av Peroxidase Block. Detta följs av applicering av Novocastra Protein Block för att minska specifik bindning av primära antikroppar och polymer. Snittet inkuberas därefter med optimalt utspädd primär antikropp. Post Primary (kanin anti mus IgG) används sedan för att detektera musantikroppar. Novolink Polymer känner igen kanin immunoglobuliner, den upptäcker post primary och eventuella vävnadsbundna primära kaninantikroppar. Snittet inkuberas ytterligare med substratet/kromogenen, 3,3' - diaminobensidin (DAB), framställt från DAB Chromogen och Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) enligt beskrivningen nedan. En reaktion med peroxidaset producerar en synlig brun färgning vid antigen stället. Snitten motfärgas med Hematoxylin och läggs på täckglas. Resultaten tolkas med användning av ett ljusmikroskop och underlättar differentialdiagnostiken av patofysiologiska processer, vilka kan men inte behöver vara associerade med ett visst antigen.

Beskrivning av reagens

Detaljer om de reagenser från följande lista som tillhandahålls i varje produkt ges i tabellen nedan.

1. Peroxidase Block. 3–4% (v/v) Vätesuperoxid.
2. Protein Block. 0,4% kasein i fosfatbuffrad koksallösning, med stabilisatorer, ytaktivt ämne och 0,2% Bronidox L som konserveringsmedel.
3. Post Primary. Kanin anti mus-IgG (<10 µg/mL) i 10% (v/v) djurserum i tris-buffrad koksallösning/0,1% ProClin™ 950.
4. Novolink Polymer. Anti kanin Poly-HRP-IgG (<25 µg/mL) innehållande 10% (v/v) djurserum i tris-buffrad koksallösning/0,1% ProClin™ 950.
5. DAB Chromogen. 1,74% w/v 3,3' - diaminobensidin, i en stabilisatorlösning.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Buffrad lösning innehåller ≤0,1% vätesuperoxid och konserveringsmedel.
7. Hematoxylin <0,1% Hematoxylin.

Reagenser	Produkt nummer	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Reagenser	Produkt nummer	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

Beredning, Blandning, Spädning, Titring

Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer och Hematoxylin är förspädda. Bereda, blanda, späda eller titrera dessa lösningar rekommenderas inte. Ytterligare utspädning kan resultera i förlust av antigenfärgning. Användaren måste validera alla sådana ändringar.

DAB Chromogen kräver spädning till 1/20 i Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) före användning. Ytterligare utspädning kan resultera i förlust av antigenfärgning. Användaren måste validera alla sådana ändringar.

Material som behövs men inte medföljer

Standardlösningsmedel som används inom immunhistokemi.

50mM tris-buffrad koksallösning (TBS) pH7.6.

Antigen återvinningslösning(ar).

Enzym återvinningslösning(ar).

Spädningsmedel för antikroppar.

Primär antikropp.

Monteringsmedium.

Utrustning som krävs för antigenåtervinning, om det rekommenderas för den primära antikroppen.

Allmän immunhistokemi laboratorieutrustning.

Lagring och stabilitet

Förvara vid 2–8 °C. Får ej frysas. Återgå till 2–8 °C direkt efter användning. Använd inte efter det utgångsdatum som finns angivet på flaskans etikett. Lagringsförhållanden som skiljer sig från de ovannämnda måste kontrolleras av användaren. Det finns inga uppenbara tecken som tyder på instabiliteten av denna produkt, därför bör positiva och negativa kontroller köras samtidigt med patientprov.

Preparering av provexempel

Rekommenderat fixeringsmedel för paraffininbäddade vävnadssnitt är 10% neutralbuffrat formalin.

Försiktighetsåtgärder och produktspecifika begränsningar

Ett datablad för materialsäkerhet finns tillgängligt på begäran eller från LeicaBiosystems.com

Blanda inte reagens från olika detekteringssystem.

Prover, före och efter fixering, och allt material som exponeras för dem, ska hanteras som om de kan överföra infektion och kastas med lämpliga försiktighetsåtgärder.⁴

Pipettera aldrig reagens genom munnen och undvik att komma i kontakt med huden och slemhinnorna med reagenser och prover. Om reagens eller prover skulle komma i kontakt med känsliga områden bör du tvätta dig med rikliga mängder vatten.

Angående avfallshantering av potentiellt toxiska material hänvisar vi till gällande europeiska, nationella och lokala bestämmelser och förordningar.

Minimera mikrobisk kontaminering av reagens annars kan en ökning av icke-specifierad färgning ske. Återvinning, inkubationstider eller temperaturer som avviker mot de angivna kan ge felaktiga resultat. All sådan ändring måste bekräftas av användaren.

Skulle det ske en allvarig incident kopplad till produkten ska användaren rapportera incidenten till tillverkaren och den behöriga myndigheten i det land där användaren är etablerad.

Immunhistokemi är en diagnostisk process i flera steg som kräver specialiserad utbildning i urvalet av lämpliga reagens, val av vävnad, fixering och bearbetning, förberedelse av IHC-objektglaset samt tolkning av färgningsresultaten.

Vävnadsfärgning påverkas av hantering och bearbetning av vävnaden före färgning. Felaktig fixering, nedfrysning, upptining, tvättning, torkning, uppvärmning, snittning eller kontaminering av andra vävnader eller vätskor kan framställa artefakter, infångande av antikroppar eller falskt negativa resultat. Motsägelsefulla resultat kan bero på variationer av fixerings- och inbäddningsmetoder eller på naturliga oregelbundenheter i vävnaden.⁸

Överflödigt eller ofullständig kontrastfärgning kan försvåra en korrekt tolkning av resultatet.

Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras av morfologiska studier och korrekta kontroller, samt utvärderas mot bakgrund av patientens kliniska historia och andra diagnostiska tester av en kvalificerad patolog.

Novolink Polymer Detection Systems och dess komponenter är för användning på paraffininbäddade snitt med specifika fixeringskrav. Övriga antigenmanifestation kan ske, speciellt i neoplasmer. Morfologisk analys och utvärdering av lämpliga kontroller måste ingå i den kliniska tolkningen av alla färgade vävnadssnitt.

Bruksanvisning

Innan denna metodik används måste användarna utbildas i immunhistokemiska tekniker.

Alla steg måste följas enligt anvisningarna annars kan prestandan försämrats.

Kombinationen av den primära antikroppen, dess utspädning, tillsammans med detekteringssystemet bör valideras av användaren med en serie kända positiva och negativa kontroller.

Om inget annat anges, ska alla steg utföras i rumstemperatur (25 °C).

För användning på frusen vävnad, skär snitt och fixera enligt rekommendationer för primär antikropp, börja vid steg 11.

1. Skär och lägg snitt på objektglas belagda med ett lämpligt vävnadslim.
2. Avparaffinera snitten i xylol eller xylensubstitut.
3. Återfukta genom graderad alkohol.
4. Tvätta objektglasen under rinnande kranvatten.
5. Utför antigenåtervinning efter behov (se **användarinstruktioner** för primär antibody).
6. Tvätta objektglasen i avjoniserat vatten.

7. Neutralisera endogent peroxidas med Peroxidase Block i 5 minuter.
8. Tvätta i TBS i 2 X 5 minuter.
9. Inkubera med Protein Block i 5 minuter.
10. Tvätta i TBS i 2 X 5 minuter.
11. Inkubera med optimalt utspädd primär antikropp (se **användarinstruktioner** för primära antikroppar).
12. Tvätta i TBS i 2 X 5 minuter.
13. Inkubera med Post Primary i 30 minuter.
14. Tvätta i TBS i 2 X 5 minuter.
15. Inkubera med Novolink Polymer i 30 minuter.
16. Tvätta i TBS i 2 X 5 minuter med försiktig gungning.
17. Utveckla peroxidaktivitet med DAB working solution (se DAB Working Solution) i 5 minuter.
18. Skölj objektglasen i vatten.
19. Motfärga med Hematoxylin.
20. Skölj objektglasen i vatten i 5 minuter.
21. Återfukta, rensa och fäst snitten.

DAB Working Solution

Addera 50 µl av DAB Chromogen till 1 ml av Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Använd inom sex timmar efter beredning.

Prestandaegenskaper

Prestandan hos Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer och Novolink DAB (Polymer) har validerats genom att använda en rad av Novocastra mus IgG, mus IgM* och kanin IgG primära antikroppar.

*Svag färgning kan ses med vissa antikroppar av IgM isotyp.

Dessa produkter är stabila fram till det utgångsdatum som anges på produktens etikett.

Bibliografi

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. *Pathology International*. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. *Current Diagnostic Pathology*. 2001; 7:161–167.
8. 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. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.

Immateriella rättigheter

Copyright © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Med ensamrätt. LEICA och Leica-logotypen är registrerade varumärken som tillhör Leica Microsystems IR GmbH i USA och andra länder. BOND och Novocastra är registrerade varumärken som tillhör företagskoncernen Leica Biosystems i USA och eventuellt i andra länder.

Ändringshistorik

Revision: Utgivningsdatum	Revisionsinformation
06 Maj 2021	<p>Avsedd användning: Uppdatering av enhetens avsedda användning, i enlighet med EU-FÖRORDNING 2017/746, kapitel III 20.4.1.</p> <p>Material som behövs men inte medföljer: Uppdatering med lista över material.</p> <p>Försiktighetsåtgärder och produktspecifika begränsningar: Ändring av avsnitsrubrik.</p> <p>Immateriella rättigheter: Lade till nya avsnittet "Immateriella rättigheter".</p> <p>Ändringshistorik: Lade till nya avsnittet "Ändringshistorik".</p>

Revisionsdatum/Utgivningsdatum

06 Maj 2021

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Αριθμός προϊόντος: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Αριθμός προϊόντος: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Αριθμός προϊόντος: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Αριθμός προϊόντος: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Αριθμός προϊόντος: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Αριθμός προϊόντος: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Αριθμός προϊόντος: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Αριθμός προϊόντος: RE7230-K

Για επαγγελματική χρήση μόνο

Προοριζόμενη χρήση

Για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

Τα Novolink Polymer Detection Systems χρησιμοποιούνται για την οπτικοποίηση των πρωτογενών αντισωμάτων IgG ποντικού, IgM ποντικού και IgG κουνελίου. Προορίζονται για οπτικοποίηση στόχου με μη αυτόματη ανοσοϊστοχημία (IHC) σε τμήματα μονιμοποιημένου σε φορμόλη και ενσωματωμένου σε παραφίνη ιστού. Το Novolink Polymer και το Novolink DAB (Polymer) είναι συστατικά αντιδραστήρια αυτών των συστημάτων. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται από μορφολογικές μελέτες και οι κατάλληλοι μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογούνται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολόγο. Το Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer και το Novolink DAB (Polymer) προορίζονται για χρήση με άλλες συσκευές για οπτικοποίηση της χρώσης και επομένως περιγράφεται η ποιοτική ή ημι-ποσοτική διαγνωστική λειτουργία, συμπεριλαμβανομένων ενδείξεων για συγκεκριμένες νόσους, καθώς και ο πληθυσμός για την προοριζόμενη χρήση, εντός της σχετικής επισήμανσης συσκευής, όπως προβλέπεται για τη συγκεκριμένη συσκευή.

Αρχή δοκιμής

Η πρώτη τεχνική ανοσοϊστούπεροξειδάσης αναφέρθηκε από τους Nakane και Pierce¹. Έκτοτε, έχουν συμβεί πολλές εξελίξεις που οδήγησαν σε αυξημένη ευαισθησία σε σχέση με προγενέστερες τεχνικές. Μια πρόσφατη εξέλιξη ήταν η χρήση πολυμερικής σήμανσης. Αυτή η τεχνολογία έχει εφαρμοστεί τόσο σε πρωτογενή αντισώματα² όσο και σε συστήματα ανίχνευσης. Τα Novolink Polymer Detection Systems χρησιμοποιούν τεχνολογία ελεγχόμενου πολυμερισμού για την παρασκευή συζευγμένων αντισωμάτων πολυμερούς με HRP-συνδότη. Επομένως, το πρόβλημα της μη ειδικής χρώσης που μπορεί να προκύψει με τα συστήματα ανίχνευσης στρεπταβιδίνης/βιοτίνης λόγω ενδογενούς βιοτίνης δεν παρουσιάζεται.

Αυτά τα προϊόντα χρησιμοποιούνται σε μια ανοσοϊστοχημική (IHC) διαδικασία, η οποία επιτρέπει την ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπική εξέταση φωτός αντιγόνων σε τμήματα μονιμοποιημένου σε φορμόλη και ενσωματωμένου σε παραφίνη ιστού, μέσω διαδοχικών βημάτων με παρεμβαλλόμενα βήματα πλύσης. Εάν απαιτείται από το πρωτογενές αντίσωμα, τα τμήματα υποβάλλονται σε ανάκτηση επιτόπου πριν από τη χρώση. Η ενδογενής δραστηριότητα υπεροξειδάσης εξουδετερώνεται με τη χρήση του Peroxidase Block. Ακολουθεί εφαρμογή του Novocastra Protein Block για τη μείωση της μη ειδικής δέσμευσης των πρωτογενών αντισωμάτων και του πολυμερούς. Στη συνέχεια, η τομή επωάζεται με βέλπιστα αραιωμένο πρωτογενές αντίσωμα. Στη συνέχεια χρησιμοποιείται το Post Primary (IgG κουνελίου αντί-ποντικού) για την ανίχνευση αντισωμάτων ποντικού. Το Novolink Polymer αναγνωρίζει τις ανοσοσφαιρίνες κουνελίου, ανιχνεύει τα δευτερογενή και τυχόν πρωτογενή αντισώματα κουνελίου δεσμευμένα σε ιστό. Τα τμήματα επωάζονται περαιτέρω με το υπόστρωμα/χρωμογόνο 3,3' - διαμινοβενζιδίνη (DAB) που παρασκευάζεται από DAB Chromogen και Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer), όπως περιγράφεται παρακάτω. Η αντίδραση με την υπεροξειδάση παράγει ένα ορατό καστανό ίζημα στη θέση του αντιγόνου. Τα τμήματα χρωματίζονται για την μεγιστοποίηση αντίθεσης με Hematoxylin και καλύπτονται με καλυπτήριδα. Τα αποτελέσματα ερμηνεύονται με τη χρήση μικροσκοπικού φωτός και βοηθούν στη διαφοροποιήσιμη διάγνωση των παθολογολογικών διαδικασιών, οι οποίες ίσως να σχετίζονται ή και όχι, με ένα συγκεκριμένο αντιγόνο.

Περιγραφή αντιδραστηρίων

Λεπτομέρειες σχετικά με το ποια αντιδραστήρια από την ακόλουθη λίστα παρέχονται σε κάθε προϊόν παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα.

1. Peroxidase Block. 3–4% (o/o) υπεροξειδίου του υδρογόνου.
2. Protein Block. 0,4% καζείνη σε αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών, με σταθεροποιητές, επιφανειοδραστική ουσία και 0,2% Bronidox L ως συντηρητικό.
3. Post Primary. Rabbit anti mouse IgG (<10 μg/mL) σε 10% (o/o) ζωικό ορό σε αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα tris/0,1% ProClin™ 950.
4. Novolink Polymer. Anti-rabbit Poly-HRP-IgG (<25 μg/mL) που περιέχει 10% (o/o) ζωικό ορό σε αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα tris/0,1% ProClin™ 950.
5. DAB Chromogen. 1,74% β/ο 3,3' - διαμινοβενζιδίνη, σε διάλυμα σταθεροποιητή.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει ≤0,1% υπεροξειδίου του υδρογόνου και συντηρητικό.
7. Hematoxylin. <0,1% αιματοξυλίνη.

Αντιδραστήρια	Αριθμός προϊόντος	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Αντιδραστήρια	Αριθμός προϊόντος	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

Ανασύσταση, ανάμειξη, αραιώση, τιτλοποίηση

Τα Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer και Hematoxylin προαραιώνονται. Δεν συνιστάται ανασύσταση, ανάμειξη, αραιώση ή τιτλοποίηση αυτών των αντιδραστηρίων. Η περαιτέρω αραιώση μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια χρώσης αντιγόνου. Ο χρήστης πρέπει να επικυρώσει οποιαδήποτε τέτοια αλλαγή.

Το DAB Chromogen απαιτεί αραιώση 1/20 στο Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) πριν από τη χρήση. Η περαιτέρω αραιώση μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια χρώσης αντιγόνου. Ο χρήστης πρέπει να επικυρώσει οποιαδήποτε τέτοια αλλαγή.

Υλικά που Απαιτούνται Αλλά δεν Παρέχονται

Πρότυποι διαλύτες που χρησιμοποιούνται στην ανοσοϊστοχημεία.

50mM αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα tris (TBS) pH7,6.

Διαλύματα ανάκτησης αντιγόνου(ων).

Διαλύματα ανάκτησης ενζύμου(ων).

Αραιωτικό αντισώματος.

Πρωτογενές αντίσωμα.

Επικαλυπτικό μέσο.

Απαιτείται εξοπλισμός για την ανάκτηση αντιγόνου, εάν συνιστάται για το πρωτογενές αντίσωμα.

Γενικός εργαστηριακός εξοπλισμός ανοσοϊστοχημείας.

Φύλαξη και Σταθερότητα

Φυλάξτε στους 2–8 °C. Μην καταψύχετε. Επαναφέρετε το προϊόν στους 2–8 °C αμέσως μετά τη χρήση. Μην το χρησιμοποιείτε μετά τη λήξη της ημερομηνίας που αναγράφεται στην ετικέτα του προϊόντος. Τυχόν συνθήκες φύλαξης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται πρέπει να επαληθευθούν από τον χρήστη. Δεν υπάρχουν εμφανή σημεία που να υποδηλώνουν αστάθεια αυτού του προϊόντος, επομένως οι θετικοί και αρνητικοί έλεγχοι πρέπει να εκτελούνται ταυτόχρονα με δείγματα ασθενούς.

Προετοιμασία Δείγματος

Το συνιστώμενο σταθεροποιητικό είναι 10% ουδέτερης φορμαλίνης για ενσωματωμένα τμήματα ιστού σε παραφίνη.

Προφυλάξεις και περιορισμοί που αφορούν ειδικά το προϊόν

Το Δελτίο Δεδομένων Ασφαλείας Υλικού διατίθεται κατόπιν αιτήματος ή από τη διεύθυνση LeicaBiosystems.com

Μην αναμιγνύετε αντιδραστήρια από διαφορετικά συστήματα ανίχνευσης.

Τα δείγματα, πριν και μετά τη μονιμοποίηση, και όλα τα υλικά που εκτίθενται σε αυτά, θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως ικανά μετάδοσης λοίμωξης και θα πρέπει να απορρίπτονται λαμβάνοντας κατάλληλες προφυλάξεις.⁴

Μην κάνετε ποτέ αναρρόφηση αντιδραστηρίων με πιπέτα από το στόμα και αποφεύγετε την επαφή του δέρματος και των βλεννογόνων με αντιδραστήρια και δείγματα. Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έλθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφθονες ποσότητες νερού.

Συμβουλευτείτε τους ομοσπονδιακούς, πολιτειακούς ή τοπικούς κανονισμούς για την απόρριψη οποιονδήποτε δυνητικώς τοξικών συστατικών. Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διότι ενδέχεται να συμβεί αύξηση μη ειδικής χρώσης. Χρόνοι ή θερμοκρασίες επώασης διαφορετικές από αυτές που καθορίζονται ενδέχεται να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Οποιαδήποτε παρόμοια αλλαγή πρέπει να επικυρωθεί από τον χρήστη.

Σε περίπτωση σοβαρού περιστατικού σε σχέση με το προϊόν, ο χρήστης οφείλει να αναφέρει το περιστατικό στον κατασκευαστή και την αρμόδια αρχή του Κράτους-Μέλους όπου εδρεύει.

Η Ανοσοϊστοχημεία είναι μία πολυεπίπεδη διαγνωστική διαδικασία που συνίσταται στην εξειδικευμένη εκπαίδευση στην επιλογή των κατάλληλων αντιδραστηρίων, την επιλογή ιστών, σταθεροποίηση και επεξεργασία, την προετοιμασία της διαφάνειας Ανοσοϊστοχημείας (IHC) και την ερμηνεία των αποτελεσμάτων χρώσης.

Η χρώση ιστού εξαρτάται από τον χειρισμό και την επεξεργασία του ιστού πριν τη χρώση. Ακατάλληλη σταθεροποίηση, κατάψυξη, έγχυση, έκπλυση, στέγνωμα, ζέσταμα, διάτμηση ή μόλυνση με άλλους ιστούς ή υγρά ενδέχεται να προκαλέσουν σφάλματα, παγίδευση αντισωμάτων ή ψευδή αρνητικά αποτελέσματα. Μη συνεκτικά αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται σε διαφοροποιήσεις στη σταθεροποίηση και τις ενσωματωμένες μεθόδους, ή σε εγγενείς ανωμαλίες εντός του ιστού.⁸

Υπερβολική ή ατελής χρώση ενδέχεται να θέσει σε κίνδυνο τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται από μορφολογικές μελέτες με τη χρήση κατάλληλων μαρτύρων και θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολόγο.

Τα Novolink Polymer Detection Systems και τα συστατικά τους προορίζονται για χρήση σε ενσωματωμένα σε παραφίνη τμήματα με ειδικές απαιτήσεις μονιμοποίησης. Απρόσμενη εκδήλωση αντίδρασης ενδέχεται να συμβεί, ειδικά σε νεοπλάσματα. Η κλινική ερμηνεία οποιοδήποτε τμήματος επιχρωματισμένου ιστού πρέπει να περιλαμβάνει μορφολογική ανάλυση και την αξιολόγηση των κατάλληλων ελέγχων.

Οδηγίες Χρήσης

Πριν από τη διενέργεια αυτής της μεθοδολογίας, οι χρήστες πρέπει να εκπαιδευθούν σε ανοσοϊστοχημικές τεχνικές.

Όλα τα βήματα πρέπει να ακολουθούνται σύμφωνα με τις οδηγίες, διαφορετικά η απόδοση μπορεί να μειωθεί.

Ο συνδυασμός πρωτογενούς αντισώματος, η αραιώση του, μαζί με το σύστημα ανίχνευσης θα πρέπει να επικυρώνονται από τον χρήστη σε μια σειρά γνωστών θετικών και αρνητικών μαρτύρων.

Εκτός εάν υποδεικνύεται, όλα τα βήματα εκτελούνται σε θερμοκρασία δωματίου (25 °C).

Για χρήση σε κατεψυγμένο ιστό, κόψτε τμήματα και τοποθετήστε τα σύμφωνα με τις συστάσεις για το πρωτογενές αντίσωμα, ξεκινήστε στο βήμα 11.

1. Κόψτε και τοποθετήστε τμήματα σε πλακίδια επικαλυμμένα με κατάλληλο συγκολλητικό ιστό.
2. Αποπαραφινώστε τα τμήματα σε ξυλένιο ή υποκατάστατα ξυλένιο.
3. Ενυδατώστε ξανά με διαβαθμισμένες αλκοόλες.

4. Πλύνετε τα τμήματα σε τρεχούμενο νερό βρύσης.
5. Πραγματοποιήστε ανάκτηση αντιγόνου όπως απαιτείται (βλ. **Οδηγίες χρήσης** για πρωτογενές αντίσωμα).
6. Πλύνετε τα πλακίδια με αποιονισμένο νερό.
7. Εξουδετερώστε την ενδογενή υπεροξειδάση χρησιμοποιώντας το Peroxidase Block για 5 λεπτά.
8. Πλύνετε σε TBS (Αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα tris) για 2 x 5 λεπτά.
9. Πραγματοποιήστε επώαση με το Protein Block για 5 λεπτά.
10. Πλύνετε σε TBS (Αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα tris) για 2 x 5 λεπτά.
11. Πραγματοποιήστε επώαση με βέλτιστα αραιωμένο πρωτογενές αντίσωμα (βλ. **Οδηγίες Χρήσης** για πρωτογενές αντίσωμα).
12. Πλύνετε σε TBS (Αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα tris) για 2 x 5 λεπτά.
13. Πραγματοποιήστε επώαση με το Post Primary για 30 λεπτά.
14. Πλύνετε σε TBS (Αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα tris) για 2 x 5 λεπτά.
15. Πραγματοποιήστε επώαση με το Novolink Polymer για 30 λεπτά.
16. Πλύνετε σε TBS (Αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα tris) για 2 x 5 λεπτά με ήπιο λίκνισμα.
17. Αναπτύξτε δραστηριότητα υπεροξειδάσης με διάλυμα εργασίας DAB (Διαμινοβενζόλης) (βλ. Διάλυμα εργασίας DAB) για 5 λεπτά.
18. Ξεπλύνετε τα πλακίδια με νερό.
19. Πραγματοποιήστε χρώση αντίθεσης με Hematoxylin.
20. Ξεπλύνετε τα πλακίδια με νερό για 5 λεπτά.
21. Αφυδατώστε, καθαρίστε και στερεώστε τα τμήματα.

Διάλυμα εργασίας DAB

Προσθέστε 50 μl DAB Chromogen σε 1 ml Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Χρησιμοποιήστε το εντός έξι ωρών από την παρασκευή.

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Η απόδοση των Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer και Novolink DAB (Polymer) έχει επικυρωθεί με τη χρήση μιας σειράς πρωτογενών αντισωμάτων Novocastra IgG ποντικού, IgM* ποντικού και IgG κουνελιού.

*Μπορεί να παρατηρηθεί ασθενής χρώση με ορισμένα αντισώματα του ισotyπou IgM.

Τα προϊόντα αυτά είναι σταθερά μέχρι τη λήξη των ημερομηνιών που είναι τυπωμένες στις επικέτες των προϊόντων.

Βιβλιογραφία

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. *Pathology International*. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. *Current Diagnostic Pathology*. 2001; 7:161–167.
8. 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. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.

Πνευματική ιδιοκτησία

Copyright © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. Το LEICA και το Λογότυπο Leica είναι σήματα κατατεθέντα της Leica Microsystems IR GmbH στις ΗΠΑ και σε πολλές άλλες χώρες. Το BOND και το Novocastra είναι σήματα κατατεθέντα του ομίλου εταιρειών Leica Biosystems στις ΗΠΑ και προαιρετικά σε άλλες χώρες.

Ιστορικό αλλαγών

Αναθεώρηση: Ημερομηνία έκδοσης	Λεπτομέρειες αναθεώρησης
06 Μαΐου 2021	<p>Προοριζόμενη χρήση: Ενημέρωση της Προοριζόμενης χρήσης της συσκευής, σύμφωνα με τον ΚΑΝΟΝΙΣΜΟ (ΕΕ) 2017/746 Κεφάλαιο III 20.4.1.</p> <p>Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται: Πραγματοποιήθηκε ενημέρωση σε υλικά λίστας.</p> <p>Προφυλάξεις και περιορισμοί που αφορούν ειδικά το προϊόν: Αλλαγή στον τίτλο ενότητας.</p> <p>Πνευματική ιδιοκτησία: Προσθήκη νέας ενότητας «Πνευματική ιδιοκτησία».</p> <p>Ιστορικό αλλαγών: Προσθήκη νέας ενότητας «Ιστορικό αλλαγών».</p>

Αναθεώρηση/Ημερομηνία έκδοσης

06 Μαΐου 2021

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Produktnr.: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Produktnr.: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Produktnr.: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Produktnr.: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Produktnr.: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Produktnr.: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Produktnr.: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Produktnr.: RE7230-K

Kun til professionel brug

Tilsigtet brug

Til *in vitro*-diagnostisk anvendelse.

Novolink Polymer Detection Systems bruges til visualisering af muse-IgG, muse-IgM og kanin-IgG primære antistoffer. De er beregnet til målvisualisering af manuel immunhistokemi (IHC) i formalinfikserede, paraffin-indlejrede vævssnit. Novolink Polymer and Novolink DAB (Polymer) er komponentreagenser i disse systemer.

Den kliniske tolkning af farvning eller fravær deraf skal komplementeres af morfologiske undersøgelser og passende kontroller, og skal bedømmes inden for konteksten af patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests foretaget af en kvalificeret patolog.

Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer og Novolink DAB (Polymer) er beregnet til brug med andet udstyr til visualisering af farvning, og kvalitativ eller semikvalitativ diagnosefunktion inklusive specifik sygdomsindikation og tiltænkt brugspopulation er beskrevet på den relevante udstyrmærkning som påkrævet for det pågældende udstyr.

Testprincip

Den første immunhistooperoxidaseteknik blev rapporteret af Nakane og Pierce.¹ Siden da er der sket en stor udvikling, der har ført til øget følsomhed i forhold til tidligere teknikker. En nylig udvikling har været brugen af polymerisk mærkning. Denne teknologi er blevet anvendt på begge primære antistoffer² og detektionssystemer. Novolink Polymer Detection Systems bruger en ny kontrolleret polymeriseringsteknologi til at forberede polymeriske konjugater til HRP-linkerantistof. Problemet med uspecifik farvning, der kan forekomme med streptavidin/ biotin-detektionssystemer på grund af endogent biotin, opstår derfor ikke.

Disse produkter anvendes i en immunhistokemisk (IHC) procedure, hvilket muliggør kvalitativ identifikation ved lysmikroskopi af antigener i formalinfikserede, paraffin-indlejrede vævssnit via sekventielle trin med indskudte vasketrin. Hvis det kræves af det primære antistof, udføres snit for epitopgenfindning før farvning. Endogen peroxidase-aktivitet er neutraliseret ved hjælp af Peroxidase Block. Dette efterfølges af påføring af Novocastra Protein Block for at reducere uspecifik binding af primære antistoffer og polymer. Snittet inkuberes efterfølgende med optimalt fortyndet primært antistof. Post Primary (kaninanti-mus-IgG) bruges derefter til at påvise museantistoffer. Novolink Polymer genkender kanin-immunglobuliner, detekterer de postprimære og eventuelle vævsbundne kanin-primære antistoffer. Snit inkuberes yderligere med substrat/kromogenet, 3,3' - diaminobenzidin (DAB), der er klargjort fra DAB Chromogen og Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) som beskrevet nedenfor. Reaktion med peroxidasen producerer en synlig brun udfældning på antigenstedet. Snit modfarves med hematoxylin og tildækkes med dækglas. Resultaterne tolkes ved brug af et lysmikroskop og hjælper med at stille en differentialdiagnose af patofysiologiske processer, som kan eller ikke kan være forbundet med et specifikt antigen.

Beskrivelse af reagens

Nærmere oplysninger om de reagenser fra den følgende liste, der er leveret i hvert produkt, er angivet i tabellen nedenfor.

1. Peroxidase Block. 3–4% (v/v) hydrogenperoxid.
2. Protein Block. 0,4% kasein i fosfatbufferet saltopløsning med stabilisatorer, overfladeaktivt stof og 0,2% Bronidox L som konserveringsmiddel.
3. Post Primary. Kaninanti-mus-IgG (< 10 µg/ml) i 10% (v/v) dyreserum i trisbufferet saltopløsning/0,1% ProClin™ 950.
4. Novolink Polymer. Anti-kanin-poly-HRP-IgG (< 25 µg/ml), som indeholder 10% (v/v) dyreserum i trisbufferet saltopløsning/0,1% ProClin™ 950.
5. DAB Chromogen. 1,74% v/v 3,3' - diaminobenzidin i en stabilisatoropløsning.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Bufferopløsning indeholdende ≤ 0,1% hydrogenperoxid og konserveringsmiddel.
7. Hematoxylin. < 0,1% hematoxylin.

Reagenser	Produktnummer	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Reagenser	Produktnummer	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

Rekonstituering, blanding, fortynding, titrering

Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer og Hematoxylin er allerede fortyndede. Rekonstitution, blanding, fortynding eller titrering af disse reagenser anbefales ikke. Yderligere fortynding kan resultere i tab af antigenfarvning. Brugeren skal validere en eventuel sådan ændring.

DAB Chromogen kræver fortynding til 1/20 i Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) inden brug. Yderligere fortynding kan resultere i tab af antigenfarvning. Brugeren skal validere en eventuel sådan ændring.

Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt

Standard opløsningsmidler anvendt i immunhistokemi.

50 mm trisbufferet saltopløsning (TBS) pH 7,6.

Antigenhætningsopløsning(er).

Enzymhætningsopløsning(er).

Antistoffortynder.

Primært antistof.

Monteringsmedie.

Udstyr påkrævet til antigenhætning, hvis det anbefales til det primære antistof.

Almindeligt immunhistokemisk laboratorieudstyr.

Opbevaring og stabilitet

Opbevares ved 2–8 °C. Må ikke nedfryses. Returner til 2–8 °C umiddelbart efter brug. Må ikke anvendes efter udløbsdatoen, der er angivet på produktetiketten. Opbevaringsbetingelser, der er forskellige fra de anførte, skal verificeres af brugeren. Der er ingen tydelige tegn, der viser ustabilitet for dette produkt, og der skal derfor køres positive og negative kontroller samtidigt med patientprøver.

Klargøring af prøver

Det anbefalede fikseringsmiddel er 10% neutralbufferet formalin til paraffin-indlejrede vævssnit.

Forholdsregler og produktspecifikke begrænsninger

Et sikkerhedsdatablad er tilgængeligt på forespørgsel eller tilgængeligt fra LeicaBiosystems.com

Undlad at blande reagenser fra forskellige detektionssystemer.

Prøvematerialer før og efter fiksering, og alle materialer, som er udsat for dem, skal behandles, som om de kan overføre smitte, og bortskaffes efter egnede forholdsregler.⁴

Pipetter aldrig reagenser med munden og undgå, at reagenser og prøver kommer i kontakt med hud og slimhinder. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal der skylles med rigelige mængder vand.

Bortskaffelse af potentielt toksiske komponenter skal ske i henhold til statslig eller lokal lovgivning.

Mikrobiel kontamination af reagenser skal minimeres for at undgå en øget uspecifik farvning. Inkubationstider eller temperaturer, der er anderledes end de anførte, kan medføre fejlagtige resultater. En eventuel sådan ændring skal valideres af brugeren.

Hvis der opstår en alvorlig hændelse i forbindelse med produktet, skal brugeren indberette hændelsen til producenten og den kompetente myndighed i den medlemsstat, hvor brugeren er bosiddende.

Immunhistokemi er en diagnostisk proces i flere trin, der består af specialiseret træning i at vælge passende reagenser, vævsvalg, fiksering og forarbejdning samt præparering af IHC-objektglasset og tolkning af farvningsresultaterne.

Vævsfarvning afhænger af håndteringen og behandlingen af vævet før farvningen. Ukorrekt fastgøring, frysning, optøning, vask, tørring, opvarmning, snitning eller kontaminering med andre væv eller væsker kan frembringe artefakter, antistofindfangning eller falske negative resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes variationer i fikserings- og indlejningsmetoder eller iboende uregelmæssigheder i selve vævet.⁵

Kraftig eller ufuldstændig kontrastfarvning kan påvirke en korrekt tolkning af resultaterne.

Den kliniske tolkning af en eventuel farvning eller fravær heraf skal suppleres med morfologiske undersøgelser ved anvendelse af passende kontroller og skal evalueres af en kvalificeret patolog på baggrund af patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests.

Novolink Polymer Detection Systems er til anvendelse på paraffin-indlejrede snit med specifikke fikseringskrav. Uventet antigenekspression kan forekomme, især i neoplasmer. Den kliniske tolkning af et farvet vævssnit skal inkludere en morfologisk analyse og en evaluering af passende kontroller.

Brugsanvisning

Forud for denne metode skal brugere være uddannet i immunhistokemiske teknikker.

Alle trin skal følges som anvist, ellers kan ydeevnen blive forringet.

Kombinationen af det primære antistof, dets fortynding, sammen med detektionssystemet bør valideres af brugeren på en række kendte positive og negative kontroller.

Medmindre andet er anført, skal alle trin udføres ved rumtemperatur (25 °C).

Til brug på frosset væv skæres snit og fikseres i henhold til anbefalingerne for primært antistof. Start ved trin 11.

1. Klip og monter snit på objektglas belagt med en passende vævsklæber.
2. Afparaffinér snit i xylene eller xylenerstatninger.
3. Hydrér igen gennem særlige alkoholer.
4. Vask objektglas under rindende postevand.
5. Udfør antigenhætning efter behov (se **Brugsanvisningen** for primært antistof).
6. Vask objektglas i deioniseret vand.
7. Neutraliser endogen peroxidase ved hjælp af Peroxidase Block i 5 minutter.

8. Vask i TBS i 2 x 5 minutter.
9. Inkubér med Protein Block i 5 minutter.
10. Vask i TBS i 2 x 5 minutter.
11. Inkubér med optimalt fortyndet primært antistof (se **brugsanvisningen** for primært antistof).
12. Vask i TBS i 2 x 5 minutter.
13. Inkubér med Post Primary i 30 minutter.
14. Vask i TBS i 2 x 5 minutter.
15. Inkubér med Novolink Polymer i 30 minutter.
16. Vask i TBS i 2 x 5 minutter med let bevægelse.
17. Udvikl peroxidaseaktivitet med DAB-arbejdsløsning (se DAB-arbejdsløsning) i 5 minutter.
18. Skyl objektglas i vand.
19. Kontrastfarvning med hematoxylin.
20. Skyl objektglas i vand i 5 minutter.
21. Dehydrer, ryd og monter snit.

DAB-arbejdsløsning

Tilføj 50 µl DAB Chromogen til 1 ml Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Skal bruges inden for seks timer efter tilberedning.

Ydeevne-egenskaber

Ydeevnen for Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer and Novolink DAB (Polymer) er blevet valideret ved hjælp af en række Novocastra muse-IgG, muse-IgM* og kanin-IgG primære antistoffer.

*Svag farvning kan ses med nogle antistoffer af IgM isotype.

Disse produkter er stabile til udløbsdatoen/udløbsdatoerne, der er angivet på produktetiketten.

Litteraturliste

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. Pathology International. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, PA. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. Current Diagnostic Pathology. 2001; 7:161–167.
8. 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. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.

Intellektuel ejendomsret

Copyright © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Alle rettigheder forbeholdes. LEICA og Leica-logoet er registrerede varemærker tilhørende Leica Microsystems IR GmbH i USA og mange andre lande. BOND og Novocastra er registrerede varemærker tilhørende Leica Biosystems virksomhedskoncernen i USA og eventuelt andre lande.

Ændringshistorik

Revision: Udgivelsesdato	Revisionsdetaljer
6. Maj 2021	<p>Tilsigtet formål: Opdatering af tilsigtet formål for udstyret i henhold til FORORDNING (EU) 2017/746 Kapitel III 20.4.1.</p> <p>Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt: Opdateret til materialer.</p> <p>Forholdsregler og produktspecifikke begrænsninger: Ændring af sektionstitel.</p> <p>Immaterielle rettigheder: Tilføjelse af nyt afsnit "Immaterielle rettigheder".</p> <p>Ændringshistorik: Tilføjelse af nyt afsnit "Ændringshistorik".</p>

Revision/Udgivelsesdato

6. Maj 2021

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Productnummer: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Productnummer: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Productnummer: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Productnummer: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Productnummer: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Productnummer: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Productnummer: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Productnummer: RE7230-K

Uitsluitend voor professioneel gebruik

Beoogd gebruik

Voor gebruik bij diagnose *in vitro*.

Novolink Polymer Detection Systems worden gebruikt voor de visualisatie van muis-IgG, muis-IgM en konijn-IgG primaire antilichamen. Ze zijn bedoeld voor doelvisualisatie door handmatige immunohistochemie (IHC) op coupes van met formaline gefixeerd, in paraffine ingebed weefsel. Novolink Polymer en Novolink DAB (Polymer) zijn componentreagentia van deze systemen.

De klinische interpretatie van een kleuring of de afwezigheid hiervan moet worden aangevuld met morfologische studies en de juiste controles. Ook moeten er evaluaties worden uitgevoerd binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests uitgevoerd door een bevoegd patholoog.

Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer and Novolink DAB (Polymer) zijn bedoeld voor gebruik met andere apparaten voor visualisatie van kleuring en daarom wordt kwalitatieve of semi-kwantitatieve diagnostische functie, waaronder indicatie van een specifieke ziekte en de populatie voor beoogd gebruik beschreven op het etiket van het bijbehorende apparaat, zoals voorgeschreven voor dat apparaat.

Principe van de test

De eerste immunohistoperoxidasetechniek is beschreven door Nakane en Pierce.¹ Sindsdien hebben er veel ontwikkelingen plaatsgevonden en dit heeft geleid tot een grotere gevoeligheid dan eerdere technieken hadden. Een recente ontwikkeling is het gebruik van polymeerlabeling. Deze technologie is toegepast op zowel primaire antilichamen² als detectiesystemen. De Novolink Polymer Detection Systems maken gebruik van een nieuwe technologie van gecontroleerde polymerisatie waarmee polymere HRP-verbinder-antilichaamconjugaten worden bereid. Daarom treedt het probleem niet op van niet-specifieke kleuring die kan ontstaan met streptavidine- of biotine-detectiesystemen als gevolg van endogene biotine.

Deze producten worden gebruikt bij een immunohistochemische (IHC) procedure, waarmee kwalitatieve identificatie, met behulp van lichtmicroscopie, van antigenen in formaline-gefixeerde, in paraffine ingebedde weefselcoupes mogelijk is, via sequentiële stappen met ingevoegde spoelingsstappen. Indien het primaire antilichaam dit vereist, worden coupes onderworpen aan epitooferstel voorafgaand aan kleuring. Endogene peroxidase-activiteit wordt geneutraliseerd door Peroxidase Block te gebruiken. Dit wordt gevolgd door de toepassing van Novocastra Protein Block om niet-specifieke binding van primaire antilichamen en polymeer te voorkomen. De coupe wordt vervolgens geïncubeerd met optimaal verdunde primaire antilichamen. Vervolgens wordt Post Primary (konijn-anti-muis-IgG) gebruikt voor de detectie van muisantilichamen. De Novolink Polymer herkent konijnimmunoglobulinen, deze detecteert de post-primaire antilichamen en eventuele weefselgebonden konijn-primaire antilichamen. Coupes worden verder geïncubeerd met het substraat/chromogeen, 3,3'-diaminobenzidine (DAB), gemaakt van DAB Chromogeen en Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) zoals hieronder wordt beschreven. Reactie met de peroxidase produceert een zichtbaar bruin precipitaat op de antigenlocatie. Coupes worden tegengekleurd met Hematoxylin en met een dekglasje afgedekt. De resultaten worden geïnterpreteerd met behulp van een lichtmicroscopie en helpen bij de differentiële diagnose van pathofysiologische processen, die al dan niet met een bepaald antigeen kunnen worden geassocieerd.

Beschrijving reagens

Details over welke reagentia uit de volgende lijst in elk product worden aangeleverd, worden in de onderstaande tabel weergegeven.

1. Peroxidase Block, 3–4% v/v waterstofperoxide.
2. Protein Block, 0,4% caseïne in fosfaatgebufferde zoutoplossing, met stabilisatoren en 0,2% Bronidox L als conserveringsmiddel.
3. Post Primary, Konijn- anti muis-IgG (<10 µg/mL) in 10% (v/v) dierlijk serum in tris-gebufferde zoutoplossing/0,1% ProClin™ 950.
4. Novolink Polymer, Anti-konijn poly-HRP-IgG (<25 µg/ml) met 10% (v/v) dierlijk serum in tris-gebufferde zoutoplossing/0,1% ProClin™ 950.
5. DAB Chromogeen, 1,74% w/v 3,3' - diaminobenzidine in een stabilisatoroplossing.

Reagentia	Product-nummer	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Reagentia	Product-nummer	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Gebufferde oplossing met $\leq 0,1\%$ waterstofperoxide en conserveringsmiddel.
7. Hematoxylin. $<0,1\%$ Hematoxylin.

Reconstitutie, menging, verdunning of titratie

De Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer en Hematoxylin zijn voorverdund. Reconstitutie, menging, verdunning of titratie van deze reagentia is niet aanbevolen. Verdere verdunning kan tot een verlies van antigeenkleuring leiden. Dergelijke wijzigingen moeten door de gebruiker worden gevalideerd.

Het DAB Chromogen moet voorafgaand aan gebruik verdund worden tot 1/20 in Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Verdere verdunning kan tot een verlies van antigeenkleuring leiden. Dergelijke wijzigingen moeten door de gebruiker worden gevalideerd.

Benodigde, maar niet meegeleverde materialen

Standaard oplosmiddelen gebruikt in de immunohistochemie.

50 mm tris-gebufferde zoutoplossing (TBS) pH 7,6.

Antigeenhersteloplossing(en).

Enzymhersteloplossing(en).

Antilichaam-verdunningsmiddel.

Primair antilichaam.

Insluitlemiddel.

Apparatuur vereist voor antigeenherstel, indien aanbevolen voor het primaire antilichaam.

Algemene uitrusting van immunohistochemisch laboratorium.

Opslag en stabiliteit

Bewaren bij 2–8 °C. Niet invriezen. Direct na gebruik weer bij 2–8 °C opslaan. Niet gebruiken na de vervaldatum die op het label van het product staat. Andere dan de genoemde opslagcondities moeten door de gebruiker worden geverifieerd. Er zijn geen duidelijke tekenen die wijzen op instabiliteit van dit product. Daarom moeten positieve en negatieve controles gelijktijdig met patiëntenmonsters worden uitgevoerd.

Specimenpreparatie

Het aanbevolen fixermiddel is 10% neutraal gebufferde formaline voor in paraffine ingebedde weefselcoupes.

Voorzorgsmaatregelen en productspecifieke beperkingen

Een veiligheidsinformatieblad is verkrijgbaar op aanvraag of op LeicaBiosystems.com

Reagentia van verschillende detectiesystemen niet mengen.

Specimens, en alle materialen die eraan worden blootgesteld, moeten voor en na fixatie worden behandeld als potentiële overdragers van infecties en met inachtneming van de juiste voorzorgsmaatregelen worden afgevoerd.⁴

Pipetteer reagentia nooit met de mond en vermijd contact van de huid en slijmvliezen met reagentia of specimens. Indien reagentia of monsters in aanraking komen met gevoelige gebieden, moet u deze wassen met een overvloedige hoeveelheid water.

Raadpleeg de nationale, regionale en plaatselijke voorschriften voor de afvoer van alle potentieel giftige stoffen.

Minimaliseer de kans op microbiële contaminatie van reagentia omdat hierdoor de niet-specifieke kleuring kan toenemen. Andere incubatietijden of temperaturen dan hierin vermeld, kunnen onjuiste resultaten opleveren. Dergelijke wijzigingen moeten door de gebruiker worden gevalideerd.

Indien ten aanzien van dit product een ernstig incident optreedt, dient de gebruiker het incident te melden aan de fabrikant en de bevoegde autoriteit van de lidstaat waarin de gebruiker is gevestigd.

Immunohistochemie (IHC) is een diagnostisch meerstapsproces waarvoor een gespecialiseerde opleiding nodig is in het kiezen van de juiste reagentia, het selecteren, fixeren en bewerken van weefsel, het prepareren van IHC-objectglasjes en het interpreteren van de kleuringresultaten.

Weefselkleuring is afhankelijk van de manier waarop het weefsel vóór de kleuring wordt behandeld en bewerkt. Verkeerd fixeren, invriezen, ontdoien, wassen, drogen, verwarmen, snijden of contaminatie met andere weefsels of vloeistoffen kan tot artefacten, insluiting van antilichamen of fout-negatieve resultaten leiden. Inconsistente resultaten kunnen te wijten zijn aan variaties in de fixatie- en inbeddingsmethode, of aan intrinsieke onregelmatigheden in het weefsel.⁸

Een te sterke of onvoldedige tegenkleuring kan een juiste interpretatie van de resultaten bemoeilijken of onmogelijk maken.

De klinische interpretatie van een kleuring of de afwezigheid hiervan moet worden aangevuld met morfologische studies en de juiste controles. Ook moeten er evaluaties worden uitgevoerd binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests uitgevoerd door een bevoegd patholoog.

De Novolink Polymer Detection Systems en de bestanddelen hiervan zijn bedoeld voor in paraffine ingebedde coupes met specifieke fixatievereisten. Er kan onverwachte antigeenexpressie optreden, met name bij neoplasma's. De klinische interpretatie van gekleurde weefselcoupes moet een morfologische analyse en de evaluatie van overeenkomstige controles bevatten.

Gebruiksaanwijzing

Gebruikers moeten vóór het ondernemen van deze methodologie worden opgeleid in immunohistochemische technieken.

Alle stappen moeten worden gevolgd zoals aangegeven, anders kan de werkzaamheid nadelig worden beïnvloed.

De combinatie van het primaire antilichaam, de verdunning ervan, samen met het detectiesysteem moeten door de gebruiker gecontroleerd worden aan de hand van een aantal positieve en negatieve controles.

Tenzij anders vermeld worden alle stappen uitgevoerd bij kamertemperatuur (25 °C).

Voor gebruik op bevroren weefsel kunt u coupes snijden en inbedden volgens de aanbevelingen voor primair antilichaam; begin hiervoor bij stap 11.

1. Snij coupes en breng ze aan op objectglaasjes waarop een geschikt weefselhechtmiddel is aangebracht.
2. Verwijder de paraffine uit de coupes met xyleen of een xyleensubstituut.
3. Re-hydrateer met alcohol van aflopende sterkte.
4. Spoel de objectglaasjes onder stromend kraanwater.
5. Pas waar nodig antigeenherstel toe (zie de **gebruiksaanwijzing** voor primaire antilichamen).
6. Spoel de objectglaasjes in gedeïoniseerd water.
7. Neutraliseer endogene peroxidase met Peroxidase Block gedurende 5 minuten.
8. Was gedurende 2 x 5 minuten in TBS-buffer.
9. Incubeer 5 minuten lang met Protein Block.
10. Was gedurende 2 x 5 minuten in TBS-buffer.
11. Incubeer met optimaal verdund primair antilichaam (zie **gebruiksaanwijzing** voor het gebruik voor primaire antilichamen).
12. Was gedurende 2 x 5 minuten in TBS-buffer.
13. Incubeer 30 minuten lang met Post Primary.
14. Was gedurende 2 x 5 minuten in TBS-buffer.
15. Incubeer 30 minuten lang met Novolink Polymer.
16. Was 2 x 5 minuten lang in TBS en schud zachtjes.
17. Ontwikkel 5 minuten lang peroxidase-activiteit met DAB-werkoplossing (zie DAB-werkoplossing).
18. Spoel de objectglaasjes af met water.
19. Voer tegenkleuring met Hematoxylin uit.
20. Spoel objectglaasjes 5 minuten lang met water.
21. Dehydrateer en klaar de coupes en breng ze aan op de objectglaasjes.

DAB-werkoplossing

Voeg 50 µl DAB Chromogen toe aan 1 ml Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Binnen zes uur na preparatie gebruiken.

Prestatiekenmerken

De prestaties van Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer en Novolink DAB (Polymer) zijn gevalideerd met behulp van een reeks Novocastra muis-IgG, muis-IgM* en konijn-IgG primaire antilichamen.

*Bij sommige antilichamen va het IgM-isotype kan zwakke kleuring optreden.

Deze producten zijn stabiel tot de vervaldatum(s) die op het label van de verpakking is (zijn) aangegeven.

Literatuurlijst

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. *Pathology International*. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. *Current Diagnostic Pathology*. 2001; 7:161–167.
8. 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. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.

Intellectueel eigendom

Copyright © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Alle rechten voorbehouden. LEICA en het Leica-logo zijn gedeponeerde handelsmerken van Leica Microsystems IR GmbH in de VS en vele andere landen. BOND en Novocastra zijn gedeponeerde handelsmerken van de Leica Biosystems-groep van bedrijven in de VS en optioneel in andere landen.

Wijzigingsgeschiedenis

Herziening: Datum uitgave	Detail van herziening
06 Mei 2021	<p>Beoogd gebruik: Update van beoogd gebruik apparaat, in overeenstemming met VERORDENING (EU) 2017/746 hoofdstuk III 20.4.1.</p> <p>Benodigde, maar niet meegeleverde materialen: Update materiaallijst.</p> <p>Voorzorgsmaatregelen en productspecifieke beperkingen: Wijziging in onderdeeltitel.</p> <p>Intellectueel eigendom: Aanvulling op onderdeel "Intellectueel eigendom".</p> <p>Wijzigingsgeschiedenis: Aanvulling op onderdeel "Wijzigingsgeschiedenis".</p>

Herziening/Datum uitgave

06 Mei 2021

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Produktnr.: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Produktnr.: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Produktnr.: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Produktnr.: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Produktnr.: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Produktnr.: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Produktnr.: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Produktnr.: RE7230-K

Kun for profesjonell bruk

Tiltenkt formål

Til *in vitro*-diagnostisk bruk.

Novolink Polymer Detection Systems brukes til visualisering av primære antistoffer for mus-IgG, mus-IgM og kanin-IgG. De er tiltenkt for målvisualisering med manuell immunhistokjemi (IHC) i snitt av formalinfiksert, parafininnstøpt vev. Novolink Polymer og Novolink DAB (Polymer) er komponentreagenser for disse systemene.

Den kliniske tolkningen av enhver farging eller fravær av farging skal understøttes av morfologiske studier og gode kontroller skal evalueres i sammenheng med pasientens sykehistorie og andre diagnostiske tester av en kvalifisert patolog.

Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer og Novolink DAB (Polymer) er tiltenkt bruk med andre enheter for visualisering av farging, og som sådan er kvalitativ eller semikvantitativ diagnostisk funksjon, inkludert spesifikk sykdomsindikasjon og tiltenkt brukspopulasjon beskrevet i tilhørende merking med skilt som kreves for den enheten.

Testprinsipp

Den første immunhistoperoksidase-teknikken ble rapportert av Nakane og Pierce.¹ Siden denne gangen har det vært mange utviklinger som har gitt økt sensitivitet i forhold til tidligere teknikker. En nylig utvikling har vært bruken av polymerisk merking. Denne teknologien har blitt brukt på både primære antistoffer² og deteksjonssystemer. Novolink Polymer Detection Systems benytter en ny kontrollert polymeriseringsteknologi for å forberede polymere HRP-linker antistoffkonjugater. Derfor oppstår ikke problemet med uspesifikk farging som kan forekomme med streptavidin/biotindeteksjonssystemer på grunn av endogen biotin.

Disse produktene brukes i en immunhistokjemisk (IHC) prosedyre, som gjør det mulig med kvalitativ identifisering med lysmikroskopering av antigener i snitt av formalinfiksert, parafininnstøpt vev, via sekvensielle trinn med mellomliggende vasketrinn. Hvis det kreves av det primære antistoffet, utsettes snittene for epitop-demaskering før farging. Endogen peroksidaseaktivitet nøytraliseres ved bruk av Peroxidase Block. Dette følges av påføring av Novocastra Protein Block for å redusere ikke-spesifikk binding av primært antistoff og polymer. Dette snittet inkuberes deretter med optimalt fortennet primært antistoff. Post Primary (anti-mus-IgG fra kanin) brukes deretter til å påvise musantistoffer. Novolink Polymer gjenkjenner kaninimmunglobuliner og påviser post-primære og eventuelle vevbundne primære antistoffer fra kanin. Snittene inkuberes videre med substrat/kromogenet, 3,3' - diaminobenzidin (DAB), klargjort fra DAB Chromogen og Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) som beskrevet nedenfor. Reaksjon med peroksidase produserer et synlig brunt bunnfall ved antigenstedet. Snitt kontrastfarges med Hematoxylin og påføres dekke. Resultatene tolkes ved hjelp av et lysmikroskop og bidrar til differensialdiagnosen for patofysiologiske prosesser, som kan være tilknyttet et spesielt antigen eller ikke.

Beskrivelse av reagens

Detaljer for hvilke reagenser fra følgende liste som medfølger i hvert produkt, er gitt i tabellen nedenfor.

1. Peroxidase Block. 3–4% (v/v) hydrogenperoksid.
2. Protein Block. 0,4% kasein i fosfatbufret saltvann, med stabilisatorer, overflateaktivt stoff og 0,2% Bronidox L som et konserveringsmiddel.
3. Post Primary. Anti-mus-IgG fra kanin (<10 µg/ml) i 10% (v/v) dyreserum i tris-bufret saltvann/0,1% ProCln™ 950.
4. Novolink Polymer. Anti-kanin Poly-HRP-IgG (<25 µg/ml) som inneholder 10% (v/v) dyreserum i tris-bufret saltvann/0,1% ProCln™ 950.
5. DAB Chromogen. 1,74% w/v 3,3' - diaminobenzidin, i en stabilisatorløsning.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Bufret løsning som inneholder ≤0,1% hydrogenperoksid og konserveringsmiddel.
7. Hematoxylin. <0,1% Hematoxylin.

Reagenser	Produktnummer	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Reagenser	Produktnummer	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

Rekonstitusjon, blanding, fortynning, titrering

Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer og Hematoxylin er forhåndsfortynnet. Det anbefales ikke noen rekonstitusjon, blanding, fortynning eller titrering av disse reagensene. Ytterligere fortynning kan forårsake tap av antigenfarging. Brukeren må validere enhver slik endring.

DAB Chromogen krever fortynning 1/20 i Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) før bruk. Ytterligere fortynning kan forårsake tap av antigenfarging. Brukeren må validere enhver slik endring.

Nødvendige materialer som ikke følger med

Standard løsemidler som brukes innen immunhistokjemi.

50 mM tris-bufret saltvann (TBS) pH 7,6.

Antigen-demaskeringsoppløsning(er).

Enzym-demaskeringsoppløsning(er).

Antistofffortynner.

Primært antistoff.

Monteringsmedium.

Utstyr som er nødvendig for antigen-demaskering, hvis det anbefales for det primære antistoffet.

Generelt immunhistokjemisk laboratoriestyr.

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevares ved 2–8 °C. Skal ikke fryses. Returner til 2–8 °C umiddelbart etter bruk. Må ikke brukes etter utløpsdatoen som er angitt på produktetiketten. Andre oppbevaringsforhold enn de som er spesifisert, må verifiseres av brukeren. Det finnes ikke åpenbare tegn som indikerer ustabilitet for dette produktet. Derfor skal det kjøres positive og negative kontroller samtidig med pasientprøver.

Prøveklargjøring

Anbefalt fiksativ er 10% nøytralbufret formalin for parafininnstøpte vevsnitt.

Forholdsregler og produktspesifikke begrensninger

Et sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på forespørsel eller tilgjengelig fra LeicaBiosystems.com

Ikke bland reagenser fra ulike deteksjonssystemer.

Prøver, før og etter fiksering, og alle materialer som er utsatt for dem, skal behandles som om de kan overføre smitte og kasseres med riktige forholdsregler.⁴

Pipetter aldri reagenser med munnen, og unngå at hud og slimhinner kommer i kontakt med reagenser og prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skyll med rikelige mengder vann.

Se lokale, regionale eller statlige forskrifter for avfallshåndtering av eventuelle potensielle giftkomponenter.

Minimer mikrobiell kontaminering av reagenser, ellers kan det forekomme en økning i uspesifikk farging. Andre inkuberingstider eller temperaturer enn de som er spesifisert, kan gi feilaktige resultater. Enhver slik endring må valideres av brukeren.

Skulle det oppstå en alvorlig hendelse i forbindelse med til produktet, skal brukeren rapportere hendelsen til produsenten og den kompetente myndigheten i medlemsstaten der brukeren er etablert.

Immunhistokjemi er en flertrinns diagnostisk prosess som krever spesialisert opplæring i valg av egnede reagenser, valg, fiksering og behandling av vev, klargjøring av IHC-objektglass og tolkning av fargingsresultater.

Vevfargingen er avhengig av håndteringen og behandlingen av vevet før det farges. Uriktig fiksering, dypfrysing, opptining, vasking, tørking, oppvarming, snittning eller kontaminering med annet vev eller væsker kan frembringe artefakter, farging av antistoff eller falske negative resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes variasjoner i fikserings- og innstøpingsmetoder eller uregelmessigheter i vevet.⁸

Overdreven eller ufullstendig kontrastfarging kan hindre riktig tolkning av resultater.

Den kliniske tolkningen av en farging eller uteblitt farging skal suppleres av morfologiske studier ved bruk av riktige kontroller og skal evalueres av en kvalifisert patolog innenfor sammenhengen av pasientens sykehistorie og andre diagnostiske tester.

Novolink Polymer Detection Systems og deres komponenter er til bruk på parafininnstøpte snitt med spesifikke fikseringskrav. Det kan forekomme uventet antigenuttrykk, spesielt i neoplasmer. Den kliniske tolkningen av ethvert farget vevsnitt må inkludere morfologisk analyse og evaluering av egnede kontroller.

Bruksanvisning

Før bruk av denne metoden må brukerne være opplært i immunhistokjemiske teknikker.

Alle trinn må følges som anvist, ellers kan ytelsen reduseres.

Kombinasjonen av primært antistoff, dets fortynning, sammen med deteksjonssystemet, skal valideres av brukeren på en rekke kjente positive og negative kontroller.

Med mindre annet er angitt, utføres alle trinn ved romtemperatur (25 °C).

Før bruk på frossent vev skal snitt kuttes og fikseres i henhold til anbefalingene for primært antistoff som begynner på trinn 11.

1. Kutt og monter snitt på objektglass belagt med et egnet vevlim.
2. Deparafiner snitt i xylen eller xylenestitutter.
3. Rehydrer gjennom graderte alkoholer.
4. Vask objektglassene i rennende vann fra springen.
5. Utfør antigen-demaskering etter behov (se **bruksanvisning** for primært antistoff).
6. Vask objektglassene i deionisert vann.
7. Nøytraliser endogen peroksidase ved bruk av Peroxidase Block i 5 minutter.

8. Vask i TBS i 2 x 5 minutter.
9. Inkuber med Protein Block i 5 minutter.
10. Vask i TBS i 2 x 5 minutter.
11. Inkuber med optimalt fortynt primært antistoff (se **bruksanvisning** for primært antistoff).
12. Vask i TBS i 2 x 5 minutter.
13. Inkuber med Post Primary i 30 minutter.
14. Vask i TBS i 2 x 5 minutter.
15. Inkuber med Novolink Polymer i 30 minutter.
16. Vask i TBS i 2 x 5 minutter med forsiktig vugging.
17. Utvikle peroksidaseaktivitet med DAB-virkeløsning (se DAB-virkeløsning) i 5 minutter.
18. Skyll objektglassene i vann.
19. Kontrastfarge med Hematoxylin.
20. Skyll objektglassene i vann i 5 minutter.
21. Dehydrer, klarer og monter snitt.

DAB-virkeløsning

Tilsett 50 µl DAB Chromogen i 1 ml Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Brukes innen seks timer etter tillaging.

Ytelseegenskaper

Ytelsen til Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer og Novolink DAB (Polymer) har blitt validert ved bruk av en rekke Novocastra primære antistoffer for mus-IgG, mus-IgM* og kanin-IgG.

*Svak farging kan ses med noen antistoffer av IgM-isotype.

Disse produktene er stabile inntil utløpsdatoen(e) som er trykket på produktets etikett.

Bibliografi

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. *Pathology International*. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. *Current Diagnostic Pathology*. 2001; 7:161–167.
8. 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. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.

Andsverk

Copyright © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Alle rettigheter forbeholdt. LEICA og Leica-logoen er registrerte varemerker for Leica Microsystems IR GmbH i USA og mange andre land. BOND og Novocastra er registrerte varemerker for Leica Biosystems-gruppen av selskaper i USA og eventuelt i andre land.

Endringshistorikk

Revisjon: Utstedelsesdato	Detalj av revisjon
06. Mai 2021	<p>Tiltent bruk: Oppdatering av enhetens tiltenkte formål, i samsvar med FORORDNING (EU) 2017/746 kapittel III 20.4.1.</p> <p>Nødvendige materialer som ikke følger med: Oppdatert til liste av materialer.</p> <p>Forholdsregler og produktspesifikke begrensninger: Endre til seksjonstittel.</p> <p>Andsverk: Tilføyelse av ny «Andsverk»-seksjon.</p> <p>Endre historikk: Tilføyelse av ny «Endringshistorikk»-seksjon.</p>

Revisjon/Utstedelsesdato

06. Mai 2021

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Ürün No: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Ürün No: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Ürün No: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Ürün No: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Ürün No: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Ürün No: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Ürün No: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Ürün No: RE7230-K

Yalnızca Profesyonel Kullanım Amaçlıdır

Kullanım Amacı

In vitro diagnostik kullanım içindir.

Novolink Polymer Detection Systems, fare IgG, fare IgM ve tavşan IgG primer antikorlarının görselleştirilmesinde kullanılır. Bunlar, formalinde fiks edilmiş, parafine gömülmüş doku kesitlerinde manuel immünohistokimya (IHC) ile hedef görselleştirmesi için amaçlanmıştır. Novolink Polymer ve Novolink DAB (Polymer), bu sistemlerin bileşen reaktifleridir.

Herhangi bir boyamanın veya boyama yokluğunun klinik yorumu, morfolojik çalışmalarla tamamlanmalıdır ve nitelikli bir patolog tarafından hastanın klinik öyküsü ve diğer tanı testleri bağlamında uygun kontroller değerlendirilmelidir.

Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer ve Novolink DAB (Polymer) diğer cihazlarla birlikte boyamanın görselleştirilmesi ve dolayısıyla belirli hastalıkların endikasyonu dahil kantitatif ya da yarı kantitatif diagnostik işlevlerinde kullanılmak üzere tasarlanmıştır ve kullanım amacı popülasyonu, ilgili cihaz için gerektiği gibi ilişkili cihaz etiketinde açıklanmaktadır.

Test İkesi

İlk immünohistoperoksidaz tekniği Nakane ve Pierce tarafından bildirilmiştir.¹ O zamandan bu yana daha eski tekniklere kıyasla daha yüksek hassasiyet sağlayan birçok gelişme yaşanmıştır. Yakın bir zamanda yaşanan bir gelişme polimerik etiketlemenin kullanımı oldu. Bu teknoloji, her iki primer antikora² ve saptama sistemine uygulandı. Novolink Polymer Detection Systems polimerik HRP linker (bağlantı oluşturu) antikor konjugatları hazırlamak için yeni bir kontrollü polimerizasyon teknolojisi kullanılır. Dolayısıyla Streptavidin/Biotin saptama sistemlerinde endojen biotin nedeniyle meydana gelebilen spesifik olmayan boyama sorunu ortaya çıkmamaktadır.

Bu ürünler arada yıkama adımlarıyla sıralı adımlar yoluyla formalin fiksasyonlu parafine gömülmüş doku kesitlerinde antijenlerin ışık mikroskopisi yoluyla kalitatif olarak tanımlanmasını mümkün kılan bir immünohistokimyasal (IHC) işleminde kullanılır. Primer antikor gerektirdiği durumda kesitler boyama öncesinde epitop geri kazanımına tabi tutulur. Endojen peroksidaz aktivitesi, Peroxidase Block kullanılarak nötralize edilir. Bunun sonrasında primer antikorların ve polimerin spesifik olmayan bağlanmasını azaltmak üzere Novocastra Protein Block uygulaması yapılır. Kesit daha sonra optimum seyreltilmiş primer antikorla inkübe edilir. Daha sonra fare antikorlarını saptamak için Post Primary (Tavşan anti fare IgG) kullanılır. Novolink Polymer, tavşan immünooglobulinlerini tanıır, post post primary ve varsa dokuya bağlı tavşan primer antikorlarını saptar. Kesitler aşağıda belirtildiği şekilde, DAB Chromogen ve Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)'dan substrat/kromojen 3,3' - diaminobenzidin (DAB) ile daha fazla inkübe edilir. Peroksidaz ile reaksiyon antijen bölgesinde görünür bir kahverengi presipitat oluşturur. Kesitler, Hematoxylin ile karşıt boyanır ve lamel ile kapatılır. Sonuçlar bir ışık mikroskobu kullanılarak yorumlanır ve belirli bir antijen ile ilişkili olabilecek veya olmayabilecek patofizyolojik süreçlerin ayrııcı tanısına yardımcı olur.

Reaktif Açıklaması

Her üründe, aşağıdaki listeden hangi reaktiflerin sağlandığı ile ilgili ayrıntılar aşağıdaki tabloda verilmiştir.

1. Peroxidase Block. %3-4 (hacim/hacim) Hidrojen peroksit.
2. Protein Block. Fosfat tamponlu salinde %0,4 kazein, stabilizörler, sürfaktan ve koruyucu olarak %0,2 Bronidox L ile.
3. Post Primary. Tris tamponlu salin/%0,1 ProClin™ 950 içinde %10 (hacim/hacim) hayvan serumunda tavşan anti fare IgG (<10 µg/ml).
4. Novolink Polymer. Tris tamponlu salin/%0,1 ProClin™ 950 içinde %10 (hacim/hacim) hayvan serumu içeren Anti-tavşan Poly-HRP-IgG (<25 µg/ml).
5. DAB Chromogen. %1,74 w/v 3,3' - diaminobenzidin, stabilizör çözeltide.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). ≤%0,1 hidrojen peroksit ve koruyucu madde içeren tamponlanmış çözelti.
7. Hematoxylin. <%0,1 Hematoksilin.

Reaktifler	Ürün Numarası	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Reaktifler	Ürün Numarası	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

Sulandırma, Karıştırma, Seyreltme, Titrasyon

Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer ve Hematoxylin önceden seyreltilmiştir. Bu reaktifler için sulandırma, karıştırma, seyreltme veya titrasyon önerilmez. Fazla seyreltme antijen boyanması kaybına yol açabilir. Bu tür herhangi bir değişiklik kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

DAB Chromogen, kullanımdan önce Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) içinde 1/20 oranında seyreltme gerektirmektedir. Fazla seyreltme antijen boyanması kaybına yol açabilir. Bu tür herhangi bir değişiklik kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Gereken Ancak Sağlanmayan Materyaller

İmmünohistokimiyada kullanılan standart çözücüler.

50 mM tris tamponlu salin (TBS) pH 7,6.

Antijen geri kazanım çözültisi/çözülteleri.

Enzim geri kazanım çözültisi/çözülteleri

Antikor seyreltici.

Primer antikor.

Montaj ortamı.

Primer antikor için önerildiyse antijen geri kazanımı için gerekli ekipman.

Genel immünohistokimya laboratuvar ekipmanı.

Saklama ve Stabilité

2–8 °C'de saklayın. Dondurmayın. Kullanımdan hemen sonra 2–8 °C'ye geri alın. Ürün etiketinde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın. Yukarıda belirtilenler dışında saklama koşulları kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır. Ürünün instabilitesini gösteren belirgin bulgular yoktur, bu nedenle pozitif ve negatif kontroller hasta numuneleriyle eş zamanlı olarak çalışılmalıdır.

Örnek Hazırlama

Önerilen fiksatif, parafine gömülmüş doku kesitleri için %10 nötr tamponlu formalindir.

Önlemler ve Ürüne Özgü Sınırlamalar

Malzeme Güvenlik Bilgi Formu talep üzerine sağlanmaktadır ve LeicaBiosystems.com sitesinde mevcuttur.

Farklı saptama sistemlerinden reaktifleri karıştırmayın.

Fiksasyondan önce ve sonra örnekler ve bunlara maruz kalmış bütün materyaller, enfeksiyon yayabilecekmiş gibi işlem görmelidir ve gerekli önlemler alınarak imha edilmelidir.⁴

Reaktifleri hiçbir zaman ağızla pipetlemeyin. Cildin ve mukoz membranların reaktifler ve örneklerle temas etmesini önleyin. Reaktifler veya örnekler hassas bölgelere temas ederse bol miktarda suyla yıkayın.

Potansiyel olarak toksik bileşenlerin atılmasıyla ilgili yerel, ulusal veya bölgesel düzenlemeleri dikkate alın.

Reaktiflerin mikrobik kontaminasyonunu minimize edin, aksi takdirde spesifik olmayan boyamada bir artış meydana gelebilir. Belirtilenler dışında inkübasyon süreleri veya sıcaklıklar hatalı sonuçlara yol açabilir. Bu tür herhangi bir değişiklik kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Ürünle ilgili herhangi bir ciddi olay meydana gelmesi durumunda kullanıcı, olayı üreticiye ve kullanıcının yer aldığı Üye Ülkenin yetkili makamına bildirmelidir.

İmmünohistokimya: uygun reaktiflerin seçimi, doku seçimi, fiksasyonu ve işlenmesi, IHC laminin hazırlanması ve boyama sonuçlarının yorumlanması alanlarında özel eğitilmenden oluşan, çok adımlı bir diyagnostik süreçtir.

Doku boyama, boyama öncesinde dokunun kullanımına ve işlenmesine bağlıdır. Uygun olmayan fiksasyon, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit alma veya diğer dokular veya sıvılarla kontaminasyon artefaktlara, antikor tutulmasına veya yanlış negatif sonuçlara yol açabilir. Tutarsız sonuçların nedeni, fiksasyonu ve gömme yöntemlerindeki değişiklikler veya dokunun yapısından kaynaklanan düzensizlikler olabilir.⁸

Aşırı veya tam olmayan karşıt boyama sonuçlarının uygun yorumlanmasını olumsuz etkileyebilir.

Herhangi bir boyamanın veya boyama yokluğunun klinik yorumu, morfolojik çalışmalar ve uygun kontrollerle tamamlanmalıdır ve nitelikli bir patolog tarafından hastanın klinik öyküsü ve diğer tanı testleri bağlamında değerlendirilmelidir.

Novolink Polymer Detection Systems ve bunları bileşenleri, belirli fiksasyon gereksinimlerine sahip parafine gömülmüş kesitlerde kullanım içindir. Özellikle neoplazmlarda beklenmeyen antijen ekspresyonu oluşabilir. Boyanmış herhangi bir doku kesitinin klinik yorumu, morfolojik analizi ve uygun kontrollerin değerlendirilmesini içermelidir.

Kullanım Talimatları

Kullanıcılar, bu yöntemi uygulamadan önce, immünohistokimya teknikleri konusunda gerekli eğitimi almış olmalıdır.

Tüm adımların belirtildiği gibi uygulanması gerekmektedir. Aksi takdirde performans azalabilir.

Primer antikor, seyreltilmiş hali ve saptama sistemi kombinasyonu kullanıcı tarafından bir dizi bilinen pozitif ve negatif kontrolle doğrulanmalıdır.

Aksi belirtilmedikçe tüm adımlar oda sıcaklığında (25 °C) gerçekleştirilir.

Donmuş dokularda kullanım için kesitleri kesin ve primer antikor için önerilere göre fikse edin ve 11. adımdan başlayın.

1. Kesitleri kesin ve uygun doku yapışkanıyla kaplı lamlara monte edin.
2. Kesitleri ksilen veya ksilen yerini alan maddelerde deparafinize edin.
3. Derecelendirilmiş alkollerle rehidrate edin.
4. Lamları akan musluk suyunda yıkayın.
5. Antijen geri kazanımını gerektiği şekilde gerçekleştirin (bkz. primer antikor için **Kullanım Talimatları**).
6. Lamları deiyonize suda yıkayın.
7. Endojen peroksidazı 5 dakika boyunca Peroxidase Block kullanarak nötralize edin.

8. TBS'de 2 x 5 dakika yıkayın.
9. 5 dakika boyunca Protein Block ile inkübe edin.
10. TBS'de 2 x 5 dakika yıkayın.
11. Optimum şekilde seyreltilmiş primer antikor ile inkübe edin (bkz. primer antikor için **Kullanım Talimatları**).
12. TBS'de 2 x 5 dakika yıkayın.
13. 30 dakika boyunca Post Primary ile inkübe edin.
14. TBS'de 2 x 5 dakika yıkayın.
15. 30 dakika boyunca Novolink Polymer ile inkübe edin.
16. TBS'de hafif sallamayla 2 x 5 dakika yıkayın.
17. DAB çalışma çözeltisiyle (bkz. DAB Çalışma Çözeltisi) 5 dakika boyunca peroksidaz aktivitesi geliştirin.
18. Lamları suda durulayın.
19. Hematoxylin ile karşı boyama yapın.
20. Lamları 5 dakika boyunca suda durulayın.
21. Kesitleri dehidre edin, temizleyin ve monte edin.

DAB Çalışma Çözeltisi

50 µl DAB Chromogen'i 1 ml Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) ürününe ekleyin. Hazırladıktan sonra altı saat içinde kullanın.

Performans Özellikleri

Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer ve Novolink DAB (Polymer) ürünlerinin performansı, bir dizi Novocastra fare IgG, fare IgM ve tavşan IgG primer antikorları kullanılarak doğrulanmıştır.

*IgM izotipinde bazı antikorlarda zayıf boyama görülmüştür.

Bu ürünler, ürün etiketinde basılı son geçerlilik tarihi/tarihlerine kadar stabildir.

Kaynakça

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. Pathology International. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. Current Diagnostic Pathology. 2001; 7:161–167.
8. 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. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.

Fikri Mülkiyet

Telif hakkı © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Tüm hakları saklıdır. LEICA ve Leica logosu, ABD ve diğer birçok ülkede Leica Microsystems IR GmbH'nin tescilli ticari markalarıdır. BOND ve Novocastra, Leica Biosystems şirketler grubunun ABD ve isteğe bağlı olarak diğer ülkelerde sahip olduğu tescilli ticari markalardır.

Değişiklik Geçmişi

Revizyon: Yayın Tarihi	Revizyonun Ayrıntıları
6 Mayıs 2021	<p>Kullanım Amacı: Cihazın Kullanım Amacının 2017/746 sayılı DÜZENLEME (AB) Bölüm III 20.4.1'e göre güncellenmesi.</p> <p>Gereken Ancak Sağlanmayan Materyaller: Materyal listesinde güncellemeler.</p> <p>Önlemler ve Ürüne Özgü Sınırlamalar: Bölüm başlığında değişiklik.</p> <p>Fikri Mülkiyet: Yeni «Fikri Mülkiyet» bölümünün eklenmesi.</p> <p>Değişiklik Geçmişi: Yeni «Değişiklik Geçmişi» bölümünün eklenmesi.</p>

Revizyon/Yayın Tarihi

6 Mayıs 2021

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Продуктов №: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Продуктов №: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Продуктов №: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Продуктов №: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Продуктов №: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Продуктов №: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Продуктов №: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Продуктов №: RE7230-K

Само за професионална употреба

Предназначение

За употреба при *in vitro* диагностика.

Novolink Polymer Detection Systems се използват за визуализация на първични миши IgG антитела, миши IgM антитела и заешки IgG антитела. Те са предназначени за целева визуализация чрез ръчна имунохистохимия (IHC) в срези на фиксирана във формалин и вградена в парафин тъкан. Novolink Polymer и Novolink DAB (Polymer) са компонентни реагенти за тези системи. Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания и съответните контроли следва да се оценяват в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer и Novolink DAB (Polymer) са предназначени за използване с други изделия за визуализация на оцветяването и неговата качествена или полуколичествена диагностична функция, включително специфичните показания за заболяване и популацията за използване по предназначение, е описана в етикетата на съответното изделие, както се изисква за това изделие.

Принцип на теста

Първата имунохистопероксидазна техника е докладвана от Накейн и Пърс.¹ Оттогава насам се появяват множество разработки, водещи до подобрена чувствителност спрямо по-ранните техники. Скорозна разработка е употребата на полимерно белязване. Тази технология се прилага както на първични антитела², така и на системи за откриване. Novolink Polymer Detection Systems използват новаторска технология за контролирана полимеризация за подготвяне на конюгати на антитела с полимерна HRP като линкер. Следователно проблемът с неспецифичното оцветяване, който може да възникне със системи за откриване със стрептавидин/биотин поради ендогенен биотин, не се появява.

Тези продукти се използват при имунохистохимична (IHC) процедура, която позволява качествена идентификация чрез оптична микроскопия на антигени в срези от фиксирана във формалин и вградена в парафин тъкан чрез последователни стъпки с междинни стъпки на промиване. Ако това е необходимо за първичното анти тяло, срезите трябва предварително да преминат през извличане на епитот преди оцветяване. Активността на ендогенната пероксидаза се неутрализира с помощта на Peroxidase Block. След това се прилага Novocastra Protein Block, за да се намали неспецифичното свързване на първичното анти тяло и полимера. Срезът впоследствие се инкубира с оптимално разрежено първично анти тяло. След това се използва Post Primary (заешки антимиши IgG) за откриване на миши антитела. Novolink Polymer разпознава заешки имуноглобулини и открива постпървични антитела и всички тъканно свързани първични заешки антитела. Срезите се инкубират допълнително със субстрата/хромоген, 3,3'-диаминобензидин (DAB), приготвен от DAB Chromogen и Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer), както е описано по-долу. Реакция от процедурата на пероксидаза образува видима кафява утайка на мястото на антигена. Прави се контраоцветяване на срезите с Hematoxylin и върху тях се поставя покривно стъкло. Резултатите се интерпретират с използване на оптичен микроскоп и са в помощ при диференциалната диагностика на патофизиологични процеси, които може да са или да не са свързани с определен антиген.

Описание на реагент

В таблицата по-долу са дадени подробности кои реагенти от следващия списък се доставят с всеки продукт.

1. Peroxidase Block. 3–4% (v/v) водороден пероксид.
2. Protein Block. 0,4% казеин във фосфатно-буферен физиологичен разтвор със стабилизатори, повърхностноактивно съединение и 0,2% Bronidox L като консервант.
3. Post Primary. Заешки антимиши IgG (<10 µg/mL) в 10% (v/v) животински серум в трометамин-буферен физиологичен разтвор/0,1% ProClin™ 950.

Реагенти	Продуктов номер	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 mL	1 x 25 mL	
Protein Block	RE7102		2 x 25 mL	1 x 25 mL	
Post Primary	RE7111		2 x 25 mL	1 x 25 mL	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 mL	1 x 25 mL	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 mL	1 x 3 mL	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 mL	1 x 30 mL	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 mL	1 x 25 mL	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Реагенти	Продуктов номер	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 mL		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 mL		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 mL
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 mL
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

- Novolink Polymer. Антизаешки Poly-HRP-IgG (<25 µg/mL), съдържащ 10% (v/v) животински серум в трометамин-буферен физиологичен разтвор/0,1% ProClin™ 950.
- DAB Chromogen. 1,74% w/v 3,3' – диаминобензидин, в стабилизирания разтвор.
- Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Буферен разтвор, съдържащ ≤0,1% водороден пероксид и консервант.
- Hematoxylin. <0,1% Hematoxylin.

Възстановяване, смесване, разреждане, титриране

Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer и Hematoxylin са предварително разреждени. Не се препоръчва възстановяване, смесване, разреждане или титриране на тези реактиви. По-нататъшното разреждане може да доведе до загуба на оцветяване на антигена. Всички подобни промени трябва да бъдат валидирани от потребителя.

Преди употреба DAB Chromogen изисква разреждане до 1/20 в Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). По-нататъшното разреждане може да доведе до загуба на оцветяване на антигена. Всички подобни промени трябва да бъдат валидирани от потребителя.

Необходими, но непредоставени материали

Стандартни разтворители, използвани с имунохистохимията.

50 mM трометамин-буферен физиологичен разтвор (TBS) pH 7,6.

Разтвор(и) за извличане на антиген.

Разтвор(и) за извличане на ензим.

Разредител за антигела.

Първично анти тяло.

Микроскопски препарат.

Необходимо оборудване за извличане на антиген, ако се изисква за първичното анти тяло.

Общо имунохистохимично лабораторно оборудване.

Съхранение и стабилност

Да се съхранява при температура 2–8 °C. Да не се замразява. Да се върне на температура 2–8 °C веднага след употреба. Не използвайте след срока на годност, отбелязан върху етикета на продукта. Другите условия на съхранение, освен посочените по-горе, трябва да бъдат проверени от потребителя. Не са налице очевидни признаци, указващи нестабилност на този продукт, ето защо позитивните и негативните контроли трябва да бъдат обработвани едновременно с проби на пациента.

Подготовка на спесимени

Препоръчителният фиксиращ разтвор е неутрален буферен формалин 10% за тъканни срези, вградени в парафин.

Предпазни мерки и специфични ограничения на продукта

Информационният лист за безопасност на материалите може да се получи при поискване или е на разположение от LeicaBiosystems.com

Не смесвайте реактиви от различни системи за откриване.

Спесиментите преди и след фиксация, както и всички материали, изложени на тяхното влияние, трябва да бъдат третирани като способни да предадат инфекция и да бъдат изхвърлени, прилагайки съответните предпазни мерки.⁴

Никога не пипетирайте реактиви с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реактиви или спесимени. При контакт на реагенти или спесимени с чувствителни зони измийте зоните с обилно количество вода.

Консултирайте се с федералните, държавните или местните регламенти относно изхвърлянето на потенциално токсични компоненти.

Свеждайте до минимум микробната контаминация на реагентите, в противен случай може да се появи увеличаване на неспецифичното оцветяване. Инкубационни времена или температури, различни от посочените, могат да доведат до грешни резултати. Всякакви подобни промени трябва да бъдат валидирани от потребителя.

При възникване на сериозен инцидент, свързан с продукта, потребителят трябва да докладва за инцидента на производителя и на компетентния орган на държавата членка, в която е установен потребителят.

Имунохистохимията е многостъпков диагностичен процес, който се състои от специализирано обучение за избор на подходящи реагенти, избор на тъкани, фиксация и обработка, подготовка на предметното стъкло за имунохистохимия и интерпретация на резултатите от оцветяването.

Тъканното оцветяване зависи от боравенето с тъканта и нейната обработка преди оцветяването. Неправилната фиксация, замразяване, размразяване, промиване, изсушаване, затопляне, сръзване или контаминацията с други тъкани или течности може да причини поява на артефакти, блокиране на антигелата или фалшиво негативни резултати. Несъвместимите резултати може да са причинени от отклонения във фиксацията и методите на вграждане в парафина или от присъщи нередности вътре в тъканта.⁸

Прекалено или непълно контраоцветяване може да компрометира правилната интерпретация на резултатите.

Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания с помощта на подходящи контроли и трябва да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

Novolink Polymer Detection Systems и техните компоненти са предназначени за употреба с вградени в парафин срези със специфични изисквания за фиксация. Възможно е да настъпи неочаквана антигенна експресия, особено при неоплазми. Клиничната интерпретация на всеки оцветен тъканен срез трябва да включва морфологичен анализ и оценката на подходящи контроли.

Инструкции за употреба

Преди прилагането на тази методология потребителите трябва да бъдат обучени за имунохистохимичните техники.

Всички стъпки трябва да бъдат спазвани, както е указано. В противен случай функционалността може да бъде нарушена.

Комбинацията от първичното анти тяло, неговия разтвор, заедно със системата за откриване, трябва да бъде валидирана от потребителя посредством поредица от известни позитивни и негативни контроли.

Освен ако не е указано друго, всички стъпки се извършват при стайна температура (25 °C).

За употреба със замразени тъкани отрежете срези и ги фиксирайте съгласно препоръките за първично анти тяло, започвайки от стъпка 11.

1. Срежете и поставете срезите на предметни стъкла, покрити със съответния тъканен адхезив.
2. Деларифинизирайте срезите в ксилен или ксиленови заместители.
3. Рехидрирайте със степенувани алкохоли.
4. Измийте предметните стъкла с течаща чешмяна вода.
5. Извършете извличане на антиген, както се изисква (Вижте **инструкции за употреба** за първично анти тяло).
6. Измийте предметните стъкла с дейонизирана вода.
7. Неутрализирайте ендогенната пероксидаза, използвайки Peroxidase Block за 5 минути.
8. Промийте в TBS (Трометамин-буфериран физиологичен разтвор) за 2 x 5 минути.
9. Инкубирайте с Protein Block за 5 минути.
10. Промийте в TBS (Трометамин-буфериран физиологичен разтвор) за 2 x 5 минути.
11. Инкубирайте с оптимално разрежено първично анти тяло (Вижте **инструкции за употреба** за първично анти тяло).
12. Промийте в TBS (Трометамин-буфериран физиологичен разтвор) за 2 x 5 минути.
13. Инкубирайте с Post Primary за 30 минути.
14. Промийте в TBS (Трометамин-буфериран физиологичен разтвор) за 2 x 5 минути.
15. Инкубирайте с Novolink Polymer за 30 минути.
16. Промийте в TBS (Трометамин-буфериран физиологичен разтвор) за 2 x 5 минути, разклащайки внимателно.
17. Развийте пероксидазна дейност с DAB работен разтвор (вж. «DAB работен разтвор») за 5 минути.
18. Изплакнете предметните стъкла във вода.
19. Направете контраоцветяване с Nematohylin.
20. Изплакнете предметните стъкла във вода за 5 минути.
21. Дехидрирайте, изчистете и поставете срезите върху предметното стъкло.

DAB работен разтвор

Добавете 50 µl от DAB Chromogen към 1 ml от Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Използвайте в рамките на шест часа след подготовяне.

Работни характеристики

Действието на Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer и Novolink DAB (Polymer) е валидирано с използването на поредица от първични миши IgG анти тела, миши IgM* анти тела и заешки IgG анти тела Novocastra.

*Може да се наблюдава слабо оцветяване с някои анти тела от IgM изотип.

Тези продукти са стабилни до изтичане на срока на годност, отпечатан на етикетите им.

Библиография

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. *Pathology International*. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. *Current Diagnostic Pathology*. 2001; 7:161–167.
8. 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. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.

Интелектуална собственост

Copyright © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Всички права запазени. LEICA и логото Leica са регистрирани търговски марки на Leica Microsystems IR GmbH в САЩ и в много други държави. BOND и Novocastra са регистрирани търговски марки на групата от дружества Leica Biosystems в САЩ и опционално в други държави.

Хронология на промените

Редакция: Дата на издаване	Подробности за редакцията
06 Май 2021 г.	<p>Предназначение: Актуализация на предназначението на изделието в съответствие с РЕГЛАМЕНТ (ЕС) № 2017/746, глава III 20.4.1.</p> <p>Необходими, но непредоставени материали: Актуализирано да включва материали.</p> <p>Предпазни мерки и специфични ограничения на продукта: Промяна на заглавие на раздел.</p> <p>Интелектуална собственост: Добавяне на нов раздел «Интелектуална собственост».</p> <p>Хронология на промените: Добавяне на нов раздел «Хронология на промените».</p>

Редакция/Дата на издаване

06 Май 2021 г.

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Termékszám: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Termékszám: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Termékszám: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Termékszám: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Termékszám: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Termékszám: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Termékszám: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Termékszám: RE7230-K

Kizárólag professzionális használatra

Alkalmazási terület

In vitro diagnosztikai használatra.

A Novolink Polymer Detection Systems rendszerek egér-IgG, egér-IgM és nyúl-IgG elsődleges antitestek megjelenítésére használhatók. Célmolekulák manuális immunhisztokémiai vizsgálat (immunohistochemistry, IHC) révén történő megjelenítésére szolgálnak formalinnal fixált, paraffinba ágyazott szövetek metszeteiben. A Novolink Polymer és a Novolink DAB (Polymer) ezen rendszerek reagenskomponensei.

Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal kell kiegészíteni, a megfelelő kontrollok kiértékelését pedig a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével képzett patológusnak kell elvégeznie.

A Novolink Polymer Detection Systems, a Novolink Polymer és a Novolink DAB (Polymer) egyéb eszközökkel együtt használható festések vizualizálására, ily módon a kvalitatív vagy szemikvantitatív diagnosztikai funkciót, beleértve a betegségek specifikus jelzését és a tervezett felhasználói populációt, a kapcsolódó eszköz címkéje tartalmazza az adott eszköznél szükséges módon.

A vizsgálat elve

Az első immunhisztoperoxidáz-eljárást Nakane és Pierce írta le.¹ Azóta számos fejlesztés történt, ami a korábbi technikákhoz képest nagyobb érzékenységet eredményezett. Az egyik legújabb fejlesztés a polimercímkezés alkalmazása. Ez a technológiát elsődleges antitestek² és detektáló rendszerek esetében is alkalmazzák. A Novolink Polymer Detection Systems rendszerek új kontrollált polimerizáló technológiát alkalmaznak a polimer HRP-kötő antitest-konjugátumok előállításához. Ennek köszönhetően a nem specifikus festődés problémája, amely a sztreptavidin/biotin detektáló rendszereknél felmerülhet az endogén eredetű biotin miatt, ezeknél a rendszereknél nem fordul elő.

Ezek a termékek immunhisztokémiai (IHC) eljárásokban használandók, amelyek az egymás utáni műveletekből és közbeiktatott mosási lépésekből álló munkafolyamat alkalmazásával lehetővé teszik a formalinban fixált, paraffinba ágyazott szövetmetszetek antigénjeinek fénymikroszkópos vizsgálattal történő kvalitatív azonosítását. Amennyiben az elsődleges antitest ezt szükségesé teszi, a metszeteken a festés előtt epitópfeltárást kell végezni. Az endogén peroxidázaktivitás semlegesítése Peroxidase Block alkalmazásával történik. Ezt a Novocastra Protein Block alkalmazása követi az elsődleges antitestek és a polimer nem specifikus kötődésének csökkentése céljából. A metszetet ezután inkubálni kell optimális hígítású elsődleges antissal. Ezt a Post Primary (nyúlban termelt, egér elleni IgG) használatát követi az egérantitestek kimutatása céljából. A Novolink Polymer nyúlimmunglobulinokat azonosít; a „post primary” és a szövethöz kötött elsődleges nyúlantitesteket mutatja ki. A metszeteket ezután tovább kell inkubálni a DAB Chromogen és a Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) felhasználásával az alább ismertetett módon előállított 3,3' - diaminobenzidin (DAB) kromogén szubsztráttal. A peroxidázal lejátszódó reakció látható barna csapadékot eredményez az antigén helyén. A metszeteken Hematoxylin alkalmazásával kontrasztfestést kell végezni, majd fedőlemezzel le kell fedni őket. Az eredmények fénymikroszkóp használatával értelmezhetők, majd segítségül használhatók a patofiziológias folyamatok differenciáldiagnózisa során, amely folyamatok az esetek egy részében konkrét antigénhez kapcsolódnak.

A reagens leírása

Annak részletei, hogy az egyes termékekhez az alábbi felsorolásban szereplő reagensek közül melyeket csomagolnak, az alábbi táblázatban szerepelnek.

1. Peroxidase Block. 3–4 térfogatszázalék hidrogén-peroxid.
2. Protein Block. 0,4% kazein foszfátpufferes sóoldatban stabilizátorokkal, felületaktív anyaggal és tartósítószerként 0,2% Bronidox L-lel.
3. Post Primary. Nyúlban termelt, egér elleni IgG (<10 µg/ml), tris-pufferelt sóoldatban 10 térfogatszázalék állati szérumot/0,1% ProClin™ 950-et tartalmaz.

Reagenszek	Termékszám	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Reagenszek	Termékszám	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

- Novolink Polymer. Nyúl elleni Poly-HRP IgG (<25 µg/ml), tris-pufferelt sóoldatban 10 térfogatszázalék állati szérumot/0,1% ProClin™ 950-et tartalmaz.
- DAB Chromogen. 1,74% vegyesszázalék 3,3' - diaminobenzidin, stabilizáló oldatban.
- Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). ≤0,1% hidrogén-peroxidot és tartósítószerrel tartalmazó pufferelt oldat.
- Hematoxylin. <0,1% hematoxinil.

Feloldás, elegyítés, hígítás és titrálás

A Peroxidase Block, a Protein Block, a Post Primary, a Novolink Polymer és a Hematoxylin készítmények előre hígított oldatok. Nem javasolt a reagensek feloldása, elegyítése, hígítása vagy titrálása. A további hígítás az antigénfestődés elvesztését okozhatja. A felhasználónak minden ilyen jellegű változtatást validálnia kell.

A DAB Chromogen felhasználás előtt Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) alkalmazásával 1:20 arányú hígítást igényel. A további hígítás az antigénfestődés elvesztését okozhatja. A felhasználónak minden ilyen jellegű változtatást validálnia kell.

Szükséges, de nem biztosított anyagok

Az immunhisztokémiában alkalmazott standard oldószerek.

50 mM tris-pufferelt sóoldat (Tris-buffered saline, TBS), pH 7,6.

Antigénfeltáró oldat(ok).

Enzimes feltáró oldat(ok).

Antitesthígító.

Elsődleges antitest.

Fedőanyag.

Az antigénfeltáráshoz szükséges felszerelés, amennyiben az elsődleges antitesthez javasolt.

Általános immunhisztokémiai laboratóriumi felszerelés.

Tárolás és stabilitás

2–8 °C-on tárolandó. Tilos lefagyasztani. Felhasználás után azonnal tegye vissza 2–8 °C közötti hőmérsékletre. Ne használja a termék címkéjén feltüntetett lejárati dátum után. Az előírtaktól eltérő tárolási feltételeket a felhasználónak ellenőriznie kell. Nincsenek a termék instabilitására utaló egyértelmű jelek, ezért a betegmintákkal egy időben a megfelelő pozitív és negatív kontrollok futtatását is el kell végezni.

A minták előkészítése

A javasolt fixálószer a paraffinba ágyazott szövetmetszeteknél 10%-os, semleges pufferolású formalin.

Óvintézkedések és termékspecifikus korlátozások

Az anyagbiztonsági adatlapot igény esetén rendelkezésre bocsátjuk, illetve elérhető a LeicaBiosystems.com weboldalon is.

Ne keverje össze a különböző detektáló rendszerekből származó reagenseket.

A mintákat fixálás előtt és után, valamint a velük érintkező összes anyagot fertőzések terjesztésére képes anyagként kell kezelni, és megfelelő körülményekkel kell ártalmatlanítani.⁴

Soha ne pipettázza szájjal a reagenseket, továbbá kerülje a bőr és a nyálkahártyák érintkezését a reagensekkel és a mintákkal. Ha a reagensek vagy minták érzékeny területtel érintkeznek, bő vízzel mossa le az érintett területet.

Minden potenciálisan toxikus összetevő ártalmatlanításával kapcsolatban kövesse a szövetségi, állami és helyi előírásokat.

Minimálisan kell csökkenteni a reagensek mikrobiális szennyeződését, különben megnövekedhet a nem specifikus festődés. A megadottaktól eltérő inkubációs idők és hőmérsékletek hibás eredményekhez vezethetnek. A felhasználónak minden ilyen jellegű változtatást validálnia kell.

Ha a termékhez kapcsolódóan bármilyen súlyos esemény következik be, a felhasználónak jelentenie kell az eseményt a gyártónak és a felhasználó székelye szerinti Tagállam illetékes hatóságának.

Az immunhisztokémia több lépésből álló diagnosztikai folyamat, amely a következőket foglalja magában: speciális képzés alapján a megfelelő reagensek kiválasztása; a szövetek kiválasztása, fixálása és feldolgozása; az IHC tárgylemez előkészítése; és a festési eredmények értelmezése.

A szövet festődése függ a szövet festés előtti kezelésétől és feldolgozásától. A nem megfelelő fixálás, a fagyasztás, olvasztás, mosás, szárítás, melegítés, metszetkészítés, illetve a más szövetekkel vagy folyadékokkal történő szennyezés műtermékeket, az antitestek befogását, illetve álnegatív eredményeket okozhat. Ellentmondó eredményekhez vezethetnek a fixálási vagy beágyazási módszerek eltérései, illetve a szövet eredendő rendellenességei.⁵

A túlzott vagy hiányos kontrasztfestés ronthatja az eredmények megfelelő értelmezését.

Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegészíteni, valamint az értékelést a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

A Novolink Polymer Detection Systems rendszerek és összetevőik paraffinba ágyazott metszeteken történő alkalmazásra szolgálnak meghatározott fixálási követelmények mellett. Időnként váratlan antigén-expresszió fordulhat elő, különösen daganatok esetében. Bármely festett szövetmetszet klinikai értelmezéséhez morfológiai elemzést is kell végezni, és ki kell értékelni a megfelelő kontrollokat.

Használati útmutató

A módszer végrehajtása előtt a felhasználóknak képzésben kell részesülniük az immunhisztokémiai módszerekkel kapcsolatban.

Minden lépést követni kell az utasítások szerint, eltérő esetben csökkenhet a teljesítmény.

Az elsődleges antitest, a hígítás és a detektáló rendszer kombinációját a felhasználónak kell validálnia ismert pozitív és negatív kontrollsorozat alkalmazásával.

Ha nincs másként feltüntetve, minden lépést szobahőmérsékleten (25 °C) kell végrehajtani.

Fagyasztott szöveteken való alkalmazáskor vágja fel és fixálja a metszeteket az elsődleges antitestekre vonatkozó ajánlásoknak megfelelően – kezdje a 11. lépéssel.

1. Vágja le és helyezze megfelelő szövegragasztóval bevont tárgylemezre a metszeteket.
2. Xilolban vagy xilolszubsztituensekben paraffinmentesítse a metszeteket.
3. Felszálló alkoholsorban végezze el a rehidratálást.
4. Mossa le a tárgylemezeket folyó csapvíz alatt.
5. Szükség esetén végezzen antigénfeltárást (lásd az elsődleges antitestre vonatkozó **használati útmutatót**).
6. Mossa le a tárgylemezeket ionmentes vízben.
7. Peroxidase Block 5 percig tartó alkalmazásával semlegesítse az endogén peroxidázt.
8. Mossa őket 2 x 5 percig TBS-ben.
9. Inkubálja Protein Block készítménnyel 5 percen keresztül.
10. Mossa őket 2 x 5 percig TBS-ben.
11. Inkubálja optimálisan hígított elsődleges antitesttel (lásd az elsődleges antitestre vonatkozó **használati útmutatót**).
12. Mossa őket 2 x 5 percig TBS-ben.
13. Inkubálja Post Primary készítménnyel 30 percen keresztül.
14. Mossa őket 2 x 5 percig TBS-ben.
15. Inkubálja Novolink Polymer készítménnyel 30 percen keresztül.
16. Finoman rázogotva mossa 2 x 5 percig TBS-ben.
17. DAB munkaoldat 5 percig tartó alkalmazásával hívja elő a peroxidázaktivitást (lásd DAB munkaoldat).
18. Öblítse le a tárgylemezeket vízben.
19. Végezzen kontrasztfestést Hematoxylin készítménnyel.
20. Öblítse le a tárgylemezeket vízben 5 percen keresztül.
21. Víztelenítse és tisztítsa meg a metszeteket, majd helyezze őket tárgylemezre.

DAB munkaoldat

Adjon 50 µl DAB Chromogen készítményt 1 ml Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) készítményhez. Az elkészítést követő hat órán belül használja fel.

Teljesítményjellemzők

A Novolink Polymer Detection Systems, a Novolink Polymer és a Novolink DAB (Polymer) teljesítményét különböző Novocastra egér-IgG, egér-IgM* és nyúl-IgG elsődleges antitestek alkalmazásával validálták.

*Az IgM izotípus néhány antitestjénél gyenge festődés lehet látható.

Ezek a termékek a termékcímkére nyomtatott lejárati dátum(ok)ig stabilak.

Szakirodalom

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. *Pathology International*. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. *Current Diagnostic Pathology*. 2001; 7:161–167.
8. 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. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.

Szellemi tulajdonjog

Copyright © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Minden jog fenntartva. A LEICA és a Leica logó a Leica Microsystems IR GmbH bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és számos más országban. A BOND és a Novocastra a Leica Biosystems vállalatcsoport bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és opcionálisan egyéb országokban.

Változtatási előzmények

Módosítás: Kiadás dátuma	Módosítás részletei
2021. Május 6.	<p>Alkalmazási terület: Az eszköz alkalmazási területének frissítése az Európai Parlament és a Tanács (EU) 2017/746 rendelet 3. fejezete 20.4.1. szakaszának megfelelően.</p> <p>Szükséges, de nem biztosított anyagok: Az anyagok felsorolásra kerültek.</p> <p>Óvintézkedések és termékspecifikus korlátozások: A szakasz címének megváltoztatása.</p> <p>Szellemi tulajdonjog: Új „Szellemi tulajdonjog” szakasz hozzáadása.</p> <p>Változtatási előzmények: Új „Változtatási előzmények” szakasz hozzáadása.</p>

Módosítás/Kiadás időpontja

2021. Május 6.

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Nr. produs RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Nr. produs RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Nr. produs RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Nr. produs RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Nr. produs RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Nr. produs RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Nr. produs RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Nr. produs RE7230-K

Numai pentru utilizare profesională

Domeniul de utilizare

Pentru diagnosticare *in vitro*.

Produsele Novolink Polymer Detection Systems sunt utilizate pentru vizualizarea anticorpilor primari de șoarece IgG, șoarece IgM și iepure IgG. Acestea sunt destinate vizualizării țintei prin imunohistochimie (IHC) manuală în secțiuni de țesut încorporat în parafină, fixat cu formalină. Novolink Polymer și Novolink DAB (Polymer) sunt reactivii componenți ai acestor sisteme.

Interpretarea clinică a oricărei colorații sau a absenței acesteia trebuie verificată prin studii morfologice, folosind proceduri de control adecvate, și trebuie evaluată în contextul istoricului clinic al pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer și Novolink DAB (Polymer) sunt destinate utilizării cu alte dispozitive pentru vizualizarea colorației, iar funcția de diagnosticare calitativă sau semi-cantitativă, care include semne de boli specifice și populația vizată, este descrisă pe eticheta asociată dispozitivului, în funcție de cerințele dispozitivului respectiv.

Principiul de testare

Prima tehnică cu imunohistoperoxidază a fost raportată de Nakane și Pierce.¹ De atunci au avut loc multe evoluții care au dus la îmbunătățirea sensibilității față de tehnicile anterioare. O evoluție recentă s-a concretizat prin utilizarea etichetării polimerice. Această tehnologie a fost aplicată atât anticorpilor primari², cât și sistemelor de detecție. Produsele Novolink Polymer Detection Systems utilizează o tehnologie nouă de polimerizare controlată pentru prepararea conjugatelor de anticorp polimeric de legătură HRP. Prin urmare, nu mai apare problema colorației nespecifice care poate apărea la sistemele de detecție pentru Streptavidin/Biotin din cauza biotinei endogene.

Aceste produse sunt utilizate într-o procedură imunohistochimică (IHC), care permite identificarea calitativă prin microscopie optică a antigenilor în secțiuni de țesut fixat cu formalină, încorporat în parafină, prin etape secvențiale cu etape de spălare intercalate. Dacă este necesar pentru anticorpul primar, secțiunile sunt supuse recuperării epitopilor înainte de colorație. Activitatea peroxidazei endogene este neutralizată utilizând Peroxidase Block. Acesta este urmat de aplicarea Novocastra Protein Block pentru a reduce legarea nespecifică a anticorpilor primari și polimerici. Secțiunea este apoi incubată cu anticorp primar în diluție optimă. După aceea, Post Primary (iepure anti-șoarece IgG) este utilizat pentru detecția anticorpilor de șoarece. Novolink Polymer recunoaște imunoglobulinele de iepure și detectează anticorpii post-primari și orice anticorpi primari de iepure fixați în țesut. Secțiunile sunt apoi incubate în continuare cu substratul/cromogen, 3,3' - diaminobenzidină (DAB), preparat din DAB Chromogen și Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer), după cum se descrie mai jos. Reacția cu peroxidaza produce un precipitat cafeniu vizibil la situl antigenului. Secțiunile sunt contracolorate cu Hematoxylin și acoperite cu lamele. Rezultatele sunt interpretate folosind un microscop optic și ajută la diagnosticul diferențial al proceselor patofiziologice, care pot sau nu să fie asociate cu un anumit antigen.

Descrierea reactivilor

Detaliile reactivilor din lista următoare care sunt furnizați în fiecare produs sunt date în tabelul de mai jos.

1. Peroxidase Block. Apă oxigenată 3–4% (v/v).
2. Protein Block. 0,4% caseină în soluție salină tamponată cu fosfat, cu stabilizatori, surfactant și 0,2% Bronidox L drept conservant.
3. Post Primary. Iepure anti șoarece IgG (<10 µg/ml) în 10 % (v/v) ser animal în soluție salină tamponată cu trometamină/0,1% ProClin™ 950.
4. Novolink Polymer. Anti-iepure Poly-HRP-IgG (<25 µg/ml) conținând 10% (v/v) ser animal în soluție salină tamponată cu trometamină/0,1% ProClin™ 950.
5. DAB Chromogen. 1,74% w/v 3,3' - diaminobenzidină, în soluție stabilizatoare.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Soluție tamponată conținând apă oxigenată ≤0,1% și conservant.
7. Hematoxylin. Hematoxylin <0,1%.

Reactivi	Număr produs	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Reactivi	Număr produs	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

Reconstituire, Amestecare, Diluare, Titrare

Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer și Hematoxylin sunt prediluate. Reconstituirea, amestecarea, diluarea sau titrarea acestor reactivi nu sunt recomandate. Diluarea poate duce la pierderea colorării antigenilor. Utilizatorul trebuie să valideze orice astfel de schimbare.

DAB Chromogen necesită diluare la 1/20 în Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) înainte de utilizare. Diluarea poate duce la pierderea colorării antigenilor. Utilizatorul trebuie să valideze orice astfel de schimbare.

Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate

Solvenți standard folosiți în imunohistochimie.

Soluție salină tamponată cu trometamină 50 mM (TBS) pH 7,6.

Soluție(i) de recuperare cu antigen.

Soluție(i) de recuperare cu enzime.

Diluant pentru anticorpi.

Anticorp primar.

Mediu de montare.

Echipament necesar pentru recuperarea cu antigen, dacă este recomandată pentru anticorpii primari.

Echipament de laborator general pentru imunohistochimie.

Depozitare și stabilitate

A se depozita la 2–8 °C. A nu se congela. A se returna la 2–8 °C imediat după utilizare. A nu se utiliza după data expirării indicată pe eticheta produsului. Alte condiții de depozitare decât cele specificate trebuie verificate de către utilizator. Nu există semne evidente care să indice instabilitatea acestui produs, astfel că trebuie rulate controale pozitive și negative simultan cu eșantioanele pacientului.

Pregătirea specimenului

Fixativul recomandat este formalină tamponată neutră 10% pentru secțiunile de țesut încorporate în parafină.

Măsuri de precauție și restricții specifice produsului

O fișă tehnică de securitate a materialului este disponibilă la cerere sau poate fi obținută de pe site-ul LeicaBiosystems.com

Nu amestecați reactivi din sisteme de detecție diferite.

Specimenele, înainte și după fixare, precum și toate materialele expuse la acestea, trebuie manipulate ca și când ar avea potențialul de a transmite infecții și trebuie eliminate luând măsurile de precauție adecvate.⁴

Nu pipetați niciodată reactivi cu gura și evitați contactul reactivilor și specimenelor cu pielea și membranele mucoase. Dacă reactivii sau probele vin în contact cu suprafețele sensibile, spălați cu apă din abundență.

Consultați regulamentele naționale, județene sau locale pentru informații privind eliminarea oricăror componente cu potențial toxic.

Reduceți la minimum contaminarea microbiană a reactivilor, în caz contrar poate apărea o creștere a colorării nespecifice. Timpii sau temperaturile de incubație care diferă de valorile specificate pot genera rezultate eronate. Orice astfel de modificare trebuie validată de către utilizator.

Dacă apare vreun incident grav în legătură cu produsul, utilizatorul trebuie să raporteze incidentul producătorului și autorității competente a statului membru în care utilizatorul are sediul sau domiciliul.

Imunohistochimia este un proces de diagnostic cu mai multe etape, care constă din instruirea specializată în ceea ce privește alegerea reactivilor adecvați; alegerea, fixarea și procesarea țesutului; prepararea lamei IHC; și interpretarea rezultatelor de colorare.

Colorarea tisulară depinde de manipularea și procesarea țesutului înainte de colorare. Fixarea, congelarea, dezghețarea, spălarea, uscarea, încălzirea, secționarea necorespunzătoare sau contaminarea cu alte țesuturi ori fluide pot cauza artefacte, captura anticorpilor sau rezultate fals negative. Rezultatele inconsecvente pot fi atribuite diferențelor în ceea ce privește metodele de fixare și încorporare, ori neregularităților inerente ale țesutului.⁸

Contracolorarea excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea adecvată a rezultatelor.

Interpretarea clinică a oricărei colorări sau a absenței acesteia trebuie completată cu studii morfologice utilizând controale adecvate și trebuie evaluată în contextul antecedentelor clinice ale pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

Produsele Novolink Polymer Detection Systems și componentele acestora sunt pentru utilizare pe secțiuni încorporate în parafină cu cerințe specifice de fixare. Poate apărea exprimarea neașteptată a antigenului, în special în neoplasme. Interpretarea clinică a oricărei secțiuni tisulare colorate trebuie să includă analiza morfologică și evaluarea probelor de control adecvate.

Instrucțiuni de utilizare

Înainte de a aplica această metodologie, utilizatorii trebuie să fie instruiți în ceea ce privește tehnicile imunohistochimice.

Toți pașii trebuie parcurși conform instrucțiunilor. În caz contrar, performanța poate fi afectată.

Combinarea între anticorpii primari, diluția acestuia, împreună cu sistemul de detecție, trebuie validată de utilizator pe o serie de controale pozitive și negative cunoscute.

Dacă nu se indică altfel, toate etapele se efectuează la temperatura camerei (25 °C).

Pentru utilizare pe țesut congelat, tăiați secțiunile și fixați conform recomandărilor pentru anticorpii primari, începând de la pasul 11.

1. Tăiați și montați secțiunile pe lame acoperite cu un adeziv tisular adecvat.
2. Deparafinizați secțiunile în xilen sau substitute de xilen.
3. Rehidratați cu ajutorul alcoolilor cu gradație descrescătoare.
4. Spălați lamele cu apă de la robinet.
5. Realizați recuperarea antigenilor după cum este necesar (a se vedea **Instrucțiunile de utilizare** pentru anticorpii primari).

6. Spălați lamelele în apă deionizată.
7. Neutralizați peroxidaza endogenă utilizând Peroxidase Block timp de 5 minute.
8. Spălați în SSTT timp de 2 x 5 minute.
9. Incubați cu Protein Block timp de 5 minute.
10. Spălați în SSTT timp de 2 x 5 minute.
11. Incubați cu anticorp primar diluat optim (a se vedea **Instrucțiunile de utilizare** pentru anticorpii primari).
12. Spălați în SSTT timp de 2 x 5 minute.
13. Incubați cu Post Primary timp de 30 de minute.
14. Spălați în SSTT timp de 2 x 5 minute.
15. Incubați cu Novolink Polymer timp de 30 de minute.
16. Spălați în soluție tampon TBS timp de 2 x 5 minute, legănând ușor.
17. Dezvoltați activitatea peroxidazei cu soluție de lucru DAB (a se vedea Soluție de lucru DAB) timp de 5 minute.
18. Clătiți lamelele în apă.
19. Contracolorați cu Hematoxylin.
20. Clătiți lamelele în apă timp de 5 minute.
21. Deshidratați, curățați și montați secțiunile.

Soluție de lucru DAB

Adăugați 50 µl de DAB Chromogen în 1 ml de Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Utilizați în maxim șase ore de la preparare.

Caracteristici de performanță

Performanța Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer și Novolink DAB (Polymer) a fost validată utilizând o gamă de anticorpi primari Novocasta IgG șoarece, IgM* șoarece și IgG iepure.

*Se poate vedea o colorație slabă cu unii anticorpi din izotipul IgM.

Aceste produse sunt stabile până la data expirării indicată pe eticheta produsului.

Bibliografie

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. *Pathology International*. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. *Current Diagnostic Pathology*. 2001; 7:161–167.
8. 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. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.

Proprietatea intelectuală

Copyright © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Toate drepturile rezervate. LEICA și logo-ul Leica sunt mărci comerciale înregistrate ale Leica Microsystems IR GmbH din SUA și din numeroase alte țări. BOND și Novocasta sunt mărci comerciale înregistrate ale grupului de companii Leica Biosystems în SUA și opțional în alte țări.

Istoricul modificărilor

Versiune: Data publicării	Detaliile versiunii
6 Mai 2021	<p>Domeniul de utilizare: Actualizarea domeniului de utilizare al dispozitivului, în conformitate cu REGULAMENTUL (UE) 2017/746 Capitolul III 20.4.1.</p> <p>Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate: Actualizare pentru enumerarea materialelor.</p> <p>Măsuri de precauție și restricții specifice produsului: Modificare în titlul secțiunii.</p> <p>Proprietatea intelectuală: Adăugarea unei secțiuni noi, „Proprietatea intelectuală”.</p> <p>Istoricul modificărilor: Adăugarea unei secțiuni noi, „Istoricul modificărilor”.</p>

Versiune/Data publicării

6 Mai 2021

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Продукция №: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Продукция №: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Продукция №: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Продукция №: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Продукция №: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Продукция №: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Продукция №: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Продукция №: RE7230-K

Только для профессионального использования

Предусмотренное применение

Для диагностики *in vitro*.

Системы обнаружения Novolink Polymer Detection Systems предназначены для визуализации первичных антител к иммуноглобулину G мышей, иммуноглобулину M мышей и иммуноглобулину G кроликов. Они предназначены для визуализации срезов фиксированных формалином и залитых в парафин тканей с помощью иммуногистохимического исследования (ИГХ). Novolink Polymer и Novolink DAB (Polymer) являются компонентными реактивами данных систем.

Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями, а надлежащие контроли должны быть оценены квалифицированным патологом с учетом истории болезни пациента и других диагностических тестов.

Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer и Novolink DAB (Polymer) предназначены для использования с другими устройствами для визуализации окрашивания, и поэтому функция качественной или полуколичественной диагностики, включая указание на конкретное заболевание и предусмотренное применение, указана на соответствующей маркировке устройства согласно требованиям к данному устройству.

Принципы проведения испытаний

Первый метод обнаружения на основе иммунопероксидазы был описан Накане и Пирсом.¹ С этого момента появилось множество разработок, которые привели к повышению чувствительности по сравнению с более ранними методами. Недавней разработкой стало использование полимерной маркировки. Эта технология применялась как к первичным антителам², так и к системам обнаружения. В системах обнаружения Novolink Polymer Detection Systems используется новейшая контролируемая технология полимеризации, которая позволяет готовить полимерные конъюгаты антител с HRP-линкером. Следовательно, проблема неспецифического окрашивания, которое может возникать в системе обнаружения стрептавидина/биотина (Streptavidin/Biotin) из-за эндогенного биотина, не возникает.

Эти продукты используются в рамках иммуногистохимической процедуры окрашивания на основе пероксидазы, которая обеспечивает количественное определение методом световой микроскопии антигенов на срезах зафиксированных в формалине и залитых в парафин тканей последовательными этапами с промежуточными процедурами промывки. Если того требует специфика первичных антител, перед окрашиванием срезы подлежат выполнению демаскировки эпитопов. Активность эндогенной пероксидазы нейтрализуют блоком пероксидазы Peroxidase Block. Далее следует процедура применения блока протеинов Novocastra Protein Block с целью снижения неспецифического связывания первичных антител и полимера. В дальнейшем срезы инкубируются с использованием оптимально разведенных первичных антител. Затем для обнаружения антител мыши используется реактив Post Primary (антитела кролика к иммуноглобулину G мыши). Novolink Polymer распознает иммуноглобулины кролика, обнаруживает пост-первичные и любые связанные с тканью первичные антитела кролика. Затем срезы инкубируют субстратом/хромогеном, 3,3'-диаминобензидином (DAB), приготовленным из хромогена DAB и DAB-субстратного буфера Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer), как описано далее. В результате реакции с пероксидазой образуется видимый коричневый осадок на участке антигена. Затем срезы докрашивают гематоксилином (Hematoxylin) и накрывают покровным стеклом. Интерпретацию результатов выполняют под световым микроскопом и используют для дифференциальной диагностики патологических процессов, которые могут быть связаны или не связаны с конкретным антигеном.

Описание реактива

Информация по реактивам из следующего списка, которые поставляются в каждом продукте, представлена в таблице далее.

1. Peroxidase Block. 3–4% (объем/объем) пероксид водорода.
2. Protein Block. 0,4% казеин в фосфатно-солевом буферном растворе в присутствии стабилизаторов, сурфактанта и 0,2% Bronidox L в качестве консерванта.

Реактивы	Номер продукта	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 мл	1 x 25 мл	
Protein Block	RE7102		2 x 25 мл	1 x 25 мл	
Post Primary	RE7111		2 x 25 мл	1 x 25 мл	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 мл	1 x 25 мл	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 мл	1 x 3 мл	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 мл	1 x 30 мл	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 мл	1 x 25 мл	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 мл			
Protein Block	RE7158	1 x 125 мл			
Post Primary	RE7159	1 x 125 мл			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 мл			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 мл			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 мл			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 мл			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 мл
Protein Block	RE7166				1 x 5 мл
Post Primary	RE7167				1 x 5 мл
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 мл
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 мл
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 мл
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 мл

Реактивы	Номер продукта	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 мл		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 мл		
Post Primary	RE7159	1 x 125 мл			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 мл			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 мл
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 мл
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 мл	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 мл	

3. Post Primary. Антитела кролика к иммуноглобулину G мыши (<10 мкг/мл) в трис-солевом буферном растворе, содержащем 10% (o/o) сыворотки животных/0,1% ProClin™ 950.
4. Novolink Polymer. Poly-HRP для связывания IgG антител кролика (<25 мкг/мл), содержащий 10% (o/o) сыворотки животного в трис-солевом буферном растворе/0,1% ProClin™ 950.
5. DAB Chromogen. 1,74% в/о 3,3' - диаминобензидин в растворе стабилизатора.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Буферный раствор, содержащий ≤0,1% перекиси водорода и консерванта.
7. Hematoxylin. <0,1% гематоксилина.

Восстановление, смешивание, разведение, титрование

Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer и Hematoxylin предварительно разбавляют. Восстановление, смешивание, разведение или титрование этих реактивов не рекомендуется. Дальнейшее разведение может привести к потере окрашивания антигена. Любые подобные изменения должны быть валидированы пользователем.

Для хромогена DAB Chromogen перед использованием требуется разведение в соотношении 1/20 в буферном растворе субстрата Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Дальнейшее разведение может привести к потере окрашивания антигена. Любые подобные изменения должны быть валидированы пользователем.

Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

Стандартные растворители, использующиеся в иммуногистохимических исследованиях.

50 mM трис-солевой буферный раствор (TBS), pH 7,6.

Растворы для демаскировки антигена.

Ферментные восстанавливающие растворы.

Разбавитель антител.

Первичные антитела.

Заливочная среда препаратов.

Оборудование, необходимое для демаскировки антигенов, если это рекомендуется для подготовки первичных антител.

Стандартное лабораторное оборудование для иммуногистохимических исследований.

Хранение и стабильность

Хранить при температуре 2–8 °C. Не замораживать. После использования незамедлительно вернуть на хранение при температуре 2–8 °C. Не используйте по истечении срока годности, который указан на маркировке продукции. Условия хранения, отличающиеся от указанных, должны быть верифицированы пользователем. Не существует явных признаков, указывающих на нестабильность данной продукции, поэтому положительные и отрицательные контроли следует подготавливать одновременно с образцами, взятыми у пациента.

Подготовка образцов

Для приготовления залитых в парафин срезов тканей рекомендуется фиксация в 10% нейтральном забуференном формалине.

Меры предосторожности и ограничения, специфичные для этого продукта

Паспорт безопасности химической продукции предоставляется по запросу или доступен на сайте LeicaBiosystems.com

Не смешивайте реактивы, предназначенные для различных систем обнаружения.

С образцами (до и после фиксации) и всеми материалами, на которые они воздействуют, следует обращаться как с потенциально способными к передаче инфекции и утилизировать, соблюдая соответствующие меры предосторожности.⁴

Никогда не набирайте реактивы в пипетку ртом и не допускайте контакта реактивов и образцов с кожей и слизистыми оболочками. В случае контакта реактивов или образцов с чувствительными зонами промойте их большим количеством воды.

По вопросам утилизации любых возможно токсических компонентов выполняйте требования федеральных, региональных или местных нормативных документов.

Сведите к минимуму микробное загрязнение реактивов во избежание усиления неспецифического окрашивания. Инкубация при температуре или продолжительностью, которые отличаются от указанных в инструкции, может дать ошибочные результаты. Любые подобные изменения должны быть валидированы пользователем.

В случае какого-либо серьезного инцидента с продуктом, пользователь должен сообщить об инциденте производителю и компетентному органу государства-члена ЕС, в котором зарегистрирован пользователь.

Имуногистохимическое исследование является многостадийным диагностическим процессом, требующим специальных навыков в выборе надлежащих реактивов; выборе, фиксации и обработке тканей; приготовлении среза с ИГХ препаратом; интерпретации результатов окрашивания.

Окрашивание тканей зависит от обращения с тканями и их обработкой перед окрашиванием. Неправильные процедуры фиксации, замораживания, оттаивания, промывки, сушки, нагрева, приготовления срезов, а также загрязнение другими тканями при жидкостями могут приводить к артефактам, захвату антител или ложноотрицательным результатам. Противоречивые результаты могут быть обусловлены различиями методов фиксации и заливки препарата или присущей тканям внутренней неравномерностью структуры.⁸

Избыточное или неполное контрастное окрашивание может привести к неправильной интерпретации результатов.

Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями с надлежащими контролями и должна быть оценена квалифицированным патологом с учетом анамнеза пациента и других диагностических тестов.

Системы Novolink Polymer Detection Systems и их компоненты предназначены для использования на залитых парафином срезах с особыми требованиями к фиксации. Возможна непредвиденная экспрессия антигена, особенно в опухолях. Клиническая интерпретация любого окрашенного среза ткани должна включать морфологический анализ и оценку соответствующих контролей.

Инструкция по применению

Прежде чем применять эту методику, пользователи должны научиться проводить иммуногистохимические исследования.

Все шаги следует выполнять в соответствии с указаниями, так как производительность может снизиться.

Комбинация первичных антител и их разведение должны быть валидированы пользователем наряду с системой детекции с использованием серий известных положительных и отрицательных контролей.

Если не указано иное, выполняйте все этапы при комнатной температуре (25 °C).

Для использования на замороженной ткани сделайте срезы и зафиксируйте в соответствии с рекомендациями для первичных антител, начните с шага 11.

1. Сделайте срезы и закрепите их на предметных стеклах, покрытых клеем, предназначенным для ткани.
2. Депарафинизируйте срезы, используя ксилол или его заменители.
3. Регидратируйте, используя спирты определенной степени очистки.
4. Промойте препараты проточной водой.
5. Проведите демаскировку антигена в соответствии с требованиями (см. **Инструкции по использованию** первичных антител).
6. Промойте предметные стекла деионизированной водой.
7. В течение 5 минут проводите нейтрализацию эндогенной пероксидазы, используя блок пероксидазы Peroxidase Block.
8. 2 раза по 5 минут промывайте в буферном растворе TBS.
9. В течение 5 минут инкубируйте с использованием блока протеинов Protein Block.
10. 2 раза по 5 минут промывайте в буферном растворе TBS.
11. Инкубируйте с оптимально разведенным первичным антителом (см. **Инструкции по использованию** первичного антитела).
12. 2 раза по 5 минут промывайте в буферном растворе TBS.
13. В течение 30 минут инкубируйте с использованием Post Primary.
14. 2 раза по 5 минут промывайте в буферном растворе TBS.
15. В течение 30 минут инкубируйте с использованием Novolink Polymer.
16. 2 раза по 5 минут промывайте препараты в буферном растворе TBS, осторожно покачивая.
17. Активируйте пероксидазу при помощи рабочего раствора DAB (см. «Рабочий раствор DAB Working Solution») в течение 5 минут.
18. Промойте препараты водой.
19. Выполните контрастирование гематоксилином (Hematoxylin).
20. В течение 5 минут промывайте препараты водой.
21. Дегидратируйте, очистите и закрепите срезы.

Рабочий раствор DAB Working Solution

Добавьте 50 мкл DAB Chromogen в 1 мл Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Используйте в течение шести часов после подготовки.

Эксплуатационные характеристики

Эффективность Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer и Novolink DAB (Polymer) была валидирована при использовании первичных антител Novocastra к иммуноглобулину G мышей, иммуноглобулину M* мышей и иммуноглобулину G кроликов.

*Слабое окрашивание может наблюдаться у некоторых антител изотипа IgM.

Данные препараты остаются стабильными до истечения срока (сроков) годности, указанных на их этикетках.

Список литературы

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. *Pathology International*. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6: 1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadj M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. *Current Diagnostic Pathology*. 2001; 7:161–167.
8. Omata M, Liew CT, Ashcavaï M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: A possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.

Интеллектуальная собственность

Авторские права © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Все права защищены. LEICA и логотип Leica являются зарегистрированными товарными знаками компании Leica Microsystems IR GmbH в США и многих других странах. BOND и Novocastra являются торговыми марками группы компаний Leica Biosystems в США и в ряде случаев в других странах.

История изменений

Редакция: Дата выпуска	Информация о редакции
06 Мая 2021 года	<p>Предусмотренное применение: Обновлено предусмотренное применение устройства в соответствии с РЕГЛАМЕНТОМ (ЕС) 2017/746, главой III 20.4.1.</p> <p>Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки: Обновлен список материалов.</p> <p>Меры предосторожности и ограничения, специфичные для этого продукта: Изменение в названии раздела.</p> <p>Интеллектуальная собственность: Добавление нового раздела «Интеллектуальная собственность».</p> <p>История изменений: Добавление нового раздела «История изменений».</p>

Редакция/Дата выпуска

06 Мая 2021 года

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Nr produktu: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Nr produktu: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Nr produktu: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Nr produktu: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Nr produktu: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Nr produktu: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Nr produktu: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Nr produktu: RE7230-K

Tylko do profesjonalnego użytku

Przeznaczenie

Do diagnostyki *in vitro*.

Systemy Novolink Polymer Detection Systems służą do wizualizacji mysich przeciwciał IgG, mysich przeciwciał IgM i króliczych przeciwciał IgG. Przeznaczone są do wizualizacji celu metodą ręcznej immunohistochemii (IHC) w skrawkach tkanek utrwalonych w formalinie, zatopionych w parafinie. Novolink Polymer oraz Novolink DAB (Polymer) to odczynniki będące częścią tych systemów.

Kliniczną interpretację wybarwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami.

Ocenę powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

Systemy Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer i Novolink DAB (Polymer) są przeznaczone do stosowania z innymi wyrobami do wizualizacji wybarwienia, w związku z czym jakościowa lub półilościowa funkcja diagnostyczna, w tym szczególne wskazanie chorobowe i populacja docelowa, jest opisana na etykiecie wyrobu zgodnie z wymogami dla tego wyrobu.

Zasada badania

Po raz pierwszy technika immunoperoxydazowa została opisana przez Nakanego i Pierce'a.¹ Od tamtej pory nastąpiło wiele zmian, które doprowadziły do zwiększenia czułości w stosunku do wcześniejszych technik. Ostatnim osiągnięciem jest wykorzystanie znakowania polimerowego. Technologia ta została zastosowana zarówno do przeciwciał pierwszorzędowych², jak i systemów detekcji. Novolink Polymer Detection Systems wykorzystują nową technologię kontrolowanej polimerizacji do przygotowania sprężonych przeciwciał zawierających polimeryczny linker HRP. W związku z tym w ich przypadku nie pojawia się problem niespecyficznego barwienia, który może wystąpić w systemach detekcji Streptavidin/Biotin z powodu endogennej biotyny.

Produkty te są stosowane w procedurze immunohistochemicznej (IHC), która pozwala na jakościową identyfikację przy pomocy mikroskopii świetlnej antygenów w skrawkach utrwalonej w formalinie i zatopionej w parafinie tkanki w kolejnych etapach przedzielonych przemywaniem. Jeżeli wymaga tego przeciwciała pierwszorzędowe, przed barwieniem skrawki należy poddać odmaskowywaniu epitopów. Endogenna aktywność peroksydazy jest neutralizowana przy pomocy Peroxidase Block. Następnie stosuje się Novocastra Protein Block w celu zmniejszenia niespecyficznego wiązania przeciwciał pierwszorzędowych i polimerów. Następnie skrawek jest inkubowany przy użyciu optymalnie rozcieńzonego przeciwciała pierwszorzędowego. Następnie używane jest Post Primary (królicze anty-mysz IgG) do wykrywania przeciwciał myszy. Novolink Polymer rozpoznaje immunoglobuliny królicze, wykrywa przeciwciała post-pierwszorzędowe i wszelkie królicze tkankowe przeciwciała pierwszorzędowe. Skrawki są następnie inkubowane przy pomocy substratu-chromogenu 3,3' - diaminobenzyny (DAB), przygotowanego z DAB Chromogen i Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) w sposób opisany poniżej. Produktem reakcji zachodzącej z udziałem peroksydazy jest widoczny brązowy osad w miejscu antygeny. Skrawki wybarwiane są kontrastowo przy pomocy Hematoxylin i przykrywane szkiełkami nakrywkowymi. Wyniki są interpretowane przy użyciu mikroskopu świetlnego i pomagają w diagnostyce różnicowej procesów patofizjologicznych, które mogą mieć związek z określonym antygenem.

Opis odczynnika

Szczegółowe informacje dotyczące odczynników z poniższej listy, które są dołączone do każdego produktu, znajdują się w poniższej tabeli.

1. Peroxidase Block. Nadtlenek wodoru 3–4% (v/v).
2. Protein Block. 0,4% kazeiny w soli fizjologicznej buforowanej fosforanem, ze stabilizatorami, środkiem powierzchniowo czynnym i konserwowanej 0,2% preparatu Bronidox L.
3. Post Primary. Królicze anty-mysz IgG (<10 µg/ml) w 10% (v/v) surowicy zwierzęcej w roztworze soli fizjologicznej buforowanej odczynnikiem Tris/0,1% ProClin™ 950.
4. Novolink Polymer. Anty-króliczy polimer HRP IgG (<25 µg/ml) zawierający 10% (v/v) surowicę zwierzęcą w roztworze soli fizjologicznej buforowanej odczynnikiem Tris i 0,1% ProClin™ 950.
5. DAB Chromogen. 1,74% w/v 3,3' - diaminobenzyna w roztworze stabilizatora.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Roztwór buforowany zawierający ≤0,1% nadtlenu wodoru i środek konserwujący.
7. Hematoxylin. <0,1% Hematoxyliny.

Odczynniki	Numer produktu	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Odczynniki	Numer produktu	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

Dodawanie wody, mieszanie, rozcieńczanie, miareczkowanie

Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer i Hematoxylin są wstępnie rozcieńczone. W przypadku tych odczynników nie jest konieczne dodawanie wody, mieszanie, rozcieńczanie ani miareczkowanie. Dalsze rozcieńczanie może prowadzić do braku możliwości przeprowadzenia barwienia antygenu. Wszelkie zmiany tego typu muszą zostać zweryfikowane przez użytkownika.

Przed użyciem DAB Chromogen wymaga rozcieńczenia do 1/20 w Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Dalsze rozcieńczanie może prowadzić do braku możliwości przeprowadzenia barwienia antygenu. Wszelkie zmiany tego typu muszą zostać zweryfikowane przez użytkownika.

Wymagane materiały niedołączone do zestawu

Standardowe rozpuszczalniki stosowane w immunohistochemii.

50 mM roztworu soli fizjologicznej buforowanego odczynnikiem Tris (TBS) pH 7.6.

Roztwór/Roztwory do odmaskowywania.

Roztwór/Roztwory do odmaskowywania enzymów.

Rozcieńczalnik do przeciwciał.

Przeciwciała pierwszorzędowe.

Środek do zamykania preparatów mikroskopowych.

Sprzęt wymagany do odmaskowywania antygenu, jeśli jest zalecany dla przeciwciała pierwszorzędowego.

Ogólne wyposażenie laboratorium immunohistochemicznego.

Przechowywanie i trwałość

Przechowywać w temperaturze 2–8 °C. Nie zamrażać. Niezwłocznie po użyciu ponownie umieścić w temperaturze 2–8 °C. Nie używać po upływie daty ważności podanej na etykiecie produktu. Przechowywanie w warunkach innych od wskazanych wymaga weryfikacji użytkownika. Nie ma wyraźnych oznak niestabilności tego produktu; w związku z tym kontrole pozytywne i negatywne powinny być prowadzone jednocześnie z badaniem próbek pobranych od pacjenta.

Przygotowanie próbek

Zalecany utrwalaczem jest 10-procentowa obojętna buforowana formalina do zatopionych w parafinie skrawków tkankowych.

Środki ostrożności i szczególne ograniczenia dla produktu

Karta charakterystyki jest udostępniana na żądanie lub można ją pobrać ze strony LeicaBiosystems.com

Nie mieszać odczynników z różnych systemów detekcji.

Próbki przed i po utrwaleniu oraz wszelkie materiały narażone na kontakt z nimi należy traktować jak materiały potencjalnie zakaźne i należy je utylizować z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności.⁴

Podczas pobierania pipetą odczynników nie wolno nigdy zasysać ustami i należy unikać kontaktu odczynników i preparatów ze skórą oraz błonami śluzowymi. W razie kontaktu odczynników lub próbek ze szczególnie narażonymi miejscami przemyć miejsce kontaktu dużą ilością wody.

Wszelkie potencjalnie toksyczne składniki należy utylizować zgodnie z krajowymi lub lokalnymi przepisami.

Chronić odczynniki przed skażeniem drobnoustrojami, ponieważ może ono doprowadzić do zwiększonego barwienia niespecyficznego. W przypadku zastosowania okresów inkubacji i temperatur innych niż podano w instrukcji mogą wystąpić błędne wyniki. Wszelkie zmiany tego typu muszą zostać zweryfikowane przez użytkownika.

W przypadku wystąpienia poważnego incydentu związanego z produktem, użytkownik powinien zgłosić ten incydent producentowi i właściwemu organowi państwa członkowskiego, w którym użytkownik ma siedzibę.

Badanie immunohistochemiczne to wieloetapowy proces diagnostyczny, który wymaga specjalistycznego szkolenia w zakresie doboru odpowiednich odczynników i tkanek, utrwalania i przetwarzania tkanek, przygotowywania preparatów immunohistochemicznych oraz interpretacji wyników barwienia.

Barwienie tkanek zależy od postępowania z tkanką i jej przetwarzania przed barwieniem. Nieprawidłowe utrwalanie, zamrażanie, rozmrażanie, przemywanie, suszenie, podgrzewanie, ścinanie skrawków lub skażenie innymi tkankami lub płynami może powodować artefakty, zatrzymywanie przeciwciał lub wyniki fałszywie negatywne. Niespójność wyników może być spowodowana zastosowaniem różnych metod utrwalania i zatapiania lub przez nieprawidłowości samego materiału tkankowego.⁵

Nadmierne lub niepełne barwienie ujemne może pogarszać interpretację wyników.

Kliniczną interpretację barwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocenę powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

Systemy Novolink Polymer Detection Systems są przeznaczone do skrawków zatopionych w parafinie o określonych wymogach dotyczących utrwalania. Może wystąpić nieoczekiwana ekspresja antygenu, szczególnie w przypadku nowotworów. Interpretacja kliniczna wybarwionych skrawków musi obejmować analizę morfologiczną oraz ocenę przeprowadzoną w ramach odpowiednich kontroli.

Instrukcja stosowania

Przed przystąpieniem do działań w ramach niniejszej metodologii użytkownik powinien zostać przeszkolony w zakresie technik immunohistochemicznych.

Wszystkie czynności muszą być wykonane zgodnie z instrukcją, w przeciwnym razie może dojść do pogorszenia wydajności.

Zastosowanie przeciwciała pierwszorzędowego, jego rozcieńczenia, w systemie detekcji powinny zostać zweryfikowane przez użytkownika w serii stosowanych wcześniej kontroli pozytywnych i negatywnych.

O ile nie wskazano inaczej, wszystkie etapy należy przeprowadzać w temperaturze pokojowej (25 °C).

W przypadku stosowania na zamrożonej tkance pociąć skrawki i utrwalić je zgodnie z zaleceniami dla przeciwciała pierwszorzędowego, rozpoczynając od kroku 11.

1. Ściąć i zamknąć skrawki na preparatach pokrytych odpowiednim klejem tkankowym.
2. Odparafinować skrawki w ksylenu lub zamiennikach ksylenu.
3. Ponownie nawodnić, używając malejącego szeregu alkoholi.

4. Wypłukać preparaty w bieżącej wodzie z kranu.
5. Przeprowadzić odmaskowywanie antygenu zgodnie z wymaganiami (zob. **Instrukcje zastosowania** dla przeciwciała pierwszorzędowego).
6. Przepłukać preparaty w dejonizowanej wodzie.
7. Zneutralizować endogenną peroksydazę, stosując Peroxidase Block przez 5 minut.
8. Przemycić w TBS przez 2 x 5 minut.
9. Inkubować w Protein Block przez 5 minut.
10. Przemycić w TBS przez 2 x 5 minut.
11. Inkubować z optymalnie rozcieńczonym przeciwciałem pierwszorzędowym (zob. **Instrukcja stosowania** dla przeciwciała pierwszorzędowego).
12. Przemycić w TBS przez 2 x 5 minut.
13. Inkubować w Post Primary przez 30 minut.
14. Przemycić w TBS przez 2 x 5 minut.
15. Inkubować w Novolink Polymer przez 30 minut.
16. Przemycić w TBS przez 2 x 5 minut, delikatnie potrząsając.
17. Rozwijać aktywność peroksydazy przy pomocy roztworu roboczego DAB (zob. DAB Working Solution) przez 5 minut.
18. Przepłukać preparaty w wodzie.
19. Przeprowadzić barwienie kontrastowe przy pomocy Hematoxylin.
20. Płukać preparaty w wodzie przez 5 minut.
21. Skrawki odvodnić, oczyścić i zamknąć.

DAB Working Solution

Dodać 50 µl of DAB Chromogen do 1 ml Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Zużyć w ciągu sześciu godzin od przygotowania.

Charakterystyka działania

Skuteczność Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer oraz Novolink DAB (Polymer) została zweryfikowana przy użyciu szeregu przeciwciał mysich IgG, mysich IgM* i króliczych IgG Novocastra.

*Słabe wybarwienie może być widoczne w przypadku niektórych przeciwciał o izotypie IgM.

Produkty zachowują stabilność do upływu dat(y) ważności umieszczonej(-nych) na etykiecie.

Bibliografia

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. Pathology International. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, PA. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. Current Diagnostic Pathology. 2001; 7:161–167.
8. 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. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.

Własność intelektualna

Copyright © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Wszelkie prawa zastrzeżone. LEICA i logo Leica są zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Leica Microsystems IR GmbH w USA i wielu innych krajach. BOND i Novocastra są znakami towarowymi grupy Leica Biosystems w USA i opcjonalnie w innych krajach.

Historia zmian

Zmiana: Data publikacji	Szczegółowy opis zmiany
6 Maja 2021 r.	<p>Przeznaczenie: Aktualizacja przeznaczenia wyrobu, zgodnie z ROZPORZĄDZENIEM (UE) 2017/746 Rozdział III 20.4.1.</p> <p>Wymagane materiały niedołączone do zestawu: Uaktualniona lista materiałów.</p> <p>Środki ostrożności i szczególne ograniczenia dla produktu: Zmiana tytułu rozdziału.</p> <p>Własność intelektualna: Dodanie nowego rozdziału „Własność intelektualna”.</p> <p>Historia zmian: Dodanie nowego rozdziału „Historia zmian”.</p>

Zmiana/Data publikacji

6 Maja 2021 r.

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Kataloška številka: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Kataloška številka: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Kataloška številka: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Kataloška številka: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Kataloška številka: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Kataloška številka: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Kataloška številka: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Kataloška številka: RE7230-K

Samo za strokovno uporabo

Predvidena uporaba

Za diagnostično uporabo *in vitro*.

Sisteme Novolink Polymer Detection Systems se uporablja za vizualizacijo primarnih protiteles za mišji IgG, primarnih protiteles za mišji IgM in primarnih protiteles za kunčji IgG. Predvideni so za ciljno vizualizacijo za ročno imunohistokemijo (IHC) pri rezinah tkiv, vstavljenih v parafin in fiksiranih s formalinom. Novolink Polymer in Novolink DAB (Polymer) sta komponentna reagenta teh sistemov.

Klinično razlago kakršnega koli obarvanja ali njegove odsotnosti morajo dopolnjevati morfološke študije in ustrezni kontrolni vzorci, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

Izdelki Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer in Novolink DAB (Polymer) so predvideni za uporabo z drugimi pripomočki za vizualizacijo obarvanja ter so na podlagi tega kvalitativna ali semikvantitativna diagnostična funkcija, vključno s specifično indikacijo bolezni in populacijo predvidene uporabe, opisana na oznaki povezanega pripomočka, kot je zahtevano za dani pripomoček.

Načelo preskusa

O prvi imunohistološki tehniki s peroksidazo sta poročala Nakane in Pierce¹. Od takrat se je metoda večkrat izboljšala, kar je privedlo do povečane občutljivosti v primerjavi s prejšnjimi tehnikami. Nedavni razvoj predstavlja uporaba polimernega označevanja. Ta tehnologija je uporabljena tako za primarna protitelesa² kot tudi za sisteme za zaznavanje. Izdelek Novolink Polymer Detection Systems uporablja novo tehnologijo nadzorovane polimerizacije za pripravo polimernih konjugatov protiteles s HRP in povezovalnikom. Zato do težave nespecifičnega barvanja, do katerega lahko pride pri sistemih za zaznavanje streptavidina/biotina na podlagi endogenega biotina, ne pride. Te izdelke se uporablja pri imunohistokemijskem postopku (IHC), ki omogoča kvalitativno svetlobno-mikroskopsko identifikacijo antigenov v rezinah tkiva, fiksiranih s formalinom in vstavljenih v parafin, z zaporednimi koraki in vmesnimi koraki izpiranja. Če to zahteva primarno protiteleso, morate na rezinah pred barvanjem izvesti pridobivanje epitopov. Aktivnost endogene peroksidaze nevtralizira blokator Peroxidase Block. Temu sledi uporaba blokatorja Novocastra Protein Block, ki zmanjša nespecifično vezavo primarnih protiteles in polimera. Rezano nato inkubirate z optimalno razredčenim primarnim protitelesom. Post Primary (kunčji protimišji IgG) se nato uporablja za detekcijo mišjih protiteles. Novolink Polymer prepozna kunčje imunoglobuline, zazna postprimarna protitelesa in katera koli kunčja primarna protitelesa, vezana na tkivo. Rezine je treba nato dodatno inkubirati s substratom/kromogenom, 3,3' - diaminobenzidinom (DAB), pripravljenim iz izdelkov DAB Chromogen in Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer), kot je opisano spodaj. Pri reakciji s peroksidazo nastane vidna rjava oborina na mestu antigena. Rezine nasprotno obarvajte z izdelkom Hematoxylin in pokrijite s kromnim stekelcem. Rezultate nato obdelamo s pomočjo svetlobnega mikroskopa in jih uporabimo pri diferencialni diagnozi patološko-fizioloških procesov, ki so morda povezani z določenim antigenom ali pa tudi ne.

Opis reagenta

Podrobnosti o teh reagentih z naslednjega seznama, ki so priloženi posameznim izdelkom, so navedene v spodnji preglednici.

1. Peroxidase Block. 3–4% (v/v) vodikov peroksid.
2. Protein Block. 0,4% kazeina v fiziološki raztopini s fosfatnim pufrom in stabilizatorji, površinsko aktivnim sredstvom in 0,2% Bronidox L kot konzervansom.
3. Post Primary. Kunčje protiteleso proti mišjim IgG (<10 µg/ml) v 10% (v/v) živalskem serumu v fiziološki raztopini s pufrom tris/0,1% konzervansa ProClin™ 950.
4. Novolink Polymer. Protiteleso proti kunčjim protitelesom Poly-HRP-IgG (<25 µg/ml), ki vsebuje 10% (v/v) živalskega seruma v fiziološki raztopini s pufrom tris/0,1% konzervansa ProClin™ 950.
5. DAB Chromogen. 1,74% m/v 3,3' - diaminobenzidin v raztopini stabilizatorja.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Pufrana raztopina, ki vsebuje ≤0,1% vodikovega peroksida in konzervans.
7. Hematoxylin. <0,1% hematoksilin.

Reagenti	Šifra izdelka	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Reagenti	Šifra izdelka	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

Rekonstitucija, mešanje, redčenje, titracija

Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer in Hematoxylin so predhodno razredčeni. Rekonstitucija, mešanje, redčenje ali titracija teh reagentov niso potrebni. Nadaljnje redčenje lahko privede do neobarvanja antigena. Uporabnik mora potrditi vsako takšno spremembo.

Izdelek DAB Chromogen je treba pred uporabo razredčiti v razmerju 1/20 v izdelku Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Nadaljnje redčenje lahko privede do neobarvanja antigena. Uporabnik mora potrditi vsako takšno spremembo.

Potrebni materiali, ki niso priloženi

Standardna topila, ki se uporabljajo v imunohistokemiji.

Fiziološka raztopina s 50 mM pufru tris (TBS) pH 7,6.

Raztopine za pridobivanje antigena.

Raztopine za pridobivanje z encimi.

Redčilo za protitelesa.

Primarno protitelo.

Medij za pritrjevanje.

Oprema, potrebna za odkrivanje antigenov, če je priporočljiva za primarno protitelo.

Splošna oprema za imunohistokemijski laboratorij.

Shranjevanje in stabilnost

Hraniti pri temperaturi 2–8 °C. Ne zamrzujte. Takoj po uporabi ohladite na temperaturo 2–8 °C. Ne uporabite po datumu izteka roka uporabnosti, ki je naveden na oznaki na izdelku. Uporabnik mora potrditi ustreznost pogojev shranjevanja, če se ti razlikujejo od navedenih. Ni očitnih znakov, ki bi nakazovali nestabilnost tega izdelka, zato morate hkrati z vzorci bolnikov testirati tudi pozitivne in negativne kontrole.

Priprava vzorcev

Priporočena fiksna raztopina je 10% formalin v nevtralnem pufru za tkivne rezine, vstavljene v parafin.

Previdnostni ukrepi in specifične omejitve izdelka

Varnostni list je na voljo na zahtevo ali na spletnem mestu LeicaBiosystems.com

Ne mešajte reagentov različnih sistemov za zaznavanje.

Z vzorci, pred fiksiranjem in po njem, in v vseh materialih, s katerimi so prišli v stik, morate rokovati, kot da bi lahko prenašali okužbe, in pri njihovem odstranjevanju upoštevati ustrezne previdnostne ukrepe.⁴

Nikoli ne pipetirajte reagentov z usti. Pazite, da reagenti in vzorci ne pridejo v stik s kožo ali sluznicami. Če reagenti ali vzorci pridejo v stik z občutljivimi deli, jih izperite z obilo vode.

Sledite zveznim, državnim ali lokalnim predpisom za odstranjevanje katerih koli morebitno strupenih sestavin.

Pazite, da ne pride do mikrobné okužbe reagentov, saj lahko povzroči nespecifično barvanje. Če uporabite čas ali temperature inkubacije, ki se razlikujejo od navedenih, lahko pridobite napačne rezultate. Uporabnik mora validirati morebitne spremembe.

Če v zvezi z izdelkom pride do kakršnega koli resnega dogodka, mora uporabnik o zapletu poročati proizvajalcu in pristojnemu organu v državi članici, v kateri ima uporabnik sedež.

Imunohistokemija je diagnostični postopek z več koraki, ki zahteva specializirano usposabljanje za izbiro ustreznih reagentov, izbiro, fiksiranje in obdelavo tkiv, pripravo IHC-preparata in razlago rezultatov obarvanja.

Obarvanje tkiva je odvisno od rokovanja s tkivom in njegove obdelave pred barvanjem. Nepravilno fiksiranje, zamrzovanje, odtajanje, izpiranje, sušenje, segrevanje, rezanje ali okužba z drugimi tkivi ali tekočinami lahko povzroči nastanek artefaktov, lovljenje protitelesa ali lažne negativne rezultate. Nedosledni rezultati so lahko posledica razlik pri metodah fiksiranja in priprave ali pa so del nepravilnosti tkiva samega.⁵

Prekomerno ali nepopolno kontrastno barvanje lahko neugodno vpliva na pravilno razlago rezultatov.

Klinično razlago obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopoljevati morfološke študije ustreznih kontrolnih vzorcev, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

Izdelki Novolink Polymer Detection Systems in njihove komponente so namenjene uporabi pri rezinah, vstavljenih v parafin, s specifičnimi zahtevami za fiksacijo. Lahko pride do nepričakovanega izražanja antigena, zlasti pri neoplazmah. Pri klinični razlagi obarvane rezine tkiva morate upoštevati morfološko analizo in oceno ustreznih kontrol.

Navodila za uporabo

Preden uporabniki začnejo uporabljati to metodologijo, morajo biti usposobljeni za delo z imunohistokemijskimi tehnikami.

Vse korake je treba upoštevati v skladu z navodili, sicer je lahko učinkovitost slabša.

Kombinacijo primarnega protitelesa, njegove redčitve in sistema za zaznavanje mora uporabnik validirati na vrsti znanih pozitivnih in negativnih kontrol.

Vse korake izvajajte pri sobni temperaturi (25 °C), razen če je navedeno drugače.

Za uporabo pri zamrznjenih tkivih režite rezine in jih fiksirajte v skladu s priporočili za primarno protitelo, pri čemer začnite s korakom 11.

1. Odrežite in namestite rezine na objektna stekelca, prevlečena z ustreznim lepilom za tkivo.
2. Odstranite parafin iz rezin s ksilenom ali nadomestkom za ksilen.
3. Rehidrirajte skozi vrsto raztopin alkohola.
4. Izperite preparate pod tekočo vodo.
5. Pridobivanje antigenov izvedite, kot je zahtevano (glejte **navodila za uporabo** primarnega protitelesa).
6. Preparate operite v deionizirani vodi.
7. Nevtralizirajte endogeno peroksidazo z izdelkom Peroxidase Block 5 minut.

8. Izpirajte v TBS 2 X 5 minut.
9. Inkubirajte 5 minut z izdelkom Protein Block.
10. Izpirajte v TBS 2 X 5 minut.
11. Inkubirajte z optimalno razredčenim primarnim protitelesom (glejte **navodila za uporabo** primarnega protitelesa).
12. Izpirajte v TBS 2 X 5 minut.
13. Inkubirajte s Post Primary 30 minut.
14. Izpirajte v TBS 2 X 5 minut.
15. Inkubirajte z Novolink Polymer 30 minut.
16. Izpirajte v pufru TBS 2 x 5 minut in pri tem nežno stresajte.
17. Razvijajte aktivnost peroksidaze z delovno raztopino DAB 5 minut (glejte poglavje Delovna raztopina DAB).
18. Izperite preparate v vodi.
19. Nasprotno obarvajte z izdelkom Hematoxylin.
20. Izpirajte preparate v vodi 5 minut.
21. Dehidrirajte, očistite in pritrdite rezine.

Delovna raztopina DAB

Dodajte 50 µl DAB Chromogen v 1 ml Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Uporabite v šestih urah po pripravi.

Značilnosti učinkovitosti

Učinkovitost izdelkov Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer in Novolink DAB (Polymer) so validirali z nizom primarnih protiteles za mišji IgG, primarnih protiteles za mišji IgM* in primarnih protiteles za kunčji IgG Novocastra.

*Šibko barvanje lahko opazite pri nekaterih izotipih protiteles IgM.

Izdelki so stabilni do datuma izteka roka uporabnosti, ki je natisnjen na oznaki izdelka.

Literatura

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. *Pathology International*. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. *Current Diagnostic Pathology*. 2001; 7:161–167.
8. 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. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.

Intelektualna lastnina

Avtorske pravice © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Vse pravice pridržane. LEICA in logotip družbe Leica sta registrirani blagovni znamki družbe Leica Microsystems IR GmbH v ZDA in številnih drugih državah. BOND in Novocastra sta registrirani blagovni znamki skupine podjetij Leica Biosystems v ZDA in opcijsko v drugih državah.

Zgodovina sprememb

Revizija: Datum izdaje	Podrobnosti o reviziji
6. Maj 2021	<p>Predvidena uporaba: Posodobitev predvidene uporabe pripomočka v skladu s poglavjem III 20.4.1 UREDBE (EU) 2017/746.</p> <p>Potrebni materiali, ki niso priloženi: Posodobitev seznama materialov.</p> <p>Predvidnostni ukrepi in specifične omejitve izdelka: Sprememba naslova poglavja.</p> <p>Intelektualna lastnina: Dodano je bilo novo poglavje »Intelektualna lastnina«.</p> <p>Zgodovina sprememb: Dodano je bilo novo poglavje »Zgodovina sprememb«.</p>

Revizija/Datum izdaje

6. Maj 2021

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Č. výrobku: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Č. výrobku: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Č. výrobku: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Č. výrobku: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Č. výrobku: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Č. výrobku: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Č. výrobku: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Č. výrobku: RE7230-K

Jen pro profesionální uživatele

Zamýšlený účel

Pro diagnostické použití *in vitro*.

Detekční systémy Novolink Polymer Detection Systems jsou určeny k vizualizaci primárních myších IgG, myších IgM a králičích IgG protilátek. Jsou určeny k cílové vizualizaci pomocí ruční imunohistochemie (IHC) v řezech tkáně fixované formalínem a zalité v parafín. Novolink Polymer a Novolink DAB (Polymer) jsou reagenty, které jsou součástí těchto systémů.

Klinickou interpretaci jakéhokoli barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfologickým vyšetřením a použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer a Novolink DAB (Polymer) jsou určeny k použití s dalšími zařízeními pro vizualizaci barvení, kvalitativní či semikvantitativní diagnostická funkce včetně konkrétní indikace onemocnění a populace zamýšleného použití jako takové jsou popsány v rámci značení přidruženého zařízení, jak je u takového zařízení vyžadováno.

Princip testu

První imunoperoxidázovou techniku zveřejnil Nakane a Pierce¹. Od té doby došlo k velkému vývoji, díky kterému se zvýšila senzitivita oproti starším technikám. V nedávné době došlo k vývoji použití polymerového značení. Tato technologie byla použita jak na primární protilátky², tak na detekční systémy. Detekční systémy Novolink Polymer Detection Systems využívají novou technologii kontrolované polymerizace k přípravě polymerického HRP linkeru protilátkových konjugátů. Z tohoto důvodu je problémem nespecifické barvení, které se může objevit při použití detekčních systémů Streptavidin/Biotin, jelikož se zde nevyskytuje endogenní biotin.

Tyto produkty se používají v rámci imunohistochemického (IHC) postupu, který umožňuje kvalitativní identifikaci antigenů světelnou mikroskopii v řezech tkáně fixované formalínem a zalité v parafínu prostřednictvím sekvencí kroků s interponovanými omývacími kroky. Pokud je to požadováno pro primární protilátku, řezy podstoupí před barvením odmaskování epitopu. Aktivita endogenní peroxidázy se neutralizuje pomocí Peroxidase Block. Následuje použití reagentie Novocastra Protein Block za účelem redukce vzniku nespecifických vazeb primárních protilátek a polymeru. Tkáň je postupně inkubována s optimálně zředěnou primární protilátkou. Post Primary (králičí anti-myší IgG) je poté použita k detekci myších protilátek. Novolink Polymer rozpoznává králičí imunoglobuliny, detekuje sekundární a jakékoli králičí primární protilátky navázané na tkáň. Rezy se dále inkubují v substrátu/chromogenu, 3,3' - diaminobenzidinu (DAB), připraveném z roztoku DAB Chromogen a substrátového pufru Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer), jak je popsáno níže. Reakce s peroxidázou vytváří viditelný hnědý precipitát v místě antigenu. Rezy se kontrastně barví produktem Hematoxylin a překryjí se krycím sklíčkem. Výsledky se interpretují ve světelném mikroskopu; jsou pomocnou v diferenciální diagnostice patofyziologických procesů, které mohou, ale nemusí, souviset s příslušným antigenem.

Popis reagentie

Podrobnosti o reagentcích z následujícího seznamu, který je dodáván ke každému produktu, jsou uvedeny v tabulce níže.

1. Peroxidase Block. 3–4% (obj. %) peroxid vodíku.
2. Protein Block. 0,4% kasein ve fosfátém pufovaném fyziologickém roztoku, se stabilizátory, surfaktantem a jako konzervační prostředek obsahující 0,2% Bronidox L.
3. Post Primary. Králičí anti-myší IgG (<10 µg/ml) v 10% (obj. %) zvířecím séru ve fyziologickém roztoku pufovaném roztokem tris-pufro/0,1% ProClin™ 950.
4. Novolink Polymer. Polymer anti-králičí Poly-HRP-IgG (<25 µg/ml) obsahující 10% (obj. %) zvířecí sérum ve tris-pufrovaném fyziologickém roztoku/0,1% ProClin™ 950.
5. DAB Chromogen. 1,74% obj. 3,3' diaminobenzidinu, ve stabilizačním roztoku.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Pufovaný roztok obsahuje ≤0,1% peroxidu vodíku a konzervační prostředek.
7. Hematoxylin. <0,1% Hematoxylin.

Reagencia	Číslo výrobku	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Reagencia	Číslo výrobku	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

Rekonstituce, Míchání, Ředění, Titrace

Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer a Hematoxylin jsou předem naředěny. Rekonstituce, míchání, ředění ani titrace těchto reagensů nejsou doporučeny. Další ředění může vést k ztrátě barvení antigenu. Všechny takové změny musí být uživatelem validovány.

DAB Chromogen vyžaduje před použitím ředění 1/20 v substrátovém pufru Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Další ředění může vést k ztrátě barvení antigenu. Všechny takové změny musí být uživatelem validovány.

Potřebný materiál, který není součástí dodávky

Standardní rozpouštědla používaná v imunohistochemii.

Fyziologický roztok pufovaný 50 mM roztokem tris-pufuru (TBS), pH 7,6.

Odmaskovací roztok (roztoky) pro antigen.

Odmaskovací roztok (roztoky) pro enzym.

Ředící roztok na protilátky.

Primární protilátka.

Fixační médium.

Vybavení požadované k odmaskování antigenu, pokud je doporučen pro primární protilátku.

Obecné vybavení imunohistochemické laboratoře.

Skladování a stabilita

Skladujte při teplotě 2–8 °C. Nezmrazujte. Okamžitě po použití vraťte do prostředí s teplotou 2–8 °C. Nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na štítku výrobku. Podmínky skladování jiné než uvedené musí uživatel validovat. Neexistují zjevné známky, které by indikovaly kontaminaci anebo nestabilitu. Současně s neznámými vzorky je proto u vzorků pacienta třeba provést i hodnocení příslušné pozitivní a negativní tkáňové kontroly.

Příprava vzorku

Fixační roztok doporučený pro řezu tkáně zalité v parafinu je 10% formalin pufovaný na neutrální pH.

Upozornění a omezení specifická pro tento produkt

Bezpečnostní list materiálu je k dispozici na požádání nebo na webu LeicaBiosystems.com

Nemíchejte reagensie z různých detekčních systémů.

Se vzorky, před fixací i po fixaci, a se všemi materiály, které s nimi přišly do kontaktu, je nutno zacházet, jako by mohly přenášet infekci, a zlikvidovat je s použitím příslušných bezpečnostních opatření.⁴

Nikdy reagensie nepipetujte ústy a zabraňte kontaktu reagensií a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagensie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody.

Údaje o likvidaci jakýchkoli potenciálně toxických komponent studujte ve federálních, státních nebo místních nařízeních.

Minimalizujte mikrobiální kontaminaci reagensií, mohlo by dojít ke zvýšené výskytu nespecifického barvení. Inkubační doby nebo teploty jiné než předepsané mohou vést k chybným výsledkům. Všechny takové změny musí být uživatelem validovány.

V případě výskytu závažného nežádoucího účinku v souvislosti s použitím produktu musí uživatel tuto událost nahlásit výrobci a příslušnému orgánu členského státu, ve kterém je uživatel vedený.

Imunohistochemické vyšetření je vícekrokový diagnostický proces, který spočívá ve specializovaném školení ve výběru vhodných reagensií; výběru, fixaci a zpracování tkání; přípravě imunohistochemického sklíčka; a v interpretaci výsledků barvení.

Barvení tkáně závisí na manipulaci s tkání a jejím zpracování před barvením. Nesprávným postupem při fixaci, zmrazení, rozmrazení, omývání, sušení, zahřívání, krájení řezů nebo kontaminací jinými tkáněmi či tekutinami mohou vzniknout artefakty, může dojít k vychytávání protilátek nebo k falešně negativním výsledkům. Nekonzistentní výsledky mohou být důsledkem odchylek ve fixačních metodách a metodách zalití v konzervačním médiu, nebo přirozených odchylek ve tkáni.⁸

Nadměrné nebo nedostatečné kontrastní barvení může narušit správnou interpretaci výsledků.

Klinickou interpretaci jakéhokoliv barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfoloogickým vyšetřením s použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

Detekční systémy Novolink Polymer Detection Systems a jejich komponenty jsou určeny k použití v parafinu se specifickými fixačními požadavky. Může dojít k expresi neočekávaných antigenů, zejména u nádorů. Klinická interpretace jakéhokoliv barveného tkáňového řezu musí zahrnovat morfoloogickou analýzu a zhodnocení příslušných kontrol.

Návod k použití

Než uživatelé přistoupí k této metodice, musí být proškoleni v imunohistochemických technikách.

Musí být dodrženy všechny kroky dle pokynů, jinak může dojít k narušení výkonnosti.

Kombinace primární protilátky, její ředění, společně s detekčním systémem musí uživatel validovat při sérii známých pozitivních a negativních kontrol.

Pokud není uvedeno jinak, provádějí se všechny kroky při pokojové teplotě (25 °C).

Při použití zmrzlé tkáně připravte a zafixujte řezu dle doporučení pro primární protilátku, začněte bodem 11.

1. Řezu nakrájejte a namontujte na podložní sklíčka potažená vhodným tkáňovým lepidlem.
2. Řezu deparafinujte xylenem nebo látkou nahrazující xylen.
3. Rehydratujte alkoholem v odstupňované koncentraci.
4. Sklíčka omyjte tekoucí vodou z vodovodu.
5. Proveďte odmaskování antigenu (viz **Návod k použití** primární protilátky).
6. Sklíčka omyjte deionizovanou vodou.

7. Neutralizujte endogenní peroxidázu pomocí Peroxidase Block po dobu 5 minut.
8. Omývejte v TBS po dobu 2 x 5 minut.
9. Inkubujte s Protein Block po dobu 5 minut.
10. Omývejte v TBS po dobu 2 x 5 minut.
11. Inkubujte v optimálně naředěné primární protilátce (viz **Návod k použití** primární protilátky).
12. Omývejte v TBS po dobu 2 x 5 minut.
13. Inkubujte s Post Primary po dobu 30 minut.
14. Omývejte v TBS po dobu 2 x 5 minut.
15. Inkubujte s Novolink Polymer po dobu 30 minut.
16. Omývejte v pufru TBS po dobu 2 x 5 minut s lehkým kýváním.
17. Pomocí pracovního roztoku 3,3' diaminobenzidín tetrahydrochloridu (DAB) vyvolejte aktivitu peroxidázy (viz DAB Working Solution) po dobu 5 minut.
18. Sklíčka opláchněte ve vodě.
19. Proveďte kontrastní barvení produktem Hematoxylin.
20. Sklíčka oplachujte vodou po dobu 5 minut.
21. Řezy odvodněte, projasněte a namontujte.

DAB Working Solution

Přidejte 50 µl DAB Chromogen do 1 ml substrátového pufru Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Použijte do šesti hodin po přípravě.

Vlastnosti výkonu

Výkonnost Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer a Novolink DAB (Polymer) byla validována pomocí řady primárních myších IgG, myších IgM* a králíčích IgG protilátek Novocastra.

*U některých protilátek typu IgM může dojít ke slabšímu zbarvení.

Tyto produkty jsou stabilní až do datumu expirace uvedeného na štítcích výrobků.

Literatura

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. *Pathology International*. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, PA. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. *Current Diagnostic Pathology*. 2001; 7:161–167.
8. 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. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.

Duševní vlastnictví

Copyright © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Všechna práva vyhrazena. LEICA a Leica Logo jsou registrované značky společností Leica Microsystems IR GmbH v USA mnoha dalších zemích. BOND a Novocastra jsou registrované značky skupiny podniků Leica Biosystems v USA a volitelně v dalších zemích.

Historie změn

Revize: Datum vydání	Detail revize
06 Května 2021	<p>Zamýšlený účel: Aktualizace zamýšleného účelu zařízení v souladu s NAŘÍZENÍM (EU) 2017/746 kapitola III 20.4.1.</p> <p>Potřebný materiál, který není součástí dodávky: Aktualizováno v seznamu materiálů.</p> <p>Upozornění a omezení specifická pro tento produkt: Změna nadpisu sekce.</p> <p>Duševní vlastnictví: Doplněno o nový bod: „Duševní vlastnictví“.</p> <p>Historie změn: Doplněno o nový bod: „Historie změn“.</p>

Revize/Datum vydání

06 Května 2021

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Č. produktu: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Č. produktu: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Č. produktu: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Č. produktu: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Č. produktu: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Č. produktu: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Č. produktu: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Č. produktu: RE7230-K

Len na profesionálne použitie

Zamýšľané použitie

Na diagnostické použitie *in vitro*.

Novolink Polymer Detection Systems sú určené na vizualizáciu primárnych protilátok myších IgG, myších IgM a králičích IgG primárnych protilátok. Sú určené na cieľovú vizualizáciu prostredníctvom manuálnej imunohistochemie (IHC) v rezoch tkaniva fixovaného formalínom, zaliateho v parafíne. Novolink Polymer a Novolink DAB (Polymer) sú zložkové činidlá týchto systémov.

Klinická interpretácia akéhokoľvek zafarbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými vyšetreniami a príslušné kontroly je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a ďalších diagnostických testov vedených kvalifikovaným patológom. Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer a Novolink DAB (Polymer) sú určené na použitie s inými zariadeniami pre vizualizáciu farbenia a ako také, kvalitatívna alebo semi-kvantitatívna diagnostická funkcia vrátane indikácie špecifického ochorenia a populácia zamýšľaného použitia je opísaná v rámci príslušného značenia na zariadení ako sa požaduje pre dané zariadenie.

Princíp testu

Prvú techniku použitím imunohistoperoxidázy zverejnili Nakane a Pierce.¹ Odvtedy bolo vyvinutých mnoho ďalších techník, ktoré oproti predchádzajúcim technikám viedli k zvýšenej citlivosti. Nedávny vývoj predstavuje použitie polymérneho značenia. Táto technika bola aplikovaná na primárne protilátky² ako aj na detekčné systémy. V systémoch Novolink Polymer Detection Systems sa využíva nová technológia riadenej polymerizácie na prípravu konjugátov protilátky s mostikom polymérovej HRP. Preto môže vzniknúť problém nespecifického zafarbenia so Streptavidin/Biotin detekčnými systémami z dôvodu neprítomného endogénneho biotínu.

Tieto produkty sa používajú pri imunohistochemických (IHC) postupoch, čo umožňuje kvalitatívnu identifikáciu prostredníctvom svetelnej mikroskopie antigénov v rezoch tkaniva zaliateho do parafínu a fixovaného formalínom postupnými krokmi a medzikrokmi umývania. Ak si to primárna protilátka vyžaduje, jednotlivé rezy sa pred zafarbením vystavia záchytu epitopov. Aktivity endogénnej peroxidázy je neutralizovaná použitím Peroxidase Block. Nasleduje použitie prípravku Novocastra Protein Block na redukciu nespecifickej väzby primárnej protilátky a polyméru. Tento rez sa následne inkubuje s optimálne zriedenou primárnou protilátkou. Post Primary (Králičia anti-myšia IgG) sa následne použije na detekciu myších protilátok. Novolink Polymer rozpoznáva králičie imunoglobulíny, deteguje post primárne a akékoľvek králičie primárne protilátky viazané na tkanivo. Rezy sa ďalej inkubujú použitím substrátu/chromogénu, 3,3' - diaminobenzidínu (DAB), pripraveného z prípravkov DAB Chromogen a Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer), podľa opisu nižšie. Reakcia s peroxidázou vytvára viditeľnú hnedú zrazeninu na mieste epitopu. Rezy sa kontrastne zafarbia použitím prípravku Hematoxylin a zakryjú krycím sklíčkom. Výsledky sa interpretujú pomocou svetelného mikroskopu a napomáhajú pri diferenciálnej diagnostike patofyziologických procesov, ktoré môžu, ale nemusia byť spojené s určitým antigénom.

Opis činidla

Podrobné údaje o tom, ktoré činidlá z uvedeného zoznamu sú dodávané ku každému produktu, sú uvedené v tabuľke nižšie.

1. Peroxidase Block. 3–4% (v/v) peroxid vodíka.
2. Protein Block. 0,4% kazeín v roztoku chloridu sodného pufrovaného fosfátom, so stabilizátormi, surfaktantom a 0,2% Bronidoxom L ako konzervačnou látkou.
3. Post Primary. Králičia protilátka proti myšiemu IgG (<10 µg/ml) v 10% (v/v) zvieracom sére v tris-pufrovanom fyziologickom roztoku/0,1% prípravku ProClin™ 950.
4. Novolink Polymer. Králičia protilátka Poly-HRP-IgG (<25 µg/ml) s obsahom 10% (v/v) zvieracieho séra v tris-pufrovanom fyziologickom roztoku/0,1% prípravku ProClin™ 950.
5. DAB Chromogen. 1,74% w/v 3,3' - diaminobenzidín v roztoku stabilizátora.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Pufrovaný roztok s obsahom ≤0,1% peroxidu vodíka a konzervačného prípravku.
7. Hematoxylin. <0,1% Hematoxylin.

Činidlá	Číslo produktu	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Činidlá	Číslo produktu	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

Rekonštitúcia, Miešanie, Riedenie, Titrácia

Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer a Hematoxylin sú predriedené. Rekonštitúcia, miešanie, riedenie ani titrácia týchto činidiel sa neodporúčajú. Ďalšie zriedenie môže viesť k strate antigénového zafarbenia. Každú takúto zmenu musí validovať používateľ.

DAB Chromogen vyžaduje pred použitím zriedenie 1/20 s prípravkom Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Ďalšie zriedenie môže viesť k strate antigénového zafarbenia. Každú takúto zmenu musí validovať používateľ.

Požadovaný nedodaný materiál

Štandardné rozpúšťadlá používané v imunohistochemii.

50 mM tris-pufrovaný fyziologický roztok (TBS), pH 7,6.

Antigénový záchytný roztok (roztoky).

Enzymatický záchytný roztok (roztoky).

Zriedovadlo protilátok.

Primárna protilátka.

Upevňovacie médium.

Vybavenie potrebné na záchyt antigénu, ak sa odporúča pre primárnu protilátku.

Všeobecné vybavenie imunohistochemického laboratória.

Ukladanie a stabilita

Skladujte pri teplote 2–8 °C. Nezmrazujte. Okamžite po použití vráťte do teploty 2–8 °C. Nepoužívajte po uplynutí dátumu expirácie uvedeného na štítku produktu. Iné než uvedené podmienky skladovania si vyžadujú validáciu používateľom. Neexistujú evidentné známky signalizujúce nestabilitu tohto produktu, s patientskymi vzorkami sa preto musia súbežne testovať pozitívne aj negatívne kontroly.

Príprava vzorky

Odporúčaný fixačný prípravok je 10% neutrálny pufrovaný formalín pre bločky tkaniva zaliate do parafínu.

Preventívne opatrenia a špecifické obmedzenia pre tento výrobok

Materiály bezpečnostný list je k dispozícii na požiadanie alebo dostupný na stránkach LeicaBiosystems.com

Nemiešajte činidlá z rôznych detekčných systémov.

So vzorkami pred fixáciou a po nej a všetkými materiálmi, ktoré s nimi prišli do kontaktu, je nutné manipulovať ako s potenciálne infekčnými a zlikvidovať ich pri dodržaní zodpovedajúcich bezpečnostných opatrení.⁴

Činidlá nikdy nepipetujte ústami a zabráňte kontaktu činidiel a vzoriek s kožou a sliznicami. Ak sa činidlá alebo vzorky dostanú do kontaktu s citlivými oblasťami, umyte ich veľkým množstvom vody.

Likvidáciu prípadných potenciálne toxických súčastí definujú federálne, štátne alebo miestne predpisy.

Minimalizujte mikrobiálnu kontamináciu činidiel. V opačnom prípade môže dôjsť k zvýšeniu nespecifického zafarbenia. Nedodržanie predpísaných inkubačných dób alebo teplôt môže viesť k nesprávnym výsledkom. Všetky takéto zmeny si vyžadujú validáciu používateľom.

V prípade, že sa vyskytne vážna nehoda súvisiaca s produktom, používateľ má nehodu nahlásiť výrobcovi a kompetentnému úradu členského štátu, v ktorom má používateľ sídlo.

Imunohistochemia je diagnostický postup pozostávajúci z viacerých krokov, ktorý si vyžaduje špecializované zaškolenie vo výbere zodpovedajúcich činidiel, výbere tkanív, fixácie a spracovania, príprave IHC sklíčka a interpretácii výsledkov farbenia.

Farbenie tkaniva závisí od manipulácie s tkanivom a od jeho spracovania pred farbením. Nesprávna fixácia, zmrazovanie, rozmrazovanie, premyvanie, sušenie, ohrievanie, rezanie alebo kontaminácia inými tkanivami či tekutinami môžu viesť k vzniku artefaktov, záchytu protilátok alebo falošne negatívnym výsledkom. Inkonzistentné výsledky môžu byť spôsobené zmenami metód fixácie a montáže preparátov alebo inherentnými nepravidłnosťami v tkanive.⁸

Nadmerné alebo neúplné kontrastné farbenie môže narušiť správnosť interpretácie výsledkov.

Klinická interpretácia akéhokoľvek farbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými vyšetreniami za použitia zodpovedajúcich kontrol. Výsledky je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a iných diagnostických testov vedených kvalifikovaným patológom.

Systémy Novolink Polymer Detection Systems a ich komponenty sú na použitie na rezoch zaliatých do parafínu so špecifickými požiadavkami na fixáciu. Najmä pri neopláziách môže dôjsť k nečakanej expresii antigénov. Klinická interpretácia akýchkoľvek farbených tkanivových rezov musí zahŕňať morfológickú analýzu a vyhodnotenie zodpovedajúcich kontrol.

Návod na použitie

Používateľia musia byť vyškolení v oblasti imunohistochemických techník skôr, než pristúpia k tejto metóde.

Je nutné dodržať všetky nariadené kroky, v opačnom prípade môže byť výkon narušený.

Používateľ musí validovať kombináciu primárnej protilátka a jej riedenia spolu s detekčným systémom na rade známych pozitívnych a negatívnych kontrol.

AK nie je uvedené inak, všetky kroky sa vykonávajú pri izbovej teplote (25 °C).

Pre použite na zamrazenom tkanive, narežte rezy a zafixujte ich podľa odporúčaní pre primárne protilátka, počnúc krokom 11.

1. Rezy narežte a upevnite na sklíčka pokryté vhodnou vrstvou tkanivového lepidla.
2. Rezy deparafinizujte v xyléne alebo substitútoch xylénu.
3. Reehydratujte pomocou odstupňovaných alkoholov.
4. Sklíčka umyte pod tečúcou vodou z vodovodu.
5. Podľa potreby vykonajte antigénový záchyt (pozri **Návod na použitie** pre primárnu protilátku).
6. Sklíčka umyte v deionizovanej vode.

7. Pomocou prípravku Peroxidase Block neutralizujte endogénnu peroxidázu po dobu 5 minút.
8. Premyte v TBS 2-krát po 5 minút.
9. Inkubujte s Protein Block po dobu 5 minút.
10. Premyte v TBS 2-krát po 5 minút.
11. Inkubujte s optimálne zriedenou primárnou protilátkou (pozri **Návod na použitie** pre primárnu protilátku).
12. Premyte v TBS 2-krát po 5 minút.
13. Inkubujte s Post Primary po dobu 30 minút.
14. Premyte v TBS 2-krát po 5 minút.
15. Inkubujte s Novolink Polymer po dobu 30 minút.
16. Premyte v prípravku TBS 2-krát po 5 minút pri miernom premiešavaní.
17. Vyviňte aktivitu peroxidázy s pracovným roztokom DAB (pozrite si časť Pracovný roztok DAB) na 5 minút.
18. Sklíčka opláchnite vo vode.
19. Kontrastne zafarbíte prípravkom Hematoxylin.
20. Sklíčka 5 minút oplachujte vo vode.
21. Dehydratujte, očistite a upevnite rezy.

Pracovný roztok DAB

Pridajte 50 µl DAB Chromogen ku 1 ml Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Použite do šiestich hodín od prípravy.

Parametre výkonu

Výkonnosť prípravkov Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer a Novolink DAB (Polymer) bola overená použitím série primárnych protilátok Novocastra myších IgG, myších IgM* a králičích IgG.

*Slabé zafarbenie je možné pozorovať s niektorými protilátkami IgM izotypu.

Tieto produkty sú stabilné do dátumu expirácie, ktorý je uvedený na štítku produktu.

Literatúra

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. *Pathology International*. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. *Current Diagnostic Pathology*. 2001; 7:161–167.
8. 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. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.

Duševné vlastníctvo

Copyright © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Všetky práva vyhradené. LEICA a Leica Logo sú registrované značky Leica Microsystems IR GmbH v USA a mnohých iných krajinách. BOND a Novocastra sú registrované značky skupiny spoločností Leica Biosystems v USA a voliteľne v iných krajinách.

Zmeniť históriu

Revízia: Dátum vydania	Detail revízie
06. Mája 2021	<p>Zamýšľané použitie: Aktualizácia zamýšľaného použitia zariadenia v súlade s NARIADENÍM (EU) 2017/746 Kapitola III 20.4.1.</p> <p>Požadované nedodané materiály: Aktualizované na zozname materiálov.</p> <p>Preventívne opatrenia a špecifické obmedzenia pre tento výrobok: Zmena v názve sekcie.</p> <p>Duševné vlastníctvo: Pridanie novej sekcie „Duševné vlastníctvo“.</p> <p>Zmeniť históriu: Pridanie novej sekcie „Zmeniť históriu“.</p>

Revízia/Dátum vydania

06. Mája 2021

Novocastra Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

رقم المنتج: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

رقم المنتج: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

رقم المنتج: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

رقم المنتج: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

رقم المنتج: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

رقم المنتج: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

رقم المنتج: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

رقم المنتج: RE7230-K

للاستخدام المهني فقط

الغرض المنشود

للاستخدام في المختبر لغرض التشخيص

تستخدم Novolink Polymer Detection Systems لإظهار الأجسام المضادة الأولية للغلوبولين المناعي IgG (سليبي) لدى الفئران، والأجسام المضادة الأولية للغلوبولين المناعي IgM (إيجاني) لدى الفئران والأجسام المضادة للغلوبولين المناعي IgG (سليبي) لدى الأرانب. وتهدف إلى إظهار الهدف عن طريق إجراءات كيمياء علم الأنسجة المناعية (IHC) في قطاعات من النسيج المثبت بالفورمالين، والمضمن في البارافين. تعتبر Novolink Polymer (Novolink DAB (Polymer) من الكواشف المكونة لهذه الأنظمة. ينبغي أن يستكمل التفسير السريري لوجود أي تلوّخ أو غيابه من خلال الدراسات المورفولوجية والوضاوب الصحيحة، وينبغي تقييم ذلك في سياق التاريخ السريري للمريض وغيره من الاختبارات التشخيصية التي يجريها أخصائي مؤهل في علم الأمراض.

تم تصميم Novolink Polymer Detection Systems، Novolink Polymer و Novolink DAB (Polymer) خصيصًا ليتم استخدامها مع الأجهزة الأخرى لتصوير التلوّخ، وعلى هذا النحو، يتم وصف وظيفة التشخيص النوعي أو شبه الكمي بما في ذلك دلالة المرض المحددة ومجموعة الاستعمال المستهدف ضمن تصنيف الجهاز المرتبط كما هو مطلوب لهذا الجهاز.

مبدأ الاختبار

تم الإبلاغ عن أول تقنية من البيروكسيداز المناعي من قبل ناكاتي وبيرس¹ منذ ذلك الحين حدثت العديد من التطورات التي أدت إلى زيادة الحساسية مقارنة بالتقنيات السابقة. كان التطور الأخير هو استخدام العلامات البوليمرية. تم تطبيق هذه التقنية على كل من الأجسام المضادة الأولية وأنظمة الكشف. تستخدم Novolink Polymer Detection Systems تقنية بلمرة جديدة خاضعة للتحكم من أجل تحضير فاراتن الأجسام المضادة لارتباط HRP البلمري. لذلك، لا تحدث مشكلة التلوّخ غير المحدد الذي يمكن أن يحدث مع أنظمة الكشف عن Streptavidin/البيوتين بسبب البيوتين الداخلي.

تستخدم هذه المنتجات في إجراءات كيمياء علم الأنسجة المناعية (IHC)، والتي تسمح بالتحديد النوعي عن طريق الحوص المجهرية الضوئية للمستضدات في قطاعات من النسيج المثبت بالفورمالين، والمضمن في البارافين، عبر خطوات متسلسلة مع خطوات غسل متداخلة. إذا كان مطلوبًا من قبل الجسم المضاد الأولي، فإن القطاعات تخضع لاسترجاع الحوامت قبل تلوّخها. يتم تحييد نشاط البيروكسيداز الذاتي باستخدام Peroxidase Block. يتبع ذلك تطبيق Novocastra Protein Block لتقليل الارتباط غير النوعي للأجسام المضادة الأولية والبوليمر. يتم احتضان القطاع لاحقًا باستخدام الجسم المضاد الأولي المخفف بالشكل الأمثل. بعد ذلك يتم استخدام Post Primary (الغلوبولين المناعي IgG لدى الأرانب المضاد للفئران) للكشف عن الأجسام المضادة لدى الفئران. يتعرف Novolink Polymer على الغلوبولين المناعي للأرانب، ويكتشف الأجسام المضادة في المرحلة الانتدائية والأجسام المضادة الأولية المرتبطة بالأنسجة. يتم تحضين القطاعات أيضًا باستخدام العازل/مؤدّ اللون، '3,3' - ثنائي أمينو البنزدين (DAB)، الذي يتم تحضيره من DAB Chromogen و Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). كما هو موضح أدناه، ينتج التفاعل المخفف بواسطة البيروكسيداز راسبًا بنيًا في مكان المستضد. تتم مقارنة القطاعات باستخدام Hematoxylin والمنزلة للغطاء. يتم تفسير النتائج باستخدام مجهر ضوئي والمساعدة في التشخيص التفصيلي للعمليات الفسيولوجية المرضية، والتي قد تكون مرتبطة أو غير مرتبطة بمستضد معين.

وصف الكاشف

وترد تفاصيل تلك الكواشف من القائمة التالية التي يتم توفيرها في كل منتج في الجدول أدناه.

1. Peroxidase Block. 3-4% (النسبة المئوية الجمجمية) بيروكسيد الهيدروجين.
2. Protein Block. 0.4%. من بروتين الكازين في محلول فوسفات ملحي مخفف مع مثبّات وخافض للتوتر السطحي و 0.2% من مركب برونوبندكس ل كمامة حافظة.
3. Post Primary. غلوبولين مناعي IgG لدى الأرانب مضاد للفئران (>10 ميكروغرام/مل) في 10% (النسبة المئوية الجمجمية) من مصّل الحيوان في محلول ملحي ثلاثي مخفف 950/0.1 ProCin™.
4. Novolink Polymer. مضاد للغلوبولين المناعي Poly-HRP-IgG لدى الأرانب (>25 ميكروغرام/مل) بنسبة 10% (النسبة المئوية الجمجمية) من مصّل الحيوان في محلول ملحي ثلاثي مخفف 950/0.1 ProCin™.
5. DAB Chromogen. 3,3' - ثنائي أمينو البنزدين بتركيز 1.74% كنسبة مئوية للوزن، في محلول موازن.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). محلول مخفف يحتوي على 0.12% من بيروكسيد الهيدروجين والمواد الحافظة.
7. Hematoxylin 0.1% > Hematoxylin.

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	رقم المنتج	الكواشف
	مل 25 × 1	مل 25 × 2		RE7101	Peroxidase Block
	مل 25 × 1	مل 25 × 2		RE7102	Protein Block
	مل 25 × 1	مل 25 × 2		RE7111	Post Primary
	مل 25 × 1	مل 25 × 2		RE7112	Novolink Polymer
	مل 3 × 1	مل 3 × 1		RE7105	DAB Chromogen
	مل 30 × 1	مل 30 × 2		RE7143	Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)
	مل 25 × 1	مل 25 × 2		RE7107	Hematoxylin
			مل 125 × 1	RE7157	Peroxidase Block
			مل 125 × 1	RE7158	Protein Block
			مل 125 × 1	RE7159	Post Primary
			مل 125 × 1	RE7161	Novolink Polymer
			مل 8 × 1	RE7162	DAB Chromogen
			مل 150 × 1	RE7163	Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)
			مل 125 × 1	RE7164	Hematoxylin
مل 5 × 1				RE7165	Peroxidase Block
مل 5 × 1				RE7166	Protein Block
مل 5 × 1				RE7167	Post Primary
مل 5 × 1				RE7168	Novolink Polymer
مل 1 × 1				RE7169	DAB Chromogen
مل 5 × 1				RE7171	Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)
مل 5 × 1				RE7172	Hematoxylin

Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	رقم المنتج	الكواشف
		مل 25 × 1		RE7111	Post Primary
		مل 25 × 1		RE7112	Novolink Polymer
			مل 125 × 1	RE7159	Post Primary
			مل 125 × 1	RE7161	Novolink Polymer
مل 3 × 1				RE7105	DAB Chromogen
مل 30 × 1				RE7143	Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)
	مل 8 × 1			RE7162	DAB Chromogen
	مل 150 × 1			RE7163	Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)

إعادة التشكيل، الخلط، التخفيف، المعايرة

يتم تخفيف Protein Block و Peroxidase Block و Novolink Polymer و Post Primary و Hematoxylin. لا يُوصى بإعادة تشكيل هذه الكواشف، أو خلطها، أو تخفيفها، أو معايرتها. قد يؤدي المزيد من التخفيف إلى فقدان تطيخ المستضد. يجب على المستخدم التحقق من صحة أي تغيير من هذا القبيل.

يتطلب DAB Chromogen التخفيف إلى نسبة 20/1 في Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) قبل الاستخدام. قد يؤدي المزيد من التخفيف إلى فقدان تطيخ المستضد. يجب على المستخدم التحقق من صحة أي تغيير من هذا القبيل.

المواد المطلوبة لكنها غير متوفرة

المحاليل القياسية المستخدمة في الكيمياء الهستولوجية المناعية.

50 ملي مولار في محلول ملحي ثلاثي مخفف (TBS) بأس هيدروجيني (pH) يبلغ 7.6.

محلول (محاليل) استرجاع المستضد.

محلول (محاليل) استرجاع الإنزيم.

مخفف الجسم المضاد.

الجسم المضاد الأولي.

وسيط الإرساء.

المعدات المطلوبة لاسترجاع المستضد، إذا كان يُوصى بها للجسم المضاد الأساسي.

معدات مختبرات الكيمياء الهستولوجية المناعية العامة.

التخزين والاستقرار

يُخزن في درجة حرارة 8-2 درجة مئوية. يجب عدم تجميده. أعد درجة الحرارة إلى 2-8 درجة مئوية بعد الاستعمال مباشرة. لا يُستعمل بعد تاريخ انتهاء الصلاحية المدون على ملصق المنتج. يجب التحقق من ظروف التخزين بخلاف تلك المحددة من قبل المستخدم. لا توجد علامات واضحة تشير إلى عدم استقرار هذا المنتج، لذلك يجب تشغيل الضوابط الإيجابية والسلبية في وقت واحد مع عينات المرضى.

تحضير العينة

المادة المثبتة المُوصى بها هي الفورمالين 10% حيادي التنظيم لأقسام الأنسجة المضمنة في البارافين.

الاحتياطات والقيود الخاصة بالمنتج

تتوفر صحيفة بيانات سلامة المواد عند الطلب أو تتوفر على موقع LeicaBiosystems.com

لا تخطئ الكواشف الناتجة من أنظمة كشف مختلفة.

ينبغي التعامل مع العينات، قبل التثبيت وبعده، وكذلك مع جميع المواد التي تتعرض لها كما ولو كانت قادرة على نقل العدوى، وينبغي التخلص منها مع اتخاذ الاحتياطات السليمة.⁴

لا تلمس الكواشف مطلقاً عن طريق الفم، وتجنب احتكاك الجلد والأغشية المخاطية بالكواشف والعينات. إذا كانت الكواشف والعينات تحتك بمناطق حساسة، فعليك بغسل هذه المناطق بكميات وفيرة من الماء.

راجع اللوائح الفيدرالية، أو لوائح الولاية، أو اللوائح المحلية للتخلص من أي مكونات سامة محتملة.

قلل التلوث الميكروبي للكواشف وإلا قد تحدث زيادة في التطيخ غير المحدد. قد تؤدي أوقات الحضانة أو درجات الحرارة بخلاف تلك الظروف المحددة إلى الحصول على نتائج خاطئة. أي تغيير كهذا يجب التحقق منه من جانب المستخدم.

في حالة وقوع أي حادث خطير يتعلق بالمنتج، يجب على المستخدم إبلاغ الشركة المصنعة والسلطة المختصة في الدولة العضو التي يقطن فيها المستخدم بالحدث.

الكيمياء الهستولوجية المناعية هي عملية تشخيصية متعددة الخطوات تتكون من تدريب متخصص في اختيار الكواشف المناسبة؛ اختيار الأنسجة، والتثبيت، والمعالجة؛ إعداد شريحة IHC؛ وتفسير نتائج التطيخ.

يعتمد تطيخ الأنسجة على معالجة الأنسجة وإعدادها قبل التطيخ. قد يؤدي التجميد، أو الذوبان، أو الغسيل، أو التخفيف، أو التسخين، أو التثبيت غير السليم أو التلوث مع الأنسجة أو الوسائل الأخرى إلى إنتاج نتائج ضاعى، أو حاسب للأجسام المضادة، أو نتائج سلبية زائفة. قد تكون هناك نتائج غير متوقعة بسبب الاختلافات في أساليب التثبيت والتضمين أو إلى إحداث مخالفات متأصلة داخل الأنسجة⁸

قد يضر تضاد التطيخ المفرط أو غير المكتمل بالتفسير الصحيح للنتائج.

ينبغي أن يُستكمل التفسير السريري لوجود أي تطيخ أو غيابه من خلال الدراسات المورفولوجية والضوابط الصحية، وينبغي تقييم ذلك في سياق التاريخ السريري للمريض وغيره من الاختبارات التشخيصية التي تجريها أخصائي مؤهل في علم الأمراض.

تُستخدم Novolink Polymer Detection Systems ومكوناتها في الطعاعات المضمنة في البارافين مع متطلبات تثبيت محددة. قد يحدث تعبير عن مستضد غير متوقع، خاصةً في الأورام. يجب أن يشمل التفسير السريري لأي قسم نسيج ملتحخ التحليل المورفولوجي وتقييم الضوابط المناسبة.

إرشادات الاستعمال

قبل تنفيذ هذه المنهجية، يجب تدريب المستخدمين على التقنيات الكيميائية السليمة المناعية.

يجب اتباع جميع الخطوات حسب التوجيهات وإلا فقد يضعف الأداء.

يجب أن يتم التحقق من صحة تركيبة الجسم المضاد الأولي، وتخفيفه، جنباً إلى جنب مع نظام الكشف من قبل المستخدم في سلسلة من الضوابط الإيجابية والسلبية المعروفة.

ما لم تتم الإشارة إليه، يتم تنفيذ جميع الخطوات في درجة حرارة الغرفة (25 درجة مئوية).

لاستخدام على الأنسجة المتجمدة، قم بقص القطاعات ثم إصلاحها وفقاً للتوصيات الخاصة بالأجسام المضادة الأولية، ابدأ في الخطوة 11.

1. تقطيع المقاطع وتثبيتها على الشرائح المغلفة بمادة لاصقة مناسبة للأنسجة.

2. إزالة جزء من البارافينات في الزيلين أو بدائل الزيلين.

3. إعادة الهدرجة من خلال الكحول المتردد.

4. غسل الشرائح في مياه صنبور جارية.

5. قم بإجراء استرجاع المستضد كما هو مطلوب (انظر تعليمات الاستخدام للأجسام المضادة الأولية).

6. اغسل الشرائح في الماء غير المتأين.

7. قم بتحميد البيروكسيداز الذاتي باستخدام Peroxidase Block لمدة 5 دقائق.

8. اغسل TBS لمدة 5 × 2 دقائق.

9. قم بوضعها الحضانة مع Protein Block لمدة 5 دقائق.

10. اغسل TBS لمدة 5 × 2 دقائق.

11. قم بوضعها مع الجسم المضاد الأولي المخفف على النحو الأمثل (انظر تعليمات الاستخدام للأجسام المضادة الأولية).

12. اغسل TBS لمدة 5 × 2 دقائق.

13. قم بوضعها في الحضانة مع Post Primary لمدة 30 دقيقة.

14. اغسل TBS لمدة 5 × 2 دقائق.

15. قم بوضعها في الحضانة مع Novolink Polymer لمدة 30 دقيقة.

16. اغسل TBS لمدة 5 × 2 دقائق مع الرج اللطيف.

17. طور نشاط البيروكسيداز باستخدام المحلول العملي DAB (انظر المحلول العملي DAB) لمدة 5 دقائق.

18. قم بشطف الشرائح في الماء.

19. قم بإجراء تضاد تلوين باستخدام Hematoxylin.

20. قم بشطف الشرائح في الماء لمدة 5 دقائق.

21. قم بتجفيف الأقسام، وتنظيفها، وتركيبها.

المحلول العملي DAB

قم بإضافة 50 ميكرو لتر من DAB Chromogen إلى 1 مل من Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). استخدمه في غضون ست ساعات من التحضير.

خصائص الأداء

تم التحقق من صحة أداء Novolink Polymer Detection Systems، و Novolink Polymer و Novolink DAB (Polymer) باستخدام مجموعة من الأجسام المضادة الأولية IgM و Novocastra IgG لدى القران و IgG لدى الأرانب.

* يمكن ملاحظة وجود تلوين ضعيف مع بعض الأجسام المضادة لممثال IgM.

تكون هذه المنتجات مستقرة حتى تاريخ (تواريخ) انتهاء الصلاحية المطبوع على ملصق المنتج.

قائمة المراجع

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. Pathology International. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. Current Diagnostic Pathology. 2001; 7:161–167.
8. 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. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.

الملكية الفكرية

حقوق النشر © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd محفوظة. الاسم التجاري والشعار الخاصان بشركة LEICA هما علامتان تجاريتان مسجلتان لصالح شركة Leica Microsystems IR GmbH شركة ذات مسؤولية محدودة في الولايات المتحدة والعديد من الدول الأخرى. BOND و Novocastra هما علامتان تجاريتان مسجلتان لصالح مجموعة شركات Leica Biosystems في الولايات المتحدة الأمريكية ودول أخرى.

تاريخ التغيير

تفاصيل المراجعة	المراجعة/ تاريخ الإصدار
الغرض المنشود: تحديث للغرض المنشود من الجهاز، وفقاً للبيد (الاتحاد الأوروبي) 2017/746 الفصل الثالث 4.1.20. المواد المطلوبة لكنها غير متوفرة: المواد التي تم تحديث القائمة بها. الاحتياطات والقيود الخاصة بالمنتج: عنوان التغيير الذي طرأ على القسم. الملكية الفكرية: إضافة قسم "الملكية الفكرية" الجديد. تاريخ التغيير: إضافة قسم "تاريخ التغيير" الجديد.	06 مايو 2021

المراجعة/تاريخ الإصدار

06 مايو 2021

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Broj proizvoda: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Broj proizvoda: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Broj proizvoda: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Broj proizvoda: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Broj proizvoda: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Broj proizvoda: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Broj proizvoda: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Broj proizvoda: RE7230-K

Samo za profesionalnu upotrebu

Namena

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.

Sistemi Novolink Polymer Detection Systems se koriste za vizuelizaciju mišjih IgG, mišjih IgM i zečjih IgG primarnih antitela. Namenjeni su za ciljnu vizuelizaciju manuelnom imunohistohemijom (IHC) u delovima tkiva fiksiranog u formalinu i utopljenog u parafin. Novolink Polymer i Novolink DAB (Polymer) sastavni su reagensi ovih sistema.

Kliničko tumačenje bilo kog bojenja ili njegovo odsustvo treba da bude dopunjeno morfološkim studijama i pravim kontrolama, a kvalifikovani patolog treba da ga proceni u kontekstu kliničke istorije pacijenta i drugih dijagnostičkih testova.

Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer i Novolink DAB (Polymer) namenjeni su za korišćenje sa drugim uređajima za vizuelizaciju bojenja, te je kao kvalitetivna ili polukvantitativna dijagnostička funkcija, uključujući indikaciju specifičnih bolesti i populaciju predviđene upotrebe, opisana na odgovarajućoj zahtevanoj oznaci uređaja.

Princip testa

Nakane i Pirs su pisali o prvoj tehnici imunohistoperioksidaze.¹ Od tada je došlo do brojnih otkrića koja su dovela do povećanja osetljivosti u odnosu na ranije tehnologije. Novije otkriće je korišćenje polimerskog označavanja. Ova tehnologija se primenjuje i na primarna antitela i na² sisteme detekcije. Sistemi Novolink Polymer Detection Systems koriste novu tehnologiju kontrolisane polimerizacije za pripremu konjugata antitela polimernog linkera HRP. Tako ne dolazi do problema nespecifičnog bojenja na sistemima detekcije Streptavidin/Biotin usled endogenog biotina.

Ovi proizvodi se koriste u imunohistohemijskoj (IHC) proceduri koja omogućava kvalitetivnu identifikaciju antigena svetlosnom mikroskopijom u presecima tkiva utopljenog u parafin i fiksiranog u formalinu, u sekvencijalnim koracima sa međukoracima ispiranja. Ako primarno antitelo to zahteva, preseci se podvrgavaju demaskiranju epitopa pre bojenja. Aktivnost endogene peroksidaze se neutrališe sredstvom Peroxidase Block. Zatim sledi primena sredstva Novocastra Protein Block kako bi se smanjilo nespecifično vezivanje primarnog antitela i polimera. Presek se zatim podvrgava inkubaciji uz optimalno razređeno primarno antitelo. Sredstvo Post Primary (zečji antiimišji IgG) se zatim koristi za detekciju antitela miša. Novolink Polymer prepoznaje imunoglobuline zeca, detektuje postprimarno i svako primarno antitelo zeca vezano tkivom. Inkubacija preseka se dalje vrši supstratom/hromogenom, 3,3' – diaminobenzidinom (DAB) koji se priprema iz sredstava DAB Chromogen i Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) kao što je opisano u nastavku. Reakcija sa peroksidazom proizvodi vidljivi smeđi talog na lokaciji antigena. Preseci se zatim kontrastno boje sredstvom Hematoxylin i prekrivaju prozirnim klizačem. Rezultati se tumače pomoću svetlosnog mikroskopa i pomažu pri diferencijalnoj dijagnostici patofizioloških procesa, koji su možda povezani sa određenim antigenom.

Opis reagensa

Detalji o reagensima iz liste u nastavku koji se isporučuju sa svakim proizvodom su navedeni u tabeli u nastavku.

1. Peroxidase Block. 3–4% (v/v) vodonik-peroksid.
2. Protein Block. 0,4% kasein u fiziološkom rastvoru puferovanom fosfatom, sa stabilizatorima, surfaktantom i 0,2% Bronidox L kao konzervansom.
3. Post Primary. Zečji i antiimišji IgG (<10 µg/mL) u 10% (v/v) životinjskom serumu u Tris puferovanom fiziološkom rastvoru/0,1% ProClin™ 950.
4. Novolink Polymer. Anti-zečji Poli-HRP-IgG (<25 µg/mL) koji sadrži 10% (v/v) životinjskog seruma u Tris puferovanom fiziološkom rastvoru/0,1% ProClin™ 950.
5. DAB Chromogen. 1,74% w/v 3,3' - diaminobenzidin, u rastvoru stabilizatora.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Puferovani rastvor koji sadrži ≤0,1% hidrogen peroksida i konzervans.
7. Hematoxylin. <0,1% Hematoxylin.

Reagensi	Broj proizvoda	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Reagensi	Broj proizvoda	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

Rekonstitucija, Mešanje, Razređivanje, Titracija

Sredstva Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer i Hematoxylin su prethodno razblažena. Rekonstitucija, mešanje, razblaživanje ili titracija ovih reagensa se ne preporučuju. Dalje razblaživanje može da dovede do gubitka bojenja antigena. Korisnik mora da validira svaku takvu promenu.

DAB Chromogen zahteva razblaživanje do 1/20 u sredstvu Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) pre upotrebe. Dalje razblaživanje može da dovede do gubitka bojenja antigena. Korisnik mora da validira svaku takvu promenu.

Potrebni materijali koji se ne isporučuju

Standardni rastvarači koji se koriste u imunohistohemiji.

50 mM tris puferovan fiziološki rastvor (TBS) pH 7,6.

Rastvor(i) za demaskiranje antigena.

Rastvori za demaskiranje enzima.

Diluent za antitela.

Primarno antitelo.

Medijum za zasađivanje.

Oprema koja je neophodna za demaskiranje antigena ako je to preporučeno za primarno antitelo.

Opšta laboratorijska oprema za imunohistohemiju.

Sklađištenje i stabilnost

Čuvajte na 2–8 °C. Nemojte da zamrzavate. Vratite na 2–8 °C odmah nakon upotrebe. Nemojte da koristite nakon datuma isteka roka upotrebe navedenog na oznaci proizvoda. Korisnik mora da verifikuje uslove skladištenja koji se razlikuju od navedenih. Ne postoje očigledni znaci koji bi ukazali na nestabilnost ovog proizvoda, pa se pozitivne i negativne kontrole moraju obrađivati istovremeno kad i uzorci pacijenta.

Priprema uzoraka

Preporučeni fiksativ je 10% neutralni puferovani formalin za preseke tkiva utopljene u parafin.

Mere predostrožnosti i ograničenja koja se odnose na proizvod

Bezbednosni list je dostupan na zahtev ili na stranici LeicaBiosystems.com

Nemojte da mešate reagens iz različitih sistema detekcije.

Uzorcima, pre i posle fiksiranja, i svim materijalima koji su njima izloženi, treba rukovati kao da mogu da prenesu infekciju i treba ih odlagati uz odgovarajuće mere predostrožnosti.⁴

Nikada nemojte da pipetirate reagens ustima i izbegavajte da reagensi ili uzorci dođu u dodir sa kožom i sluzokožom. Ukoliko reagensi ili uzorci dođu u dodir sa osetljivim delovima, dobro isperite obilnom količinom vode.

Za odlaganje svih potencijalno toksičnih komponenti, pogledajte savezne, državne ili lokalne propise.

Može doći do minimalne mikrobne kontaminacije reagensa ili pojačanog nespecifičnog bojenja. Vremena inkubacije ili temperature koje se razlikuju od navedenih mogu dati pogrešne rezultate. Svaku takvu promenu mora da validira korisnik.

Ukoliko dođe do ozbiljnog incidenta u vezi sa proizvodom, korisnik treba da prijavi incident proizvođaču i nadležnom organu države članice u kojoj je korisnik registrovan.

Imunohistohemija je dijagnostički proces od više koraka koji se sastoji od specijalizovane obuke u odabiru odgovarajućih reagensa, odabira, fiksacije i obrade tkiva, pripreme slajda IHC i tumačenja rezultata bojenja.

Bojenje tkiva zavisi od rukovanja tkivom i obrade tkiva pre bojenja. Nepravilna fiksacija, zamrzavanje, odmrzavanje, pranje, sušenje, zagrevanje, pravljenje preseka ili kontaminacija drugim tkivima ili fluidima može da dovede do pojave artefakta, zarobljavanja antitela ili lažno negativnih rezultata. Nedosledni rezultati mogu biti rezultat varijacija u metodama fiksacije i utapanja ili inherentnih nepravilnosti u tkivu.⁵

Preterano ili nedovoljno kontrastno bojenje može da ugrozi pravilno tumačenje rezultata.

Kliničko tumačenje bilo kog bojenja ili njegovo odsustvo treba da bude dopunjeno morfološkim studijama u kojima se koriste prave kontrole, a kvalifikovani patolog treba da ga proceni u kontekstu kliničke istorije pacijenta i drugih dijagnostičkih testova.

Sistemi Novolink Polymer Detection Systems i njihove komponente namenjeni su za upotrebu na presecima utopljenim u parafin uz specifične zahteve u pogledu fiksacije. Može da dođe do neočekivane ekspresije antigena, posebno u neoplazmi. Kliničko tumačenje svakog preseka obojenog tkiva mora da obuhvata morfološku analizu i procenu odgovarajućih kontrola.

Uputstvo za upotrebu

Pre sprovođenja ove metodologije korisnici moraju da prođu obuku za imunohistohemijske tehnike.

Moraju se pratiti svi navedeni koraci. U suprotnom, učinak može biti smanjen.

Kombinaciju primarnog antitela, njegovog razređenog oblika, zajedno sa sistemom detekcije mora da potvrdi korisnik na nizu poznatih pozitivnih i negativnih kontrola.

Ako nije drugačije navedeno, svi koraci se obavljaju na sobnoj temperaturi (25 °C).

Kod upotrebe na smrznutom tkivu, isecite preseke i fiksirajte ih u skladu s preporukama za primarno antitelo, počnite od koraka 11.

1. Isecite preseke i zasadi ih na slajdove premazane adekvatnim lepljivim sredstvom za tkiva.
2. Uklonite parafin sa preseka ksilenom ili zamenom za ksilen.
3. Rehidrirajte pomoću alkohola sa gradacijskim koncentracijama.
4. Isperite slajdove pod tekućom vodom sa česme.
5. Izvršite demaskiranje antigena po potrebi (primarno antitelo potražite u odeljku **Uputstvo za upotrebu**).
6. Isperite slajdove u dejonizovanoj vodi.

7. Neutrališite endogenu peroksidazu pomoću sredstva Peroxidase Block tokom 5 minuta.
8. Ispirajte u TBS sredstvu 2 x 5 minuta.
9. Vršite inkubaciju sredstvom Protein Block u trajanju od 5 minuta.
10. Ispirajte u TBS sredstvu 2 x 5 minuta.
11. Vršite inkubaciju optimalno razblaženim antitelom (pogledajte **Uputstvo za upotrebu** za primarno antitelo).
12. Ispirajte u TBS sredstvu 2 x 5 minuta.
13. Vršite inkubaciju sredstvom Post Primary u trajanju od 30 minuta.
14. Ispirajte u TBS sredstvu 2 x 5 minuta.
15. Vršite inkubaciju sredstvom Novolink Polymer u trajanju od 30 minuta.
16. Ispirajte u TBS sredstvu 2 x 5 minuta uz nežno ljuhanje.
17. Razvijajte aktivnost peroksidaze DAB radnim rastvorom (pogledajte DAB Radni rastvor) u trajanju od 5 minuta.
18. Isperite slajdove vodom.
19. Kontrastno obojite sredstvom Hematoxylin.
20. Ispirajte slajdove vodom 5 minuta.
21. Dehidrirajte, očistite i zasadite preseke.

DAB radni rastvor

Dodajte 50 µl sredstva DAB Chromogen u 1 ml sredstva Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Upotrebite u roku od šest sati od pripreme.

Karakteristike

Učinak sredstava Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer i Novolink DAB (Polymer) je proveren korišćenjem više Novocastra mišjih IgG, mišjih IgM i zečjih IgG primarnih antitela.

*Može se primetiti slaba obojenost kod nekih antitela IgM izotipa.

Ovi proizvodi su stabilni sve do datuma isteka roka upotrebe koji su odštampani na oznaci proizvoda.

Bibliografija

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. Pathology International. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. Current Diagnostic Pathology. 2001; 7:161–167.
8. 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. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.

Intelektualna svojina

Copyright © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Sva prava zadržana. LEICA i Leica logotip su registrovani zaštitni znaci kompanije Leica Microsystems IR GmbH u SAD i mnogim drugim zemljama. BOND i Novocastra su registrovani zaštitni znaci grupe kompanija Leica Biosystems u SAD i alternativno u drugim zemljama.

Prethodne promene

Revizija: Datum izdavanja	Detalji revizije
6. Maj 2021.	<p>Namena: Ažuriranje namene uređaja u skladu sa UREDBOM (EU) 2017/746, poglavlje III 20.4.1.</p> <p>Potrebni materijali koji se ne isporučuju: Ažurirano radi navođenja materijala.</p> <p>Mere predostrožnosti i ograničenja koja se odnose na proizvod: Promena naslova odeljka.</p> <p>Intelektualna svojina: Dodavanje novog odeljka „Intelektualna svojina“.</p> <p>Prethodne promene: Dodavanje novog odeljka „Prethodne promene“.</p>

Revizija/Datum izdavanja

6. Maj 2021.

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Produkta nr.: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Produkta nr.: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Produkta nr.: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Produkta nr.: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Produkta nr.: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Produkta nr.: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Produkta nr.: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Produkta nr.: RE7230-K

Tikai profesionālai lietošanai

Paredzētais nolūks

Lietošanai *in vitro* diagnostikā.

Novolink Polymer Detection Systems izmanto peles IgG, peles IgM un truša IgG primāro antivielu vizualizācijai. Tos ir paredzēts izmantot manuālās imūnhistoķīmijas (IHĶ) mērķa vizualizācijai uz formalnā fiksētu, parafinā ieguldītu audu sekcijām. Novolink Polymer un Novolink DAB (Polymer) ir šo sistēmu komponentu reaģenti.

Jebkāda krāsojuma vai tā trūkuma klīniskais skaidrojums jāsaģatavo, izmantojot morfoloģisko izpēti un atbilstošas kontroles, kā arī tas ir jānovērtē kvalificētam patologam, ņemot vērā arī pacienta slimības vēsturi un citas diagnostiskās pārbaudes.

Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer un Novolink DAB (Polymer) ir paredzēti lietošanai kopā ar citām ierīcēm, lai vizualizētu iekrāsojumu un tādējādi veiktu kvalitatīvas vai puskvantitatīvas diagnostikas funkciju, ieskaitot specifisku slimību indikācijas, un paredzētā populācija ir aprakstīta attiecīgās ierīces marķējumā, kā noteikts konkrētajai ierīcei.

Testa princips

Par pirmo imūnhistoperoxidāzes metodi ziņoja Nakans (Nakane) un Pierce (Pirs).¹ Kopš tā laika ir veikti vairāki jaunatklājumi, kā rezultātā ir iegūta palielināts jutīgums, ja salīdzina ar iepriekšējām metodēm. Pēdējais jaunatklājums ir polimēru marķējuma izmantošana. Šī metode ir izmantota gan primārajām antivielām², gan noteikšanas sistēmām. Novolink Polymer Detection Systems izmanto jaunu kontrolētu polimerizācijas metodi polimēra HPR saistvielas antivielas konjugātu sagatavošanai. Tāpēc nerodas nespecifiskas iekrāsojuma problēma, kas var rasties ar Streptavidin/Biotin noteikšanas sistēmām endogēnu biotīna dēļ.

Šie produkti tiek izmantoti imūnhistoķīmijas (IHĶ) procedūrās, kurās ir iespējams veikt kvalitatīvo identifikāciju un antigēnu gaismas mikroskopiju formalnā fiksētu, parafinā ieguldītu audu sekcijās, veicot seģijas darbības ar starpposmā izpildītām mazgāšanas darbībām. Ja nepieciešams primārajai antivielai, pirms iekrāsošanas sekcijas var pakļaut epitopu izgūšanai. Endogēnu peroksidāzes aktivitāte tiek neitralizēta, izmantojot Peroxidase Block. Pēc tam lieto Novocastra Protein Block, lai samazinātu primāro antivielu un polimēru nespecifisko saistīšanos. Sekcija pēc tam tiek inkubēta ar optimāli atšķaidītu primāro antivielu. Post Primary (truša pret peles IgG) pēc tam lieto, lai noteiktu peles antivielas. Novolink Polymer atpazīst truša imūnglobulīnus, nosaka postprimāro un jebkādu audu saistīto truša primāro antivielu. Pēc tam sekcijas tiek inkubētas ar substrātu/hromogēnu, 3,3' - diaminobenzidīnu (DAB), ko pagatavo no DAB Chromogen un Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer), kā aprakstīts tālāk. Peroksidāzes reakcijā iegūst redzamas brūnas nogulsnes antigēnu vietā. Sekcijas tiek papildus iekrāšotas ar Hematoxylin un pārklātas ar stiklīņu. Rezultāti tiek interpretēti, izmantojot gaismas mikroskopu, un tie palīdz patofizioloģisko procesu diferencēldiagnostikai, ko var vai nevar saistīt ar konkrētu antigēnu.

Reaģenta apraksts

Tabulā tālāk ir sniegta informācija par šiem reaģentiem, kas tiek piegādāti ar katru produktu.

1. Peroxidase Block. 3–4% (v/v) ūdeņraža peroksīds.
2. Protein Block. 0,4% kazeīns fosfātu fizioloģiskajā buferšķīdumā ar stabilizētājiem, virsmaktīvo vielu un 0,2% Bronidox L kā konservantu.
3. Post Primary. Truša pretpeles IgG (<10 µg/ml) 10% (v/v) dzīvnieku serumā un trīsbufferētā fizioloģiskajā šķīdumā/0,1% ProClin™ 950.
4. Novolink Polymer. Prettruša poli HRP IgG (<25 µg/ml), kas satur 10% (v/v) dzīvnieku serumā trīsbufferētā fizioloģiskajā šķīdumā/0,1% ProClin™ 950.
5. DAB Chromogen. 1,74% tilpumprocenti 3,3' - diaminobenzidīna stabilizētāja šķīdumā.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Bufersšķīdums, kas satur ≤0,1% ūdeņraža peroksīda un konservantu.
7. Hematoxylin. <0,1% hematoksilīns.

Reagenti	Produkta numurs	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 x 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 x 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 x 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 x 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 x 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 x 5 ml
Protein Block	RE7166				1 x 5 ml
Post Primary	RE7167				1 x 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 x 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 x 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 x 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 x 5 ml

Reagenti	Produkta numurs	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 x 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 x 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 x 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 x 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 x 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 x 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 x 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 x 150 ml	

Sagatavošana, Jaukšana, Atšķaidīšana, Titrēšana

Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer un Hematoxylin ir iepriekš atšķaidīts. Šiem reaģentiem nav ieteicama sagatavošana lietošana, sajaukšana, atšķaidīšana vai titrēšana. Lielāka atšķaidīšana varētu izraisīt antigēna iekrāsojuma zudumu. Lietotājam jāpārbauda jebkādas šādas izmaiņas.

DAB Chromogen pirms lietošanas ir jāatšķaida attiecībā 1/20 ar Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Lielāka atšķaidīšana varētu izraisīt antigēna iekrāsojuma zudumu. Lietotājam jāpārbauda jebkādas šādas izmaiņas.

Nepieciešamie materiāli, kas nav iekļauti

Imūnhistoķīmijā izmantotie standarta šķīdinātāji.

50 mM trisbuferēts fizioloģiskais šķīdums (TBS), pH 7,6.

Antigēnu izgūšanas šķīdums(-mi).

Enzīmu izgūšanas šķīdums(-mi).

Antivielu atšķaidītājs.

Primārā antivielas.

Buferšķīdums.

Antigēnu izgūšanai nepieciešamais aprīkojums, ja ieteicams primārajai antivielai.

Universāls imūnhistoķīmijas laboratorijas aprīkojums.

Uzglabāšana un stabilitāte

Uzglabājiet 2–8 °C temperatūrā. Nesasaldējiet. Pēc izmantošanas nekavējoties novietojiet atpakā 2–8 °C temperatūrā. Nelietojiet pēc produkta uzlīmē norādītā derīguma termiņa beigu datumu. Lietotājam pašam ir jāpārliecinās par uzglabāšanas apstākļiem, kas atšķiras no norādītajiem. Šim produktam nav acīmredzamu nestabilitātes pazīmju, tāpēc vienlaikus ar pacientu paraugu apstrādi ir jāveic pozitīvā un negatīvā kontrole.

Parauga sagatavošana

Ieteicamais fiksējošais līdzeklis ir 10% neitrāli buferēts formalīns parafinā ieguldītu audu sekcijām.

Piesardzības pasākumi un produktam specifiski ierobežojumi

Materiālu drošības datu lapa ir pieejama pēc pieprasījuma vai ir pieejama vietnē LeicaBiosystems.com

Nesajauciet kopā reaģentus no dažādām noteikšanas sistēmām.

Darbības ar paraugiem pirms un pēc fiksācijas un to ietekmētajiem materiāliem ir jāveic tā, it kā tie varētu pārnēsāt infekciju, un no tiem ir jāatbrīvojas, ievērojot pienācīgus drošības pasākumus⁴.

Nekādā gadījumā neņemiet pipetē reaģentus, izmantojot muti, kā arī izvairieties no ādas un gļotu membrānu saskarsmes ar reaģentiem vai paraugiem. Ja reaģenti vai paraugi nonāk saskarsmē ar jutīgām zonām, nomazgājiet tās ar lielu daudzumu ūdens.

Informāciju par atbrīvošanu no jebkādiem potenciāli bīstamiem komponentiem skatiet federālajos, valsts vai vietējos tiesību aktos.

Maksimāli samaziniet reaģentu bakteriālo piesārņojumu, jo pretējā gadījumā var rasties nespecifisks iekrāsojums. Ja tiek izmantotas šeit nenorādīts inkubācijas laiks vai temperatūra, var tikt iegūti kļūdaini rezultāti. Jebkādas šādas izmaiņas ir jāapstiprina lietotājam.

Ja saistībā ar produktu notiek jebkāds nopietns starpgadījums, lietotājam par to ir jāziņo ražotājam un tās dalībvalsts kompetentajai iestādei, kurā lietotājs atrodas.

Imūnhistoķīmija ir vairāku posmu diagnostisks process, kuram nepieciešama īpaša apmācība par atbilstoša reaģenta izvēli, audu izvēli, fiksāciju un apstrādi, IHĶ stiklīņu sagatavošanu un iekrāsojuma rezultātu skaidrošanu.

Audu iekrāsojums ir atkarīgs no tā, kā audi pirms iekrāsošanas ir lietoti un apstrādāti. Nepareiza fiksācija, sasaldēšana, atkausēšana, mazgāšana, žāvēšana, uzskarsēšana, sadalīšana vai piesārņošana ar citiem audiem vai šķīdumiem var radīt artefaktus, antivielu aizķeršanos vai nepatiesi negatīvus rezultātus. Pretrunīgi rezultāti var veidoties fiksācijas un ieguldināšanas metožu izmaiņu vai audiem piemītošu neregularitāšu dēļ.⁸

Pārmērīga vai nepilnīga kontrasta krāsvielas lietošana var apgrūtināt pareizu rezultātu skaidrojumu.

Jebkāda iekrāsojuma vai tā trūkuma klīnisko skaidrojumu jāsaņem ar morfoloģiskās izpētes palīdzību, izmantojot atbilstošas kontroles, un tas jāvērtē kvalificētam patoloģam, ņemot vērā arī pacienta slimības vēsturi un citas diagnostiskās pārbaudes.

Novolink Polymer Detection Systems un tā komponenti ir paredzēti lietošanai uz parafinā ieguldītu audu sekcijām ar konkrētām fiksācijas prasībām. Iespējama neparedzēta antigēnu ekspresijas rašanās, it īpaši neoplazmās. Jebkuras iekrāsotās audu sekcijas klīniskajā interpretācijā ir jāveic morfoloģiskā analīze un jānovērtē atbilstošās kontroles.

Lietošanas norādījumi

Pirms šīs metodoloģijas izmantošanas lietotāji ir jāapmāca imūnhistoķīmijas metodēs.

Visas darbības ir jāizpilda, kā norādīts, vai citādi veiktspēja var tikt ietekmēta.

Primārās antivielas, tās atšķaidījuma kombinācija kopā ar noteikšanas sistēmu ir jāapstiprina lietotājam pie zināmu pozitīvo un negatīvo kontroļu sērijas.

Ja nav norādīts citādi, visas darbības tiek veiktas istabas temperatūrā (25 °C).

Lietošanai uz sasaldētiem audiem sagrieziet sekcijas un fiksējiet tās atbilstoši ieteikumiem par primāro antivielu; turpiniet ar 11. darbību.

1. Sagrieziet un novietojiet sekcijas uz stiklīņiem, kas pārklāti ar piemērotu audu līmvielu.
2. Veiciet sekciju atparafinēšanu ksilolā vai ksilola aizstājējos.
3. Rehidrējiet, izmantojot paaugstinātas koncentrācijas spirtā.
4. Mazgājiet stiklīņus tekošā krāna ūdenī.
5. Pēc nepieciešamības veiciet antigēnu izgūšanu (skatiet primārās antivielas **lietošanas norādījumus**).
6. Mazgājiet stiklīņus dejonizētā ūdenī.

7. 5 minūtes neitralizējiet endogēna peroksidāzi, izmantojot Peroxidase Block.
8. Mazgājiet trīsbufferētā fizioloģiskā šķīdumā (TBS) 2 reizes pa 5 minūtēm.
9. Inkubējiet ar Protein Block 5 minūtes.
10. Mazgājiet trīsbufferētā fizioloģiskā šķīdumā (TBS) 2 reizes pa 5 minūtēm.
11. Inkubējiet ar optimāli atšķaidītu primāro antivielu (skatiet primārās antivielas **lietošanas norādījumus**).
12. Mazgājiet trīsbufferētā fizioloģiskā šķīdumā (TBS) 2 reizes pa 5 minūtēm.
13. Inkubējiet ar Post Primary 30 minūtes.
14. Mazgājiet trīsbufferētā fizioloģiskā šķīdumā (TBS) 2 reizes pa 5 minūtēm.
15. Inkubējiet ar Novolink Polymer 30 minūtes.
16. Mazgājiet trīsbufferētā fizioloģiskā šķīdumā (TBS) 2 reizes pa 5 minūtēm, saudzīgi pakratot.
17. Ierosiniet peroksidāzes aktivitāti ar DAB darba šķīdumu (skatiet šeit: DAB darba šķīdums) uz 5 minūtēm.
18. Skalojiet stikliņus ūdenī.
19. Papildus iekrāsojiet ar Hematoxylin.
20. Skalojiet stikliņus ūdenī 5 minūtes.
21. Dehidrējiet, attīriet un novietojiet sekcijas.

DAB darba šķīdums

Pievienojiet 50 µl DAB Chromogen 1 ml Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Izlietojiet sešu stundu laikā pēc sagatavošanas.

Darbības rādītāji

Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer un Novolink DAB (Polymer) veikspēja ir apstiprināta, izmantojot Novocastra peles IgG, peles IgM un truša IgG primāro antivielu klāstu.

*Vājš iekrāsojums var tikt novērots ar dažām IgM izotipa antivielām.

Šie produkti ir stabili līdz derīguma termiņa beigu datumam, kas uzdrukāts uz produkta etiķetes.

Izmantotās literatūras saraksts

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. *Pathology International*. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. *Current Diagnostic Pathology*. 2001; 7:161–167.
8. 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. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.

Intelektuālais īpašums

Autoritātes © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Visas tiesības paturētas. LEICA un Leica logotipi ir Leica Microsystems IR GmbH reģistrētas preču zīmes ASV un daudzās citās valstīs. BOND un Novocastra ir Leica Biosystems uzņēmumu grupas reģistrētas preču zīmes ASV un pēc izvēles arī citās valstīs.

Izmaiņu vēsture

Pārskatījums: Izdošanas Datums	Detalizēta informācija par pārskatījumu
2021. Gada 06. Maijs	<p>Paredzētais nolūks: Ierīces paredzētā nolūka sadaļas atjaunināšana saskaņā ar REGULAS (ES) 2017/746 III 20.4.1. nodaļu.</p> <p>Nepieciešamie materiāli, kas nav iekļauti: Atjaunināts, lai uzskaitītu materiālus.</p> <p>Piesardzības pasākumi un produktam specifiski ierobežojumi: Nomainīts uz sadaļas virsrakstu.</p> <p>Intelektuālais īpašums: Pievienota jauna sadaļa «Intelektuālais īpašums».</p> <p>Izmaiņu vēsture: Pievienota jauna sadaļa «Izmaiņu vēsture».</p>

Pārskatījums/Izdošanas Datums

2021. Gada 06. Maijs

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Produkto Nr.: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Produkto Nr.: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Produkto Nr.: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Produkto Nr.: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Produkto Nr.: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Produkto Nr.: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Produkto Nr.: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Produkto Nr.: RE7230-K

Tik profesionaliam naudojimui

Numatytoji paskirtis

Tik *in vitro* diagnostikai.

„Novolink Polymer Detection Systems“ naudojamos pelės IgG, pelės IgM ir triušio IgG pirminiams antikūnams vizualizuoti. Jos skirtos taikinių vizualizavimui naudojant imunohistochemijos (IHC) metodu formalinu fiksuoto, parafinuoto audinio pjūviuose. „Novolink Polymer“ ir „Novolink DAB (Polymer)“ yra šių sistemų sudedamieji reagentai.

Klinikinį bet kokie dažymo ar jo nebuvimo aiškinimą turėtų papildyti morfologiniai tyrimai ir tinkamos kontrolės priemonės, ir jį turėtų įvertinti kvalifikuotas patologas, atsižvelgdamas į paciento klinikinę istoriją ir kitus diagnostinius tyrimus.

„Novolink Polymer Detection Systems“, „Novolink Polymer“ ir „Novolink DAB (Polymer)“ skirti naudoti su kitomis priemonėmis atliekant dažymo vizualizacijos procedūras, todėl jo kokybinė arba pusiau kiekybinė diagnostinė funkcija, įskaitant konkrečią ligos indikaciją ir paskirties populiaciją, aprašyta susijusioje priemonės etiketėje pagal šiai priemonei taikomus reikalavimus.

Tyrimo principas

Pirmasis imunohistoperoksidazės metodas buvo paskelbtas Nakane ir Pierce.¹ Nuo to laiko įvyko daug pokyčių, sukurti jautresni metodai lyginant su ankstesniais. Neseniai pradėtas naudoti polimerinis ženklėlinimas. Ši technologija pritaikyta tiek pirminiams antikūnams², tiek aptikimo sistemoms. Taikant „Novolink Polymer Detection Systems“ naudojama nauja kontroliuojama polimerizacijos technologija, skirta polimeriniams HRP rišiklio ir AP rišiklio antikūnų konjugatams paruošti. Todėl nespecifinio dažymo problema, galinti atsirasti dėl endogeninio biotino naudojant „Streptavidin“/„Biotin“ aptikimo sistemas, neatsiranda.

Šie produktai naudojami imunohistocheminėje (IHC) procedūroje, kuri leidžia kokybiškai identifikuoti antigenus šviesos mikroskopijos būdu formalinu fiksuoto, parafinuoto audinio pjūviuose, atliekant nuoseklius etapus su įterptais plovimo etapais. Jei reikia atsižvelgiant į pirminį antikūną, prieš dažymą pjūviuose išgaunamas epitopas. Endogeninis peroksidazės aktyvumas neutralizuojamas naudojant „Peroxidase Block“. Tada naudojamas „Novocastra Protein Block“, sumažinantis nespecifinį pirminio antikūno ir polimero susiejimą. Vėliau pjūvis inkubuojamas su optimaliai praskiestu pirminiu antikūnu. „Post Primary“ (triušio antipelės IgG) naudojamas pelių antikūnams aptikti. „Novolink Polymer“ atpažįsta triušio imunoglobulinus, aptinka vėlesnius ir su audiniais susijusius pirminius triušio antikūnus. Pjūviai inkubuojami su substratu/chromogenu, 3,3' - diaminobenzidinu (DAB), paruoštu iš „DAB Chromogen“ ir „Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)“, kaip aprašyta toliau. Reaguojant su peroksidaze antigeno vietoje susidaro matomos rudos nuosėdos. Pjūviai kontrastiniu būdu nudažyti „Hematoxylin“ ir uždengti „Coverslip“. Rezultatai tikrinami naudojant šviesos mikroskopą ir padeda diferencijuoti patofiziologinius procesus, kurie yra arba nėra susiję su konkrečiu antigenu.

Reagento aprašas

Išsamī informacija, kurie reagentai iš toliau pateikto sąrašo yra tiekiami kiekviename produkte, pateikiama toliau esančioje lentelėje.

1. „Peroxidase Block“. 3–4% (v/v) vandenilio peroksido.
2. „Protein Block“. 0,4 % kazeino fosfato buferiniame fiziologiniame tirpale, su stabilizatoriais, aktyviaja paviršiaus medžiaga ir 0,2% bronidokso L, kaip konservanto.
3. „Post Primary“. Triušio antipelės IgG (<10 µg/ml) 10% (v/v) gyvūniniame serume TRIS buferiniame fiziologiniame tirpale/0,1% „ProClin™ 950“.
4. „Novolink Polymer“. Polimerinis antitriušio HRP IgG (<25 µg/ml) antikūnas, kurio sudėtyje yra 10% (v/v) gyvūninio serumo TRIS buferiniame fiziologiniame tirpale/0,1% „ProClin™ 950“.
5. „DAB Chromogen“. 1,74% w/v 3,3' - diaminobenzidinas, stabilizatoriaus tirpale.
6. „Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)“. Buferinis tirpalas, kurio sudėtyje yra ≤0,1% vandenilio peroksido ir konservanto.
7. „Hematoxylin“. <0,1% hematoksilino.

Reagentai	Produktu numeris	„Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K“	„Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K“	„Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K“	„Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K“
„Peroxidase Block“	RE7101		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
„Protein Block“	RE7102		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
„Post Primary“	RE7111		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
„Novolink Polymer“	RE7112		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
„DAB Chromogen“	RE7105		1 x 3 ml	1 x 3 ml	
„Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)“	RE7143		2 x 30 ml	1 x 30 ml	
„Hematoxylin“	RE7107		2 x 25 ml	1 x 25 ml	
„Peroxidase Block“	RE7157	1 x 125 ml			
„Protein Block“	RE7158	1 x 125 ml			
„Post Primary“	RE7159	1 x 125 ml			
„Novolink Polymer“	RE7161	1 x 125 ml			
„DAB Chromogen“	RE7162	1 x 8 ml			
„Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)“	RE7163	1 x 150 ml			
„Hematoxylin“	RE7164	1 x 125 ml			
„Peroxidase Block“	RE7165				1 x 5 ml
„Protein Block“	RE7166				1 x 5 ml
„Post Primary“	RE7167				1 x 5 ml
„Novolink Polymer“	RE7168				1 x 5 ml
„DAB Chromogen“	RE7169				1 x 1 ml
„Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)“	RE7171				1 x 5 ml
„Hematoxylin“	RE7172				1 x 5 ml

Reagentai	Produktu numeris	„Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K“	„Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K“	„Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K“	„Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K“
„Post Primary“	RE7111		1 x 25 ml		
„Novolink Polymer“	RE7112		1 x 25 ml		
„Post Primary“	RE7159	1 x 125 ml			
„Novolink Polymer“	RE7161	1 x 125 ml			
„DAB Chromogen“	RE7105				1 x 3 ml
„Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)“	RE7143				1 x 30 ml
„DAB Chromogen“	RE7162			1 x 8 ml	
„Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)“	RE7163			1 x 150 ml	

Tirpinimas, maišymas, skiedimas, titravimas

„Peroxidase Block“, „Protein Block“, „Post Primary“, „Novolink Polymer“ ir „Hematoxylin“ yra praskiesti. Šių reagentų nereikia tirpinti, maišyti, skiesti arba tirtuoti. Dėl tolesnio skiedimo antigenai gali nenusidažyti. Naudotojas turi patvirtinti bet kokį tokį pakeitimą.

Prieš naudojant „DAB Chromogen“, jį reikia praskiesti 1/20 „Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)“ tirpale. Dėl tolesnio skiedimo antigenai gali nenusidažyti. Naudotojas turi patvirtinti bet kokį tokį pakeitimą.

Reikalingos, bet nepateiktos medžiagos

Imunohistochemijoje naudojami standartiniai tirpikliai.

50 mM TRIS buferinis fiziologinis tirpalas (TBS) pH 7,6.

Antigenų išgavimo tirpalas (-ai).

Fermentų išgavimo tirpalas (-ai).

Antikūnų skiediklis.

Pirminis antikūnas.

Histologinė terpė.

Įranga, reikalinga antigenui išgauti, jei rekomenduojama pirminiam antikūnui.

Bendroji imunohistochemijos laboratorinė įranga.

Laikymas ir stabilumas

Laikyti 2–8 °C temperatūroje. Neužšaldyti. Panaudoję, nedelsdami grąžinkite produktą į 2–8 °C temperatūros aplinką. Nenaudoti pasibaigus produkto etiketėje nurodytam tinkamumo laikui. Laikymo sąlygas, kurios skiriasi nuo apibūdintųjų, turi patikrinti naudotojas. Nėra akivaizdžių šio produkto nestabilumo požymių, todėl tiriant pacientų mėginius kartu turėtų būti taikomos teigiamosios ir neigiamosios kontrolės priemonės.

Mėginio paruošimas

Rekomenduojamas fiksatorius yra 10% neutralaus buferizuoto formalinio parafinuotų audinių pjūviams.

Atsargumo priemonės ir su produktu susiję apribojimai

Medžiagų saugos duomenų lapą galima gauti paprašius arba iš LeicaBiosystems.com

Nemaišykite skirtingose aptikimo sistemose naudojamų reagentų.

Mėginiai prieš ir po fiksavimo bei visos medžiagos, su kuriomis jie lietsi, turi būti tvarkomi taip, lyg galėtų perduoti infekciją, ir šalinami laikantis atitinkamų atsargumo priemonių.⁴

Reagentų į pipetę niekada nesuirbkite burna ir venkite reagentų bei mėginių sąlyčio su oda ir gleivinėmis. Reagentams arba mėginiams patekus ant jautrių vietų, nuplaukite dideliu kiekiu vandens.

Informacijos apie potencialiai nuodingų komponentų šalinimą ieškokite federaliniuose, valstybės arba vietiniuose teisės aktuose.

Kuo labiau sumažinkite mikrobinį reagentų mikrobinį užterštumą, antraip gali padidėti nespecifinis dažymas. Taikant kitokią, nei nurodyta, inkubacijos trukmę arba temperatūrą, rezultatai gali būti klaidingi. Bet kokį minėtą pakeitimą turi patvirtinti naudotojas.

Jei įvyktų rimtas su produktu susijęs incidentas, naudotojas apie jį praneša gamintojui ir valstybės narės, kurioje jis įsisteigęs, kompetentingai institucijai.

Imunohistochemija yra daugiapakopis diagnostinis procesas, kurį sudaro specialūs mokymai, kaip pasirinkti tinkamus reagentus, taip pat audinių parinkimas, fiksavimas ir apdorojimas; IHC objekcinio stiklelio paruošimas ir dažymo rezultatų aiškinimas.

Audinių dažymo rezultatai priklauso nuo audinio tvarkymo ir apdoravimo prieš dažant. Dėl netinkamo audinių fiksavimo, užšaldymo, atšildymo, plovimo, dziovavimo, kaitinimo, pjaustymo arba užteršimi kitais audiniais ar skysčiais gali susidaryti artefaktai, antikūnų spąstai arba klaidingai neigiami rezultatai. Nenuoseklūs rezultatai gali būti susiję su fiksavimo ir įterpimo metodų pasikeitimais arba audinio vidiniu nevienodumu.⁸

Pernelyg intensyvus arba nebaigtas papildomas (priešingas) dažymas taip pat gali sutrukdyti teisingai aiškinti rezultatus.

Klinikinį bet kokio dažymo ar jo nebuvimo aiškinimą turėtų papildyti morfologiniai tyrimai ir tinkamos kontrolės priemonės, ir jį turėtų įvertinti kvalifikuotas patologas, atsižvelgdamas į paciento klinikinę istoriją ir kitus diagnostinius tyrimus.

„Novolink Polymer Detection Systems“ ir jų komponentai naudojami parafinuotuose pjūviuose, kuriems keliami konkretūs fiksavimo reikalavimai. Gali atsirasti netikėta antigeno ekspresija, ypač neoplazmose. Klinikinis bet kurio nudažyto audinio pjūvio tikrinimas turi apimti morfologinę analizę ir atitinkamų kontrolinių medžiagų įvertinimą.

Naudojimo instrukcija

Prieš taikydami šią metodiką, naudotojai turi būti apmokyti dirbti su imunohistocheminiais metodais.

Visi veiksmai turi būti atliekami taip, kaip nurodyta, kitaip gali suprastėti eksploatacinės savybės.

Pirminio antikūno, jo praskiedimo ir aptikimo sistemos derinį naudotojas turi patvirtinti naudodamas keletą žinomų teigiamųjų ir neigiamųjų kontrolės priemonių.

Jei nenurodyta kitaip, visi veiksmai atliekami kambario temperatūroje (25 °C).

Jei norite naudoti sušaldytiems audiniams, atlikite pjūvius ir fiksukite pagal rekomendacijas pirminiam antikūnui, prasidedančias nuo 11 veiksmo.

1. Atlikite ir uždėkite pjūvius ant objekcinių stiklelių, padengtų tinkamais audinių klijais.
2. Deparafinuokite pjūvius ksilene arba ksileno pakaitaluo.
3. Rehidratuokite per rūšiuotus alkoholius.
4. Nuplaukite objekcinius stiklelius po tekančiu vandeniu iš čiaupo.
5. Jei reikia, išgaukite antigeną (žr. pirminių antikūnų **naudojimo instrukciją**).
6. Nuplaukite objekcinius stiklelius dejonizuotame vandenyje.

7. Neutralizuokite endogeninę peroksidazę 5 minutes naudodami „Peroxidase Block“.
8. Plaukite TBS 2 x 5 minutes.
9. Inkubuokite 5 minutes naudodami „Protein Block“.
10. Plaukite TBS 2 x 5 minutes.
11. Inkubuokite optimaliai praskiestu pirminiu antikūnu (žr. pirminių antikūnų **naudojimo instrukciją**).
12. Plaukite TBS 2 x 5 minutes.
13. Inkubuokite 30 minučių naudodami „Post Primary“.
14. Plaukite TBS 2 x 5 minutes.
15. Inkubuokite 30 minučių naudodami „Novolink Polymer“.
16. Plaukite TBS 2 x 5 minutes švelniai siūbuodami.
17. Peroksidazės aktyvumą didinkite 5 minutes naudodami DAB darbinį tirpalą (žr. „DAB Working Solution“).
18. Nuplaukite objektinius stiklelius vandeniu.
19. Kontrastinis dažymas naudojant „Hematoxylin“.
20. Plaukite objektinius stiklelius 5 minutes vandeniu.
21. Išdžiovinkite, nuvalykite ir uždėkite pjūvius.

DAB darbinis tirpalas

Išpilkite 50 µl „DAB Chromogen“ į 1 ml „Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)“. Sunaudoti per šešias valandas nuo paruošimo.

Veikimo charakteristikos

„Novolink Polymer Detection Systems“, „Novolink Polymer“ ir „Novolink DAB (Polymer)“ veikimo charakteristikos patvirtintos naudojant įvairius „Novocastra“ pelės IgG, pelės IgM* ir triušio IgG pirminius antikūnus.

*Naudojant kai kuriuos IgM izotipo antikūnus, dažymas gali būti silpnas.

Produktai yra stabilūs iki tinkamumo termino, atspausdinto ant produkto etiketės.

Bibliografija

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. Pathology International. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, PA. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. Current Diagnostic Pathology. 2001; 7:161–167.
8. 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. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.

Intelektinė nuosavybė

Copyright © 2020 „Leica Biosystems Newcastle Ltd“. Visos teisės saugomos. LEICA ir „Leica Logo“ yra registruotieji „Leica Microsystems IR GmbH“ prekių ženklai JAV ir daugelyje kitų šalių. BOND ir „Novocastra“ yra registruotieji „Leica Biosystems“ įmonii grupės prekių ženklai JAV ir pasirinktinai kitose šalyse.

Pakeitimų istorija

Redakcija: Išleidimo data	Redakcijos informacija
2021 m. Gegužės 6 d.	<p>Numatyta paskirtis: Priemonės numatytos paskirties atnaujinimas pagal REGLAMENTO (ES) 2017/746 III skyriaus 20.4.1 punktą.</p> <p>Reikalingos, bet nepateiktos medžiagos: Atnaujinta įtraukiant medžiagas.</p> <p>Atsargumo priemonės ir su produktu susiję apribojimai: Pakeistas poskyrio pavadinimas.</p> <p>Intelektinė nuosavybė: Papildyta nauju poskyrių „Intelektinė nuosavybė“.</p> <p>Pakeitimų istorija: Papildyta nauju poskyrių „Pakeitimų istorija“.</p>

Redakcijos/Išleidimo data

2021 m. Gegužės 6 d.

Novocastra

Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests)

Tootenumbr: RE7280-K

Novolink Polymer Detection System (500 tests)

Tootenumbr: RE7150-K

Novolink Polymer Detection System (250 tests)

Tootenumbr: RE7140-K

Novolink Min Polymer Detection System (50 tests)

Tootenumbr: RE7290-K

Novolink Max Polymer (1250 tests)

Tootenumbr: RE7260-K

Novolink Polymer (250 tests)

Tootenumbr: RE7200-K

Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests

Tootenumbr: RE7270-K

Novolink DAB (Polymer) 250 tests

Tootenumbr: RE7230-K

Ainult professionaalseks kasutamiseks

Ettenähtud otstarve

In vitro diagnostiliseks kasutamiseks.

Süsteemi Novolink Polymer Detection Systems kasutatakse hiire IgG, hiire IgM ja küüliku IgG primaarse te antikehade vaatlemiseks. Need on loodud sihtmärgi vaatlemiseks manuaalse immunohistokeemia (IHC) abil formaliiniga fikseeritud, parafiini sisestatud koe lõikudel. Novolink Polymer ja Novolink DAB (Polymer) on nende süsteemide komponentreaktiivid.

Igat tüüpi värvumise või selle puudumise kliinilist tõlgendamist peavad toetama morfoloogilised uuringud ja nõuetekohaseid kontrollid tuleb hinnata, lähtudes patsiendi kliinilisest anamneesist ja muudest kvalifitseeritud patoloogide poolt teostatud diagnostilistest testidest. Süsteemid Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer ja Novolink DAB (Polymer) on mõeldud kasutamiseks koos teiste seadmetega värvumise vaatlemiseks ning seega kirjeldatakse kvalitatiivset või poolkvantitatiivset diagnostikafunktsiooni, sh konkreetsele haigusele viitamist ja kavandatud kasutusotstarbe sihtrühma, seotud seadme märgistusel vastavalt selle seadme nõuetele.

Katse põhimõte

Esimesest immunohistoperoксидаasi meetodist teatasid Nakane ja Pierce¹. Sellest alates on toimunud palju arenguid, mis on viinud suurema tundlikkuse ni varasematel meetoditel. Üks hiljutine areng on olnud polümeerse märgistamise kasutamine. Seda tehnoloogiat on rakendatud nii primaarse te antikehade² kui ka tuvastussüsteemide jaoks. Süsteemid Novolink Polymer Detection Systems kasutavad uudset juhitud polümerisatsiooni tehnoloogiat, et valmistada ette polümeerse HRP-siduja konjugaadid. Seetõttu ei esine mittespetsiifilise värvumise probleemi, mis võib tekkida endogeense biotiini tõttu streptavidiini/biotiini tuvastussüsteemides.

Neid tooteid kasutatakse immunohistokeemia IHC-protseduuris, mis võimaldab antigeenide kvalitatiivset identifitseerimist valgusmikroskoobi abil formaliiniga fikseeritud, parafiini sisestatud koe lõikudes, kasutades järjestikuseid etappe koos vahepealsete pesemisetappidega. Kui primaarne antikeha seda nõuab, läbibid lõigud enne värvimist epitooptide kättesaadavaks muutmise. Endogeense peroksideasi aktiivsus neutraliseeritakse toote Peroxidase Block abil. Sellele järgneb toote Novocastra Protein Block rakendamine, et vältida primaarse te antikehade ja polümeeri mittespesiifilist seondumist. Seejärel inkubeeritakse lõik optimaalselt lahjendatud primaarse te antikehaga. Seejärel kasutatakse hiire te antikehade tuvastamiseks toodet Post Primary (küüliku hiirevastane IgG). Novolink Polymer tunneb ära küüliku immunoglobuliinid, see tuvastab postprimaarseid ja mis tahes koe külge seotud küüliku primaarseid te antikehad. Lisaks inkubeeritakse lõigud substraadi/kromogeeniga, 3,3' - diaminobensidiiniga (DAB), mis on valmistatud toodetest DAB Chromogen ja Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer), nagu on kirjeldatud allpool. Peroksideaasiga reageerimine tekitab antigeeni kohas nähtava pruuni sademe. Lõigud kontrastvärvitakse tootega Hematoxylin ja kaetakse kattelaasiga. Tulemusi tõlgendatakse valgusmikroskoobi abil ja need aitavad diagnoosida patofüsioloogilisi protsesse, mis võivad olla konkreetse antigeeniga seotud.

Reaktiivi kirjeldus

Alljärgnevas tabelis on esitatud üksikasjad selle kohta, millised reaktiivid alljärgnevas loetelust on igas tootes olemas.

1. Peroxidase Block. 3–4% (v/v) vesinikperoksiid.
2. Protein Block. 0,4% kaseiini fosfaatpuhvriga füsioloogilises lahuses koos stabilisaatorite, pindaktiivse aine ja 0,2% säilitusainega Bronidox L.
3. Post Primary. Küüliku hiirevastane IgG (< 10 µg/ml) 10% (v/v) loomade seerumis Tris-puhvriga füsioloogilises lahuses/tootes 0,1% ProClin™ 950.
4. Novolink Polymer. Küülikuvastast Poly-HRP-IgG-d (< 25 µg/ml) sisaldav 10% (v/v) loomade seerum Tris-puhvriga füsioloogilises lahuses/tootes 0,1% ProClin™ 950.
5. DAB Chromogen. 1,74% (massi/mahu) 3,3' - diaminobensidiin stabiliseerivas lahuses.
6. Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Puhverdatud lahus, mis sisaldab ≤ 0,1% vesinikperoksiidi ja säilitusainet.
7. Hematoxyliin. < 0,1% hematoksiiliin.

Reaktiivid	Tootenumbr	Novolink Max Polymer Detection System (1250 tests) RE7280-K	Novolink Polymer Detection System (500 tests) RE7150-K	Novolink Polymer Detection System (250 tests) RE7140-K	Novolink Min Polymer Detection System (50 tests) RE7290-K
Peroxidase Block	RE7101		2 × 25 ml	1 × 25 ml	
Protein Block	RE7102		2 × 25 ml	1 × 25 ml	
Post Primary	RE7111		2 × 25 ml	1 × 25 ml	
Novolink Polymer	RE7112		2 × 25 ml	1 × 25 ml	
DAB Chromogen	RE7105		1 × 3 ml	1 × 3 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143		2 × 30 ml	1 × 30 ml	
Hematoxylin	RE7107		2 × 25 ml	1 × 25 ml	
Peroxidase Block	RE7157	1 × 125 ml			
Protein Block	RE7158	1 × 125 ml			
Post Primary	RE7159	1 × 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 × 125 ml			
DAB Chromogen	RE7162	1 × 8 ml			
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163	1 × 150 ml			
Hematoxylin	RE7164	1 × 125 ml			
Peroxidase Block	RE7165				1 × 5 ml
Protein Block	RE7166				1 × 5 ml
Post Primary	RE7167				1 × 5 ml
Novolink Polymer	RE7168				1 × 5 ml
DAB Chromogen	RE7169				1 × 1 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7171				1 × 5 ml
Hematoxylin	RE7172				1 × 5 ml

Reaktiivid	Tootenumbr	Novolink Max Polymer (1250 tests) RE7260-K	Novolink Polymer (250 tests) RE7200-K	Novolink Max DAB (Polymer) 1250 tests RE7270-K	Novolink DAB (Polymer) 250 tests RE7230-K
Post Primary	RE7111		1 × 25 ml		
Novolink Polymer	RE7112		1 × 25 ml		
Post Primary	RE7159	1 × 125 ml			
Novolink Polymer	RE7161	1 × 125 ml			
DAB Chromogen	RE7105				1 × 3 ml
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7143				1 × 30 ml
DAB Chromogen	RE7162			1 × 8 ml	
Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer)	RE7163			1 × 150 ml	

Manustamiskõlblikuks muutmine, segamine, lahjendamine, tiitrimine

Tooted Peroxidase Block, Protein Block, Post Primary, Novolink Polymer ja Hematoxylin on eellahjendatud. Nende reaktiivide manustamiskõlblikuks muutmine, segamine, lahjendamine või tiitrimine pole soovitatav. Täiendav lahjendamine võib põhjustada antigeeni värvumise kadu. Kasutaja peab iga sellise muutuse valideerima.

Toodet DAB Chromogen tuleb enne kasutamist lahjendada suhtele 1/20 tootega Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer). Täiendav lahjendamine võib põhjustada antigeeni värvumise kadu. Kasutaja peab iga sellise muutuse valideerima.

Vajalikud, kuid pakendis mitte sisalduvad materjalid

Immunohistokeemias kasutatavad standardlahustid.

50 mM tris-puhvriga füsioloogiline lahus (TBS) pH 7,6.

Antigeeni kättesaadavaks muutmise lahus(ed).

Ensüümi kättesaadavaks muutmise lahus(ed).

Antikeha lahjendi.

Primaarne antikeha.

Kinniti.

Antigeeni kättesaadavaks muutmiseks vajalikud seadmed, kui seda soovitatakse primaarse antikeha jaoks.

Üldised immunohistokeemia laboriseadmed.

Säilitamine ja stabiilsus

Säilitada temperatuuril 2–8 °C. Mitte külmutada. Kohe pärast kasutamist viige tagasi temperatuurile 2–8 °C. Mitte kasutada pärast toote etiketil toodud aegumiskuupäeva. Toodust erinevad säilitamistingimused tuleb kasutaja poolt kinnitada. Pole ühtki märki, mis viitaks toote ebastabiilsusele, seetõttu tuleks positiivseid ja negatiivseid võrdlusproove teha samaaegselt patsiendi proovidega.

Proovi ettevalmistamine

Soovitatud fiksaator on 10% neutraalpuhvriga formaliin parafiini sisestatud koelõikude jaoks.

Ettevaatusabinõud ja tootespetsiifilised piirangud

Materjalide ohutuskaart on saadaval soovi korral või saidilt LeicaBiosystems.com

Mitte segada erinevate tuvastussüsteemide reaktiive.

Proove ja kõiki nendega kokkupuutuvaid materjale tuleb enne ja pärast fikseerimist käsitseda kui infektsiooni edasikandmise võimet omavaid ja visata ära vastavaid ettevaatusabinõusid rakendades.⁴

Ärge kunagi pipeteerige reaktiive suuga ja vältige reaktiivide või proovide kokkupuudet naha või limaskestadega. Kui reaktiivid või proovid puutuvad kokku tundlike piirkondadega, peske neid rohke koguse veega.

Potentsiaalselt toksiliste ühendite kasutusest kõrvaldamiseks vt föderaalset, osariigi või piirkondlikke eeskirju.

Minimeerige reaktiivide mikroobidega saastumist, vastasel juhul võib suurendada mittespetsiifilise värvumise. Inkubeerimise ajad või temperatuurid võivad anda valesid tulemusi. Iga selline muudatus tuleb kasutaja poolt valideerida.

Tootega seotud tõsise intsidi korral peab kasutaja teavitama intsidendist tootjat ja selle ELi liikmesriigi pädevat asutust, kus kasutaja asub.

Immunohistokeemia on mitmeetapiline diagnostiline protsess, mis koosneb spetsiaalsest koolitusest, et valida sobivad reaktiivid; koe valikust, fikseerimisest ja töötlemisest; IHC-slaidi ettevalmistamisest ja värvimise tulemuste tõlgendamisest.

Koe värvimine sõltub koe käsitlemisest ja töötlemisest enne värvimist. Vale fikseerimine, külmutamine, ülesulamine, pesemine, kuivamine, soojendamine, lõikamine või muude kudede või vedelikega saastumine võib anda artefakte, antikehade seostumist või valenegatiivseid tulemusi. Ebaselged tulemused võivad tuleneda fikseerimise ja manustamise meetodite erinevustest või koisestest ebakorrapärasustest.⁸

Ligine või puudulik vastuvärvimine võib tulemuste õiget tõlgendamist halvendada.

Igat tüüpi värvumise või selle puudumise kliinilist tõlgendamist peavad toetama morfoloogilised uuringud, kasutades nõuetekohaseid kontrolle ning need tuleb hinnata lähtudes patsiendi kliinilisest anamneesist ja muudest kvalifitseeritud patoloogide poolt teostatud diagnostilistest testidest.

Süsteemid Novolink Polymer Detection Systems ja nende komponendid on loodud kasutamiseks parafiini sisestatud lõikudega, mille fikseerimisele kehtivad spetsiifilised nõuded. Võib esineda ootamatut antigeeni ekspresseerumist, eriti kasvajate korral. Iga värvunud koelõigu kliiniline tõlgendamine peab hõlmama morfoloogilist analüüsi ja asjakohaste võrdlusproovide hindamist.

Kasutusjuhised

Enne selle meetodi kasutamist peavad kasutajad olema koolitatud immunohistokeemia meetodite alal.

Kõiki etappe tuleb järgida vastavalt juhistele, vastasel juhul võib toimimine halveneda.

Kasutaja peab primaarse antikeha kombinatsiooni, selle lahjendust koos tuvastussüsteemiga valideerima teadaolevate positiivsete ja negatiivsete võrdlusproovide seeriaga.

Kui ei ole märgitud teisiti, siis tehakse kõik toimingud toatemperatuuril (25 °C).

Külmutatud koel kasutamisel lõigake lõigud ja fikseerige vastavalt primaarse antikeha kohta antud soovitudele, alustades 11. etapist.

1. Lõigake ja kinnitage lõigud sobiva koellimiga kaetud slaididele.
2. Eemaldage lõikudelt küsleeni või selle asendajaga parafiin.
3. Taashüdreerige astmeliste alkoholide abil.
4. Peske slaide voolava kraaniveega.
5. Viige läbi antigeenide kättesaadavaks muutmine vastavalt vajadusele (vt **primaarse antikeha kasutusjuhend**).
6. Peske slaide deioniseeritud veega.
7. Neutraliseerige endogeenne peroksidaas, kasutades 5 minutit toodet Peroxidase Block.

8. Peske TBS-is 2 × 5 minutit.
9. Inkubeerige 5 minutit tootega Protein Block.
10. Peske TBS-is 2 × 5 minutit.
11. Inkubeerige optimaalselt lahjendatud primaarse antikehaga (vt **primaarse antikeha kasutusjuhend**).
12. Peske TBS-is 2 × 5 minutit.
13. Inkubeerige 30 minutit tootega Post Primary.
14. Peske TBS-is 2 × 5 minutit.
15. Inkubeerige 30 minutit tootega Novolink Polymer.
16. Peske TBS-is 2 × 5 minutit õrnalt kiigutades.
17. Suurendage peroksidaasi aktiivsust DAB-töölahusega (vt DAB-töölahus) 5 minutit.
18. Loputage slaide veega.
19. Kontrastvärvige tootega Hematoxyliin.
20. Loputage slaide 5 minutit vees.
21. Kuivatage, puhastage ja kinnitage lõigud.

DAB-töölahus

Lisage 1 ml puhvrile Novolink DAB Substrate Buffer (Polymer) 50 µl toodet DAB Chromogen. Kasutage kuue tunni jooksul pärast valmistamist.

Toimivuse omadused

Toodete Novolink Polymer Detection Systems, Novolink Polymer ja Novolink DAB (Polymer) toimivus on valideeritud, kasutades erinevaid Novocastra hiire IgG, hiire IgM ja küüliku IgG primaarseid antikehi.

*Mõne IgM-isotüüpi antikeha korral võib täheldada nõrka värvumist.

Tooted on stabiilsed kuni toote etiketile trükitud aegumiskuupäevani.

Bibliograafia

1. Nakane PK and Pierce GB. Enzyme labeled antibodies: Preparations and applications for the localization of antigens. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 1967; 14:929–931.
2. Tsutsumi Y, Serizawa A and Kawai K. Enhanced polymer one-step staining (EPOS) for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 antigen-applications to intraoperative frozen diagnosis. *Pathology International*. 1995; 45(2):108–115.
3. Shan-Rong Shi, Guo J Cote R J et al. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 1999; 7:201-208.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
5. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: A review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
6. Nadj M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: The techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
7. Mount SL, Cooper K. Beware of biotin: A source of false-positive immunohistochemistry. *Current Diagnostic Pathology*. 2001; 7:161–167.
8. Omata M, Liew CT, Ashcava M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: A possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.

Intellektuaalne omand

Copyright © 2020 Leica Biosystems Newcastle Ltd. Kõik õigused kaitstud. LEICA ja Leica Logo on ettevõtte Leica Microsystems IR GmbH registreeritud kaubamärgid USA-s ja paljudes teistes riikides. BOND ja Novocastra on ettevõtete grupi Leica Biosystems registreeritud kaubamärgid USA-s ja paljudes teistes riikides.

Muudatuste ajalugu

Ülevaatus: Väljaandmise kuupäev	Ülevaatused andmed
06 Mai 2021	<p>Ettenähtud otstarve: Seadme ettenähtud otstarbe uuendamine vastavalt MÄÄRUSELE (EL) 2017/746, ptk III 20.4.1.</p> <p>Vajalikud, kuid pakendis mitte sisalduvad materjalid: Materjalide uuendatud nimekirja.</p> <p>Ettevaatusabinõud ja tootespetsiifilised piirangud: Jaotise pealkirja muutmine.</p> <p>Intellektuaalne omand: Uue "Intellektuaalse omandi" jaotise lisamine.</p> <p>Muudatuste ajalugu: Uue "Muudatuste ajaloo" jaotise lisamine.</p>

Ülevaatus/Väljaandmise kuupäev

06 Mai 2021

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park West
Benton Lane
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW
United Kingdom
☎ +44 191 215 4242



Leica Biosystems Canada
71 Four Valley Drive
Concord, Ontario L4K 4V8
Canada
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Inc
1700 Leider Lane
Buffalo Grove IL 60089
USA
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Melbourne Pty Ltd
495 Blackburn Road
Mt Waverley VIC 3149
Australia
☎ +61 1800 625 286

CEpartner4U
Esdoornlaan 13
3951 DB Maarn
The Netherlands
Tel: +31 343 442 524
Fax: +31 343 442 162
E-mail: office@cepartner4u.com



LBS Deutschland GmbH
Heidelberger Straße 17-19
69226 Nussloch
Tel: +49 6224 143 0

