

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

English

BIOCARE
M E D I C A L

Collaboration Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Intended Use:

For *in vitro* Diagnostic Use

HLA-B [BC43] is a mouse monoclonal antibody that is intended for laboratory use after the initial diagnosis of tumor has been made by conventional histopathology using nonimmunologic histochemical stains, in the qualitative identification of HLA-B protein by immunohistochemistry (IHC) in formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) human tissues. 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 as an aid in making any other clinical determinations.

Summary and Explanation:

HLA-B is a highly polymorphic protein encoding gene for the major histocompatibility class I (MHC-I) complex.¹⁵ MHC class I molecules are expressed on the cell surface, binding and presenting antigenic peptides to CD8+ T lymphocytes to mediate immune responses against intracellular pathogens and cancers.¹⁶

Principle of Procedure:

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

Materials and Methods:

Reagents Provided:

Host Source: Mouse monoclonal

Species Reactivity: Human; other species not tested.

Clone: BC43

Isotype: IgG1 kappa

Protein Concentration: See vial label for lot specific concentration.

Specific IgG Concentration: Contact Biocare's Technical Support

Specificity: HLA-B

Cellular Localization: Cell membrane

Method: Affinity purified mouse monoclonal

Reconstitution, Mixing, Dilution, Titration:

Prediluted antibody reagent is optimally diluted for use with the above listed staining systems. Further dilution may result in loss of antigen staining. Further dilution may result in loss of antigen staining. The user must validate any such change. Differences in tissue processing and technical procedures in the user's laboratory may produce significant variability in results necessitating regular performance of in-house controls (see Quality Control section).

Concentrated reagent requires dilution as indicated in table above.

Known Applications:

Immunohistochemistry (formalin-fixed paraffin-embedded tissues)

Supplied As: Buffered saline solution, 5.9-7.4, containing a protein carrier and less than 0.1% sodium azide preservative. See Safety Data Sheet for additional details.

Materials and Reagents Needed but Not Provided:

Microscope slides positively charged.

Positive and negative tissue controls

Desert Chamber (or similar Drying oven)

Xylene or xylene substitute

Ethanol or reagent alcohol

Decloaking Chamber (Pressure cooker)

Deionized or distilled water

Wash buffer

Pretreatment reagents

Peroxidase block

Protein block (optional)

Detection probe and polymer

Negative control reagents

Chromogens

Hematoxylin (counterstain)

Bleuing reagent

Mounting medium

Coverglass

Light Microscope (40-400X magnification)

*Configurations of the antibody product are available for use on the instruments indicated in the table above.

Storage and Stability:

Store at 2°C to 8°C. The product is stable to the expiration date printed on the vial label, when stored under these conditions. Do not use after expiration date. Storage under any condition other than those specified must be verified. Diluted reagents should be used promptly; store any remaining reagent at 2°C to 8°C. The stability of user diluted reagent has not been established by Biocare.

Positive and negative controls should be run simultaneously with all patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Biocare's Technical Support at 1-800-542-2002 or via the technical support information provided on biocare.net.

Specimen Preparation:

Tissues fixed in formalin are suitable for use prior to paraffin embedding. Osseous tissues should be decalcified prior to tissue processing to facilitate tissue cutting and prevent damage to microtome blades.^{1,2}

Properly fixed and embedded tissues expressing the specified antigen target should be stored in a cool place. The Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) of 1988 requires in 42 CFR §493.1259(b) that "The laboratory must retain stained slides at least ten years from the date of examination and retain specimen blocks at least two years from the date of examination."³



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

1/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

English

BIOCARE
M E D I C A L

Treatment of Tissues Prior to Staining:

Perform Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) per recommended protocol below. The routine use of HIER prior to IHC has been shown to minimize inconsistency and standardize staining.^{4,5}

Warning and Precautions:

1. This antibody contains less than 0.1% sodium azide. Concentrations less than 0.1% are not reportable hazardous materials according to U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard communication and EC Directive 91/155/EC. Sodium azide (NaN₃) used as a preservative is toxic if ingested. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent azide build-up in plumbing. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶
2. Specimens, before and after fixation, and all materials exposed to them should be handled as if capable of transmitting infection and disposed of with proper precautions. Never pipette reagents by mouth and avoid contacting the skin and mucous membranes with reagents and specimens. If reagents or specimens come into contact with sensitive areas, wash with copious amounts of water.⁷
3. Microbial contamination of reagents may result in an increase in nonspecific staining.
4. Incubation times or temperatures other than those specified may give erroneous results. The user must validate any such change.
5. Do not use reagent after the expiration date printed on the vial.
6. Prediluted antibody reagent is optimally diluted for use. Further dilution may result in loss of antigen staining.
7. Dilution of concentrated antibody reagent must be validated before use. Any diluent used that is not specifically recommended also must be validated for compatibility and stability.
8. The SDS is available upon request and is located at <http://biocare.net>.

Instructions for Use:

Recommended Staining Protocols for HLA-B [BC43]:

IntelliPATH FLX and manual use:

API3289 for IntelliPATH FLX and manual use, has been standardized with MACH 4 detection system. Use TBS for washing steps.	
Peroxide Block:	Block for 5 minutes with Peroxidized 1.
Pretreatment:	Perform heat retrieval using Reveal Decloaker. Refer to the Reveal Decloaker data sheet for specific instructions.
Protein Block (Optional):	Incubate for 5-10 minutes at RT with Background Punisher.
Primary Antibody:	Incubate for 30 minutes at RT.
Detection:	Probe: Incubate for 10 minutes at RT with a secondary polymer. Polymer: Incubate for 20 minutes at RT with a tertiary polymer.
Chromogen:	Incubate for 5 minutes at RT with Biocare's DAB – OR – Incubate for 5-7 minutes at RT with Warp Red.
Counterstain:	Counterstain with hematoxylin. Rinse with deionized water. Apply Tacha's Bluing Solution for 1 minute. Rinse with deionized water.

ONCORE Pro Automated Slide Staining System:

OPAI3289 is intended for use with the ONCORE Pro. Refer to the User Manual for specific instructions for use. Protocol parameters in the Protocol Editor should be programmed as follows:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Ms HRP Template 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, low pH; 101°C
Block Option:	Buffer
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 min., 25°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3289 is intended for use with the BenchMark ULTRA. Refer to the User Manual for specific instructions for use. Recommended protocol parameters are as follows:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minutes
Peroxidase:	Pre-Primary Peroxidase Inhibitor
Primary Antibody:	8 minutes, 36°C

Q Series – For Leica BOND-III:

ALI3289 is intended for use with the Leica BOND-III. Refer to the User Manual for specific instructions for use. Recommended protocol parameters are as follows:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	IHC Protocol F
Detection:	Bond Polymer Refine
HIER:	10 min with ER1
Peroxide Block:	5 min
Marker (Primary Antibody):	15 min
Post Primary:	8 min
Polymer:	8 min
Mixed Chromogen Refine:	10 min
Hematoxylin:	5 min

Quality Control:

Refer to CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁸

Positive Tissue Control: Tonsil

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

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

Known positive tissue controls should only be utilized for monitoring the correct performance of processed tissues and test reagents, rather than as an aid in formulating a specific diagnosis of patient samples. If the positive



HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

English

BIOCARE
M E D I C A L

tissue controls fail to demonstrate positive staining, results with the test specimens should be considered invalid.

Negative Tissue Control:

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

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

Nonspecific Negative Reagent Control:

Use a nonspecific negative reagent control in place of the primary antibody with a section of each patient specimen to evaluate nonspecific staining and allow better interpretation of specific staining at the antigen site. Ideally, a negative reagent control contains an HLA-B [BC43] IgG1 Kappa antibody produced from tissue culture supernatant in the same way as the primary antibody but exhibits no specific reactivity with human tissues in the same matrix/solution as the Biocare antibody. Dilute a negative control antibody to the same immunoglobulin or protein concentration as the diluted primary antibody using the identical diluent. If fetal calf serum is retained in the neat antibody after processing, fetal calf serum at a protein concentration equivalent to the diluted primary antibody in the same diluent is also suitable for use. (Refer to reagent provided). Diluent alone may be used as a less desirable alternative to the previously described negative reagent controls. The incubation period for the negative reagent control should correspond to that of the primary antibody.

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

Assay Verification:

Prior to initial use of an antibody or staining system in a diagnostic procedure, the user should verify the antibody's specificity by testing it on a series of in-house tissues with known immunohistochemical performance characteristics representing known positive and negative tissues. Refer to the quality control procedures previously outlined in this section of the product insert and to the quality control recommendations of the CAP Certification Program⁹ for Immunohistochemistry and/or the NCCLS IHC guideline¹⁰). These quality control procedures should be repeated for each new antibody lot, or whenever there is a change in assay parameters. Tissues listed in the Performance Characteristics Section are suitable for assay verification.

Troubleshooting:

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

Interpretation of Staining:

Positive Tissue Control:

The positive tissue control stained with indicated antibody should be examined first to ascertain that all reagents are functioning properly. The appropriate staining of target cells (as indicated above) is indicative of positive reactivity. If the positive tissue controls fail to demonstrate positive staining, any results with the test specimens should be considered invalid.

The color of the reaction product may vary depending on substrate chromogens used. Refer to substrate package inserts for expected color reactions. Further, metachromasia may be observed in variations of the method of staining.¹¹

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

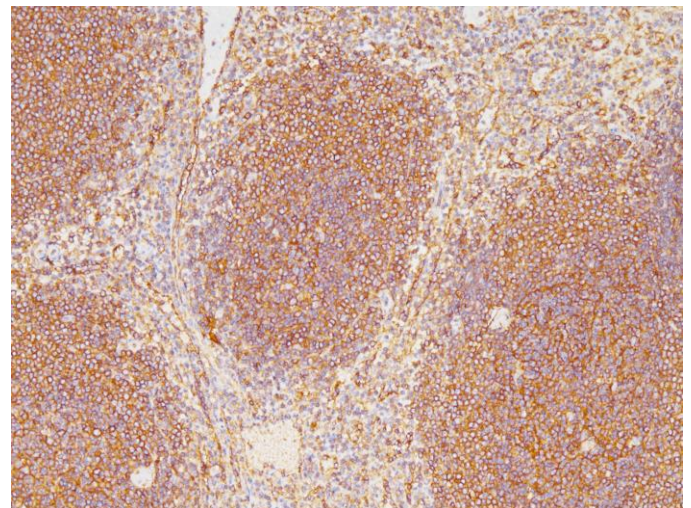
Negative Tissue Control:

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

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

Patient Tissue:

Examine patient specimens stained with indicated antibody last. Positive staining intensity should be assessed within the context of any nonspecific background staining of the negative reagent control. As with any immunohistochemical test, a negative result means that the antigen was not detected, not that the antigen was absent in the cells/tissue assayed. If necessary, use a panel of antibodies to identify false-negative reactions.



Spleen stained with HLA-B [BC43] antibody

Refer to Summary and Explanation, Limitations, and Performance Characteristics for specific information regarding indicated antibody immunoreactivity.

Limitations:

General Limitations:

1. For *in vitro* diagnostic Use
2. This product is for professional use only; Immunohistochemistry is a multistep diagnostic process that consists of specialized training in the selection of the appropriate reagents; tissue selection, fixation, and

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

3/150

IVD

TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

English

BIOCARE
M E D I C A L

- processing; preparation of the IHC slide; and interpretation of the staining results.
3. 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.¹²
 4. Excessive or incomplete counterstaining may compromise proper interpretation of results.
 5. The clinical interpretation of any positive or negative staining should be evaluated within the context of clinical presentation, morphology, and other histopathological criteria. The clinical interpretation of any positive or negative staining should be complemented by morphological studies using proper positive and negative internal and external controls as well as other diagnostic tests. It is the responsibility of a qualified pathologist who is familiar with the proper use of IHC antibodies, reagents, and methods to interpret all the steps used to prepare and interpret the final IHC preparation.
 6. The optimum antibody dilution and protocols for a specific application can vary. These include, but are not limited to fixation, heat-retrieval method, incubation times, tissue section thickness and detection kit used. Due to the superior sensitivity of these unique reagents, the recommended incubation times and titers listed are not applicable to other detection systems, as results may vary. The data sheet recommendations and protocols are based on exclusive use of Biocare products. Ultimately, it is the responsibility of the investigator to determine optimal conditions.
 7. This product is not intended for use in flow cytometry. Performance characteristics have not been determined for flow cytometry.
 8. Tissues from persons infected with hepatitis B virus and containing hepatitis B surface antigen (HBsAg) may exhibit nonspecific staining with horseradish peroxidase.¹³
 9. Reagents may demonstrate unexpected reactions in previously untested tissues. The possibility of unexpected reactions even in tested tissue groups cannot be completely eliminated due to biological variability of antigen expression in neoplasms, or other pathological tissues.¹⁴ Contact Biocare's Technical Support at 1-800-542-2002, or via the technical support information provided on biocare.net, with documented unexpected reaction(s).
 10. Normal/nonimmune sera from the same animal source as secondary antisera used in blocking steps may cause false-negative or false-positive results due to autoantibodies or natural antibodies.
 11. False-positive results may be seen due to non-immunological binding of proteins or substrate reaction products. They may also be caused by pseudo peroxidase activity (erythrocytes), endogenous peroxidase activity (cytochrome C), or endogenous biotin (e.g., liver, breast, brain, kidney) depending on the type of immunostain used.¹²

Product Specific Limitations:

There are no additional limitations known.

Performance Characteristics:

Sensitivity, specificity, and cross-reactivity are summarized in Tables 1 and 2, respectively.

Reproducibility:

Reproducibility of antibody performance was verified by testing select normal and tumor tissue on various days and various instruments with multiple operators. Staining of the select tissues was consistent and performed as expected.

Intra-run reproducibility of staining was determined by staining five tissues containing the same tissue on multiple instruments.

Inter-run reproducibility of staining was determined by staining five slides containing the same tissue on three days/runs on the same instrument. All

testing passed with the same scores, as defined by Biocare's internal scoring guidelines.

Immunoreactivity:

The following positive and negative immunoreactivities have been demonstrated in Tables 1 and 2 below.

The list provided below is not exhaustive but characterizes the types of immunoreactivities observed with the indicated antibody.

Summary of Expected Results:

This antibody was found to be immunoreactive with all types of tissues on which it was tested, including all types of lymphomas and normal human tissue. The staining is predominantly membranous but can also appear cytoplasmic when in high expression samples. Staining is present predominantly in endothelial cells and lymphocytes with lower prevalence in epithelial cells in some tissue.

Table 1: Sensitivity and specificity were determined by testing formalin-fixed, paraffin-embedded diseased tissues.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

English

BIOCARE
M E D I C A L

Table 2: Tissue cross-reactivity was determined by testing formalin-fixed, paraffin-embedded normal tissues.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Cerebrum	5	6
Cerebellum	3	3
Adrenal	3	3
Ovary	2	3
Pancreas	3	3
Lymph Node	3	3
Trachea	3	3
Testis	5	5
Thyroid	3	3
Breast	2	2
Spleen	4	4
Tonsil	3	3
Thymus	3	3
Bone Marrow	3	3
Lung	3	3
Heart	3	3
Esophagus	3	3
Stomach	2	3
Small Intestine	3	3
Colon	3	3
Liver	3	3
Salivary Gland	3	3
Kidney	3	3
Prostate	3	3
Uterus	3	3
Cervix	3	3
Skeletal Muscle	2	3
Skin	2	2
Peripheral Nerve	3	3
Lining Cells	2	2
Eye	3	3
Larynx	3	3

Troubleshooting:

1. No staining of any slides – Check to determine appropriate positive control tissue, antibody, and detection products have been used.
2. Weak staining of all slides – Check to determine appropriate positive control tissue, antibody, and detection products have been used.
3. Excessive background of all slides – There may be high levels of endogenous biotin (if using biotin-based detection products), endogenous HRP activity converting chromogen to colored end product (use peroxidase block), or excess non-specific protein interaction (use a protein block, such as serum- or casein-based blocking solution).
4. Tissue sections wash off slides during incubation – Check slides to ensure they are positively charged.
5. Specific staining too dark – Check protocol to determine if proper antibody titer was applied to slide, as well as proper incubation times for all reagents. Additionally, ensure the protocol has enough washing steps to remove excess reagents after incubation steps are completed.

References:

1. Kiernan JA. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. *Theory and Practice of Histotechnology*. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. *Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule*, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. *J Histotechnol*. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. *Biotech Histochem*. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. *Guide: Safety Management*, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.*
8. *CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011*
9. *College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry*. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. *Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline*. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. *Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques*. *Histochemistry* 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. *Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls*. *Lab Med* 1983; 14:767.
13. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. *Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry*. *AmJ Clin Path* 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. *The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control*. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.
15. Olson E, Geng J, Raghavan M. *Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity*. *Curr Opin Immunol*. 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. *Distinct assembly profiles of HLA-B molecules*. *J Immunol*. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Ultraline antibodies are developed solely by Biocare Medical LLC and do not imply approval or endorsement of Biocare antibodies by Ventana Medical Systems, Inc or Roche. Biocare, Ventana and Roche are not affiliated, associated, or related in any way. Ventana®, BenchMark®, ultraView and OptiView are trademarks of Roche.

Q Series antibodies are developed solely by Biocare Medical LLC and do not imply approval or endorsement of Biocare antibodies by Leica Biosystems. Biocare and Leica Biosystems are not affiliated, associated, or related in any way. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX, and BOND-III are trademarks of Leica Biosystems.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

5/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Bulgarian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Предназначение:

За *in vitro* Диагностична употреба

HLA-B [BC43] е мише моноклонално антитяло, което е предназначено за лабораторна употреба, след като първоначалната диагноза на тумора е направена чрез конвенционална хистопатология, използвайки неимунологични хистохимични оцветявания, при качествената идентификация на HLA-B протеин чрез имунохистохимия (IHC) в човешки тъкани, фиксирани във формалин, вградени в парафин (FFPE). Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или липсата му трябва да бъде допълнена от морфологични изследвания, като се използват подходящи контроли и трябва да бъде оценена в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични тестове от квалифициран патолог като помощ при вземането на други клинични определения.

Резюме и обяснение:

HLA-B е силно полиморфен протеин, кодиращ ген за главния комплекс на хистосъвместимост клас I (MHC-I).¹⁵ MHC клас I молекули се експресират върху клетъчната повърхност, свързвайки и представяйки антигенни пептиди към CD8+ Т лимфоцити, за да медиатират имунните отговори срещу вътреклетъчни патогени и ракови заболявания.¹⁶

Принцип на процедурата:

Това антитяло може да се използва като първично антитяло при имунохистохимично изследване на фиксирани във формалин, вградени в парафин тъканни срезове. Като цяло имунохистохимичните (IHC) техниките на оцветяване позволяват визуализация на антигени чрез последователно прилагане на а специфично антитяло към антигена (първично антитяло), вторично антитяло към първичното антитяло (по избор свързващо антитяло/сонда), ензимен комплекс и хромогенен субстрат с вмъкнати стъпки на промиване. Ензимното активиране на хромогена води до видим реакционен продукт на мястото на антигена. След това образецът може да бъде насрещно оцветен и покрит с капак. Резултатите се интерпретират с помощта на светлина микроскоп и помощ при диференциалната диагноза на патологични процеси, които могат или може да не са свързани с определен антиген.

Материали и методи:

Осигурени реагенти:

Източник на хост: Мишка моноклонална

Реактивност на видовете: Човек; други видове не са тествани.

Клонинг: BC43

Изотип: IgG1 капа

Концентрация на протеин: Вижте етикета на флакона за специфична за партидата концентрация.

Специфична концентрация на IgG: Свържете се с техническата поддръжка на Biocare

Специфичност: HLA-B

Клетъчна локализация: Клетъчната мембрана

Метод: Афинитетно пречистен миши моноклонален

Разтваряне, смесване, разреждане, титруване:

Предварително разределеният реагент за антитела е оптимално разреден за използване с изброените по-горе системи за оцветяване. По-нататъшното разреждане може да доведе до загуба на антигенно оцветяване. Потребителят трябва да потвърди всяка такава промяна. Разлики в обработката на тъканите и техническите процедури в лабораторията на потребителя може да доведе до значителна променливост в резултатите, което налага редовно извършване на вътрешни контроли (вижте раздела за контрол на качеството). Концентрираният реагент изисква разреждане, както е посочено в таблицата по-горе.

Известни приложения:

Имунохистохимия (фиксирани във формалин тъкани, вградени в парафин)

Доставя се като: Буфериран физиологичен разтвор, 5,9-7,4, съдържащ протеинов носител и консервант по-малко от 0,1% натриев азид. Вижте Информационния лист за безопасност за допълнителни подробности.

Необходими, но неосигурени материали и реагенти:

Микроскопски предметни стъкла са положително заредени.

Положителни и отрицателни тъканни контроли

Пустинна камера (или подобна сушилна)

Ксилен или заместител на ксилен

Етанол или реактив алкохол

Камера за разкриване (тенджер под налягане)

Дейониизирана или дестилирана вода

Измиващ буфер

Реагенти за предварителна обработка

Пероксидазен блок

Протеинов блок (по избор)

Сонда за откриване и полимер

Реагенти за отрицателна контрола

Хромогени

Хематоксилин (контраоцветяване)

Реагент за посиняване

Монтажна среда

Покривно стъкло

Светлинен микроскоп (40-400 пъти увеличение)

*Конфигурациите на продукта с антитела са налични за използване на инструментите, посочени в таблицата по-горе.

Съхранение и стабилност:

Съхранявайте при 2°C до 8°C. Продуктът е стабилен до срока на годност, отпечатан върху етикета на флакона, когато се съхранява при тези условия. Да не се използва след изтичане на срока на годност. Съхранението при условия, различни от посочените, трябва да бъде проверено. Разредените реагенти трябва да се използват незабавно; съхранявайте останалия реагент при 2°C до 8°C. Стабилността на разределения от потребителя реагент не е установена от Biocare.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Bulgarian

BIOCARE
M E D I C A L

Положителните и отрицателните контроли трябва да се провеждат едновременно с всички проби от пациенти. Ако се наблюдава неочаквано оцветяване, което не може да се обясни с вариации в лабораторните процедури и се подозира проблем с анти тялото, свържете се с техническата поддръжка на Biocare на 1-800-542-2002 или чрез информацията за техническа поддръжка, предоставена на biocare.net.

Подготовка на пробата:

Тъкани, фиксирани във формалин са подходящи за използване преди парафиново вграждане. Костните тъкани трябва да бъдат декалцифицирани преди обработката на тъканите, за да се улесни разрязването на тъканите и да се предотврати повреда на остриетата на микротомата.^{1,2}

Правилно фиксирани и вградени тъкани, експресиращи определената антигенна цел, трябва да се съхраняват на хладно място. Законът за подобряване на клиничната лаборатория (CLIA) от 1988 г. изисква в 42 CFR §493.1259(b), че „Лабораторията трябва да съхранява оцветени слайдове най-малко десет години от датата на изследване и съхранявайте блоковете с проби най-малко две години от датата на изследването.“³

Третиране на тъкани преди оцветяване:

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

Предупреждение и предпазни мерки:

1. Това анти тяло съдържа по-малко от 0,1% натриев азид. Концентрации по-малки от 0,1% не са опасни материали, които не подлежат на докладване, съгласно U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA съобщение за опасност и Директива 91/155/EC на ЕО. Натриев азид (NaN₃), използван като консервант, е токсичен при поглъщане. Натриевият азид може да реагира с оловни и медни водопроводи, за да образува силно експлозивни метални азиди. При изхвърляне, изплакнете с големи количества вода, за да предотвратите натрупването на азид във водопроводната инсталация. (Център за контрол на заболяванията, 1976 г., Национален институт по безопасност и здраве при работа, 1976 г.)⁶
2. Пробите, преди и след фиксиране, и всички материали, изложени на тях, трябва да се третират като способни да предадат инфекция и да се изхвърлят с подходящи предпазни мерки. Никога не пипетирайте реагенти с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реагентите и пробите. Ако реагенти или проби влязат в контакт с чувствителни зони, измийте ги с обилно количество вода.⁷
3. Микробното замърсяване на реагентите може да доведе до увеличаване на неспецифичното оцветяване.
4. Инкубационни времена или температури, различни от посочените, могат да дадат грешни резултати. Потребителят трябва да потвърди всяка такава промяна.
5. Не използвайте реагент след срока на годност, отпечатан върху флакона.
6. Предварително разреден реагент на анти тяло е оптимално разреден за употреба. По-нататъшното разреждане може да доведе до загуба на антигенно оцветяване.
7. Разреждането на концентрирания реагент за анти тяло трябва да бъде валидирано преди употреба. Всеки използван разреждател, който не е специално препоръчан, също трябва да бъде валидиран за съвместимост и стабилност.
8. ИЛБ е достъпен при поискване и се намира на <http://biocare.net>.

Инструкции за употреба:

Препоръчителни протоколи за оцветяване за HLA-B [BC43]:

IntelliPATH FLX и ръчна употреба:

API3289 за IntelliPATH FLX и ръчна употреба е стандартизиран с MACH 4 система за откриване. Използвайте TBS за стъпките на измиване.	
Peroxide Block:	Блокирайте за 5 минути с Peroxidized 1.
Pretreatment:	Извършете извличане на топлина с помощта на Reveal Decloaker. Обърнете се към информационния лист на Reveal Decloaker за конкретни инструкции.
Protein Block (Optional):	Инкубирайте за 5-10 минути при RT с Background Punisher.
Primary Antibody:	Инкубирайте за 30 минути при RT.
Detection:	Сонда: Инкубирайте за 10 минути при RT с вторичен полимер.
	Полимер: Инкубирайте за 20 минути при стайна температура с третичен полимер.
Chromogen:	Инкубирайте за 5 минути при стайна температура с DAB на Biocare – ИЛИ – Инкубирайте за 5-7 минути при стайна температура с Warp Red.
Counterstain:	Контраоцветяване с хематоксилин. Изплакнете с дейонизирана вода. Нанесете Tacha's Bluing Solution за 1 минута. Изплакнете с дейонизирана вода.

Автоматизирана система за оцветяване на слайдове ONCORE Pro:

OPI3289 е предназначен за използване с ONCORE Pro. Обърнете се към ръководството за потребителя за конкретни инструкции за употреба. Параметрите на протокола в редактора на протоколи трябва да бъдат програмирани, както следва:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Ms HRP Template 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, low pH; 101°C
Block Option:	Buffer
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 min., 25°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3289 е предназначен за използване с BenchMark ULTRA. Обърнете се към ръководството за потребителя за конкретни инструкции за употреба. Препоръчителните параметри на протокола са както следва:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 минути
Peroxidase:	Предварителен инхибитор на пероксидазата
Primary Antibody:	8 минути, 36°C

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Bulgarian

BIOCARE
M E D I C A L

Серия Q – за Leica BOND-III:

ALI3289 е предназначен за използване с Leica BOND-III. Обърнете се към ръководството за потребителя за конкретни инструкции за употреба. Препоръчителните параметри на протокола са както следва:

Опция за оцветяване с хромоген	DAB
Protocol Name:	IHC Protocol F
Detection:	Bond Polymer Refine
HIER:	10 min with ER1
Peroxide Block:	5 min
Marker (Primary Antibody):	15 min
Post Primary:	8 min
Polymer:	8 min
Mixed Chromogen Refine:	10 min
Hematoxylin:	5 min

Контрол на качеството:

Обърнете се към стандартите за качество на CLSI за проектиране и прилагане на имунохистохимични анализи; Одобрено ръководство-второ издание (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA CAЩ (www.clsi.org). 2011 г.

Положителен тъканен контрол: сливица

Материалите за външна положителна контрола трябва да бъдат пресни проби, фиксирани, обработени и вградени възможно най-скоро по същия начин като пробата(ите) на пациента. Положителните тъканни контроли са показателни за правилно подготвени тъкани и подходящи техники за оцветяване. Във всеки цикъл на оцветяване трябва да се включи една положителна външна тъканна контрола за всеки набор от условия на теста.

Тъканите, използвани за материалите за външна положителна контрола, трябва да бъдат избрани от проби от пациенти с добре охарактеризирани ниски нива на положителна целева активност, която дава слабо положително оцветяване. Ниското ниво на положителност за външни положителни контроли е предназначено да осигури откриване на фини промени в чувствителността на първичното анти тяло от нестабилност или проблеми с ИНС методологията. Предлаганите в търговската мрежа предметни стъкла за контрол на тъкани или проби, обработени по различен начин от пробата(ите) на пациента, валидират само ефективността на реагента и не проверяват подготовката на тъканите.

Известни положителни тъканни контроли трябва да се използват само за наблюдение на правилната работа на обработените тъкани и тестови реагенти, а не като помощ при формулиране на конкретна диагноза на проби от пациенти. Ако положителните тъканни контроли не успеят да покажат положително оцветяване, резултатите с тестовите проби трябва да се считат за невалидни.

Отрицателен тъканен контрол:

Използвайте отрицателна тъканна контрола (известна като HLA-B отрицателна), фиксирана, обработена и вградена по начин, идентичен с пробата(ите) на пациента при всяко оцветяване, за да проверите специфичността на ИНС първичното анти тяло за демонстрация на целевия антиген и за предоставяне на индикация за специфично фоново оцветяване (фалшиво положително оцветяване). Освен това разнообразието от различни видове клетки, присъстващи в повечето тъканни срезове, може да бъдат използвани от лабораторията като вътрешни отрицателни контролни места за проверка на работата на ИНС спецификации. Типовете и източниците на проби, които могат да се използват за отрицателна тъкан контролите са изброени в раздела Характеристики на ефективността.

Ако се появи специфично оцветяване (фалшиво положително оцветяване) в отрицателната тъканна контрола, резултатите от пробите на пациента трябва да се считат за невалидни.

Неспецифичен отрицателен контролен реагент:

Използвайте неспецифична отрицателна контрола на реагента на мястото на първичното анти тяло със секция от всяка проба от пациент, за да оцените неспецифичното оцветяване и позволяват по-добра интерпретация на специфичното оцветяване на антигенното място. В идеалния случай отрицателната реактивна контрола съдържа HLA-B [BC43] IgG1 Капа анти тяло, произведено от супернатанта на тъканна култура по същия начин като първичното анти тяло, но не проявява специфична реактивност с човешки тъкани в същата матрица/разтвор като Biocare анти тяло. Разреждете отрицателно контролно анти тяло до същата концентрация на имуноглобулин или протеин като разреденото първично анти тяло, като се използва идентичен разреждател. Ако фетален телешки серум се задържа в чистото анти тяло след обработката, фетален телешки серум с протеинова концентрация, еквивалентна на разредената първично анти тяло в същия разреждател също е подходящо за употреба. (Вижте предоставения реагент). Само разреждател може да се използва като по-малко желана алтернатива на описаните по-горе отрицателни реактивни контроли. Инкубационният период за отрицателната реактивна контрола трябва да съответства на този на първичното анти тяло.

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

Проверка на анализа:

Преди първоначалното използване на анти тяло или система за оцветяване в диагностична процедура, потребителят трябва да провери специфичността на анти тялото, като го тества върху поредица от вътрешни тъкани с известни имунохистохимични характеристики, представляващи известни положителни и отрицателни тъкани. Обърнете се към процедурите за контрол на качеството, посочени по-рано в този раздел на листовката на продукта, и към препоръките за контрол на качеството на програмата за сертифициране на CAP® за имунохистохимия и/или насоките за ИНС на NCCLS®. Тези процедури за контрол на качеството трябва да се повтарят за всяка нова партида анти тяло или винаги, когато има промяна в параметрите на анализа. Тъканите, изброени в раздела за характеристиките на ефективността, са подходящи за проверка на анализа.

Отстраняване на неизправности:

Следвайте препоръките за специфичен протокол за анти тела съгласно предоставения лист с данни. Ако възникнат нетипични резултати, свържете се с техническата поддръжка на Biocare на 1-800-542-2002.

Тълкуване на оцветяването:

Положителен тъканен контрол:

Положителната тъканна контрола, оцветена с посоченото анти тяло, трябва първо да се изследва, за да се установи, че всички реагенти функционират правилно. Подходящото оцветяване на прицелните клетки (както е посочено по-горе) е показателно за положителна реактивност. Ако положителните тъканни контроли не успеят да покажат положително оцветяване, всички резултати с тестовите проби

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Bulgarian

BIOCARE
M E D I C A L

трябва да се считат за невалидни. Цветът на реакционния продукт може да варира в зависимост от използваните субстратни хромогени. Вижте листовките на опаковката на субстрата за очакваните цветни реакции. Освен това метахромазията може да се наблюдава при вариации на метода на оцветяване.¹¹

Когато се използва противооцветяване, в зависимост от продължителността на инкубацията и ефикасността на използваното противооцветяване, противооцветяването ще доведе до оцветяване на клетъчните ядра. Прекомерното или непълно контрастно оцветяване може да компрометира правилното тълкуване на резултатите. Обърнете се към протокола(ите) за препоръчаното контраоцветяване.

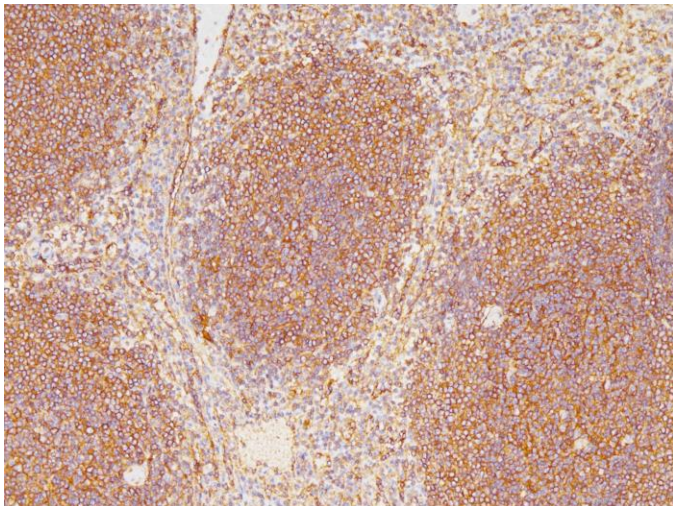
Отрицателен тъканен контрол:

Отрицателната тъканна контрола трябва да се изследва след положителната тъканна контрола, за да се провери специфичността на маркирането на целевия антиген от първичното антияло. Липсата на специфично оцветяване в отрицателната тъканна контрола потвърждава липсата на кръстосана реактивност на антигеном към клетки/клетъчни компоненти. Ако се появи специфично оцветяване (фалшиво положително оцветяване) в отрицателната външна тъканна контрола, резултатите от пробата от пациента трябва да се считат за невалидни.

Неспецифичното оцветяване, ако е налице, обикновено има дифузен вид. Спорадично оцветяване на съединителната тъкан може да се наблюдава и в срезове от прекомерно фиксирани с формалин тъкани. Използвайте непокътнати клетки за тълкуване на резултатите от оцветяването. Некротичните или дегенерирани клетки често се оцветяват неспецифично.

Тъкан на пациента:

Изследвайте проби от пациенти, оцветени с посоченото антияло последно. Положителният интензитет на оцветяване трябва да се оценява в контекста на всяко неспецифично фоново оцветяване на отрицателната контрола с реагент. Както при всеки имунохистохимичен тест, отрицателният резултат означава, че антигенът не е открит, а не че антигенът липсва в изследваните клетки/тъкан. Ако е необходимо, използвайте панел от антигени за идентифициране на фалшиво-отрицателни реакции.



Далак, оцветен с HLA-B [BC43] антияло

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

Ограничения:

Общи ограничения:

1. *Заинвитро* диагностична употреба
2. Този продукт е само за професионална употреба: Имунохистохимията е многоетапен диагностичен процес, който се състои от специализирано обучение за избор на подходящи реагенти; подбор, фиксиране и обработка на тъкани; подготовка на IHC слайда; и интерпретация на резултатите от оцветяването.
3. Оцветяването на тъканта зависи от обработката и обработката на тъканта преди оцветяването. Неправилното фиксиране, замразяване, размразяване, измиване, сушене, нагряване, нарязване или замърсяване с други тъкани или течности може да доведе до артефакти, улавяне на антигеном или фалшиво отрицателни резултати. Непоследователните резултати може да се дължат на вариации в методите за фиксиране и вграждане или на присъщи нередности в тъканта.¹²
4. Прекомерното или непълно контрастно оцветяване може да компрометира правилното тълкуване на резултатите.
5. Клиничната интерпретация на всяко положително или отрицателно оцветяване трябва да се оценява в контекста на клиничното представяне, морфологията и други хистопатологични критерии. Клиничната интерпретация на всяко положително или отрицателно оцветяване трябва да бъде допълнена от морфологични изследвания, като се използват подходящи положителни и отрицателни вътрешни и външни контроли, както и други диагностични тестове. Отговорност на квалифициран патолог, който е запознат с правилното използване на IHC антигеном, реагенти и методи, е да интерпретира всички стъпки, използвани за подготовка и тълкуване на крайния IHC препарат.
6. Оптималното разреждане на антигеном и протоколите за конкретно приложение могат да варират. Те включват, но не се ограничават до фиксиране, метод за извличане на топлина, времена на инкубация, дебелина на тъканния участък и използван комплект за откриване. Поради превъзходната чувствителност на тези уникални реагенти, посочените препоръчителни времена на инкубация и титри не са приложими за други системи за откриване, тъй като резултатите може да варират. Препоръките и протоколите в информационния лист се основават на изключителното използване на продуктите Biocare. В крайна сметка отговорност на изследвателя е да определи оптималните условия.
7. Този продукт не е предназначен за използване в поточна цитометрия. Характеристиките на ефективността не са определени за поточна цитометрия.
8. Тъкани от хора, заразени с вируса на хепатит В и съдържащи повърхностен антиген на хепатит В (HBsAg), могат да проявят неспецифично оцветяване с пероксидаза от хрян.¹³
9. Реагентите могат да покажат неочаквани реакции в нетествани преди това тъкани. Възможността за неочаквани реакции дори в тествани тъканни групи не може да бъде напълно елиминирана поради биологичната вариабилност на експресията на антиген в неоплазми или други патологични тъкани.¹⁴ Свържете се с техническата поддръжка на Biocare на 1-800-542-2002 или чрез информацията за техническа поддръжка, предоставена на biocare.net, с документираните неочаквани реакции.
10. Нормалните/неимунни серуми от същия животински източник като вторичните антисеруми, използвани в етапите на блокиране, могат да причинят фалшиво отрицателни или фалшиво положителни резултати поради автоантигеном или естествени антигеном.
11. Могат да се наблюдават фалшиви положителни резултати поради неимунологично свързване на протеини или продукти на субстратна реакция. Те могат също да бъдат причинени от

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Bulgarian

BIOCARE
M E D I C A L

псевдопероксидазна активност (еритроцити), ендогенна пероксидазна активност (цитохром С) или ендогенен биотин (напр. черен дроб, гърди, мозък, бъбрек) в зависимост от вида на използваното имунооцветяване.¹²

Специфични за продукта ограничения:

Не са известни допълнителни ограничения.

Характеристики на изпълнение:

Чувствителността, специфичността и кръстосаната реактивност са обобщени съответно в таблици 1 и 2.

Възпроизводимост:

Възпроизводимостта на ефективността на антиялото беше проверена чрез тестване на избрана нормална и туморна тъкан в различни дни и различни инструменти с множество оператори. Оцветяването на избраните тъкани беше последователно и извършено според очакванията.

Възпроизводимостта на оцветяването в цикъл се определя чрез оцветяване на пет тъкани, съдържащи една и съща тъкан, върху множество инструменти.

Възпроизводимостта на оцветяването между цикъла се определя чрез оцветяване на пет предметни стъкла, съдържащи една и съща тъкан за три дни/провеждания на един и същ инструмент. Всички тестове преминаха с едни и същи резултати, както е определено от вътрешните насоки за оценяване на Biocare.

Имунореактивност:

Следните положителни и отрицателни имунореактивности са демонстрирани в таблици 1 и 2 по-долу.

Предоставеният по-долу списък не е изчерпателен, но характеризира видовете имунореактивност, наблюдавани с посоченото антияло.

Обобщение на очакваните резултати:

Установено е, че това антияло е имунореактивно с всички видове тъкани, върху които е тествано, включително всички видове лимфоми и нормална човешка тъкан. Оцветяването е предимно мембранно, но може да изглежда и цитоплазмено, когато е в проби с висока експресия. Оцветяването присъства предимно в ендотелните клетки и лимфоцитите с по-ниско разпространение в епителните клетки в някои тъкани.

Маса 1: Чувствителността и специфичността се определят чрез тестване на фиксирани във формалин, вградени в парафин болни тъкани.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Таблица 2: Тъканната кръстосана реактивност се определя чрез тестване на фиксирани във формалин, вградени в парафин нормални тъкани.

Тъкан	Положителни случаи	Общо случаи
Мозъчен мозък	5	6
Малък мозък	3	3
Надбъбречна	3	3
Яйчник	2	3
Панкреас	3	3
Лимфен възел	3	3
Трахеята	3	3
тестис	5	5
Щитовидна жлеза	3	3
Гърди	2	2
далак	4	4
сливица	3	3
Тимус	3	3
Костен мозък	3	3
Бял дроб	3	3
сърце	3	3
хранопровод	3	3
Стомах	2	3
Тънко черво	3	3
Дебело черво	3	3
Черен дроб	3	3
Слюнчена жлеза	3	3
Бъбрек	3	3
Простата	3	3
Матка	3	3
Маточна шийка	3	3
Скелетни мускули	2	3
кожа	2	2
Периферен нерв	3	3
Облицовъчни клетки	2	2
око	3	3
Ларинкса	3	3

Отстраняване на неизправности:

1. Няма оцветяване на предметни стъкла – Проверете, за да определите, че са използвани подходящи тъкани за положителна контрола, антитела и продукти за откриване.
2. Слабо оцветяване на всички предметни стъкла – Проверете, за да определите, че са използвани подходящи тъкани за положителна контрола, антитела и продукти за откриване.
3. Прекален фон на всички предметни стъкла – Възможно е да има високи нива на ендогенен биотин (ако се използват продукти за откриване на базата на биотин), ендогенна HRP активност, превръщаща хромогена в оцветен краен продукт (използвайте пероксидазен блок) или прекомерно неспецифично протеиново взаимодействие (използвайте протеин блок, като блокиращ разтвор на базата на серум или казеин).

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Bulgarian

BIOCARE
M E D I C A L

4. Тъканните срезове се измиват от предметните стъкла по време на инкубацията – Проверете предметните стъкла, за да се уверите, че са положително заредени.
5. Специфично оцветяване е твърде тъмно – Проверете протокола, за да определите дали към предметното стъкло е приложен правилен титър на антитела, както и правилните времена на инкубация за всички реагенти. Освен това се уверете, че протоколът има достатъчно стъпки на промиване, за да се отстранят излишните реагенти след приключване на стъпките на инкубация.

Препратки:

1. Kiernan JA. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. *Theory and Practice of Histotechnology*. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. *Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule*, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. *J Histotechnol*. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. *Biotech Histochem*. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. *Guide: Safety Management*, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition* CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
8. CLSI *Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2)* CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) *Certification Program for Immunohistochemistry*. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. *Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline*. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. *Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques*. *Histochemistry* 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. *Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls*. *Lab Med* 1983; 14:767.
13. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. *Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry*. *AmJ Clin Path* 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. *The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control*. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.
15. Olson E, Geng J, Raghavan M. *Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity*. *Curr Opin Immunol*. 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. *Distinct assembly profiles of HLA-B molecules*. *J Immunol*. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Ultraline антителата са разработени единствено от Biocare Medical LLC и не означават одобрение или одобрение на Biocare антитела от Ventana Medical Systems, Inc или Roche. Biocare, Ventana и Roche не са свързани, свързани или свързани по никакъв начин. Ventana®, BenchMark®, ultraView и OptiView са търговски марки на Roche.

Антителата от серията Q са разработени единствено от Biocare Medical LLC и не предполагат одобрение или одобрение на антителата Biocare от Leica Biosystems. Biocare и Leica Biosystems не са свързани, свързани или свързани по никакъв начин. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX и BOND-III са търговски марки на Leica Biosystems.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Chinese (Simplified)

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

有可能的使用:

为了体外诊断用途

HLA-B [BC43] 是一种小鼠单克隆抗体, 在使用非免疫组织化学染色剂通过常规组织病理学对肿瘤进行初步诊断后, 供实验室使用, 用于 HLA-B 的定性鉴定。通过免疫组织化学 (IHC) 检测福尔马林固定石蜡包埋 (FFPE) 人体组织中的蛋白质。任何染色或染色缺失的临床解释均应通过使用适当对照的形态学研究来补充, 并应在患者的临床病史和由合格病理学家进行的其他诊断测试的背景下进行评估, 以帮助做出任何其他临床决定。

总结与说明:

HLA-B 是主要组织相容性 I 类 (MHC-I) 复合体的高度多态性蛋白质编码基因。¹⁵ MHC I 类分子在细胞表面表达, 结合抗原肽并将其呈递给 CD8+ T 淋巴细胞, 介导针对细胞内病原体和癌症的免疫反应。¹⁶

程序原则:

该抗体产品可用作福尔马林固定、石蜡包埋的组织切片的免疫组织化学检测中的一抗。一般来说, 免疫组织化学 (IHC) 染色技术允许通过连续应用抗原来可视化抗原。抗原的特异性抗体 (一抗)、一抗的二抗 (可选连接抗体/探针)、酶复合物和显色底物以及插入的洗涤步骤。色原的酶促激活导致在抗原位点产生可见的反应产物。然后可以对样本进行复染, 并盖上盖玻片。使用光解释结果。显微镜并有助于病理生理过程的鉴别诊断, 这可能或可能与特定抗原无关。

材料和方法:

提供的试剂:

主机来源: 小鼠单克隆

物种反应性: 人类;其他物种未测试。

克隆: BC43

同种型: IgG1 kappa

蛋白质浓度: 有关批次特定浓度, 请参阅小瓶标签。

具体 IgG 浓度: 联系 Biocare 的技术支持

特异性: HLA-B

蜂窝定位: 细胞膜

方法: 亲和纯化小鼠单克隆抗体

重构、混合、稀释、滴定:

预稀释的抗体试剂经过最佳稀释, 可与上述染色系统一起使用。进一步稀释可能会导致抗原染色丧失。进一步稀释可能会导致抗原染色丧失。用户必须验证任何此类更改。组织加工和技术程序的差异用户实验室中的结果可能会产生显著的变化, 因此需要定期进行内部控制 (参见质量控制部分)。

浓缩试剂需要按照上表所示进行稀释。

已知应用:

免疫组织化学 (福尔马林固定石蜡包埋组织)

提供方式: 缓冲盐溶液, 5.9-7.4, 含有蛋白质载体和少于 0.1% 叠氮化钠防腐剂。有关更多详细信息, 请参阅安全数据表。

需要但未提供的材料和试剂:

显微镜载玻片带正电。

阳性和阴性组织对照

沙漠室 (或类似的干燥箱)

二甲苯或二甲苯替代品

乙醇或试剂醇

解密室 (高压锅)

去离子水或蒸馏水

洗涤缓冲液

预处理试剂

过氧化物酶阻断

蛋白质块 (可选)

检测探针和聚合物

阴性对照试剂

显色剂

苏木精 (复染)

上蓝试剂

封固剂

盖玻片

光学显微镜 (40-400X 放大倍率)

*抗体产品的配置可用于上表所示的仪器。

储存和稳定性:

储存于 2°C 至 8°C。在这些条件下储存时, 该产品在小瓶标签上印刷的有效期内是稳定的。请勿在有效期后使用。必须验证在指定条件以外的任何条件

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Chinese (Simplified)

下的储存。稀释后的试剂应及时使用；将所有剩余试剂储存在 2°C 至 8°C 下。Biocare 尚未确定用户稀释试剂的稳定性。

阳性和阴性对照应与所有患者标本同时进行。如果观察到意外染色，且无法通过实验室程序的变化来解释，并且怀疑抗体存在问题，请致电 1-800-542-2002 或通过 biocare.net 上提供的技术支持信息联系 Biocare 的技术支持。

样品制备：

福尔马林固定的组织 适合在石蜡包埋之前使用。在组织处理之前应将骨组织脱钙，以利于组织切割并防止损坏切片刀刀片。^{1,2}

正确固定和包埋表达特定抗原靶标的组织应保存在阴凉处。1988 年临床实验室改进法案 (CLIA) 要求 42 CFR§493.1259(b) 规定“实验室必须保留染色载玻片自染色之日起至少十年”检查并保留样本块自检查之日起至少两年。³

染色前组织的处理：

根据下面推荐的方案执行热诱导表位修复 (HIER)。在 IHC 之前常规使用 HIER 已被证明可以最大限度地减少不一致并使染色标准化。^{4,5}

警告和注意事项：

1. 该抗体含有低于 0.1% 的叠氮化钠。根据 U.S. 29 CFR 1910.1200、OSHA 危险通报和 EC 指令 91/155/EC，浓度低于 0.1% 不属于应报告危险物质。叠氮化钠 (NaN₃) 用作防腐剂，如果摄入会有毒。叠氮化钠可能与铅和铜管道发生反应，形成高度爆炸性的金属叠氮化物。处置后，用大量水冲洗，以防止叠氮化物在管道中积聚。（疾病控制中心，1976 年，国家职业安全与健康研究所，1976 年）。
2. 固定前后的标本以及所有暴露于其中的材料均应按照能够传播感染的方式进行处理，并采取适当的预防措施进行处置。切勿用嘴吸取试剂，并避免试剂和标本接触皮肤和粘膜。如果试剂或标本接触到敏感区域，请用大量水清洗。⁷
3. 试剂的微生物污染可能导致非特异性染色增加。
4. 未指定的孵育时间或温度可能会产生错误的结果。用户必须验证任何此类更改。
5. 试剂瓶上印有有效期后请勿使用。
6. 预稀释抗体试剂最佳稀释后使用。进一步稀释可能会导致抗原染色丧失。
7. 浓缩抗体试剂的稀释在使用前必须经过验证。任何未特别推荐使用的稀释剂也必须经过兼容性和稳定性验证。
8. SDS 可根据要求提供，位于 <http://biocare.net>。

使用说明：

推荐的 HLA-B [BC43] 染色方案：

IntelliPATH FLX 和手动使用：

API3289 用于 IntelliPATH FLX 和手动使用，已通过 MACH 4 进行标准化检测系统。使用 TBS 进行洗涤步骤。

Peroxide Block: 用过氧化物 1 封闭 5 分钟。

Pretreatment:	使用 Reveal Decloaker 执行热检索。有关具体说明，请参阅 Reveal Decloaker 数据表。
Protein Block (Optional):	使用背景惩罚器在室温下孵育 5-10 分钟。
Primary Antibody:	室温孵育 30 分钟。
Detection:	探针：在室温下与辅助聚合物一起孵育 10 分钟。
	聚合物：在室温下与三级聚合物一起孵育 20 分钟。
Chromogen:	使用 Biocare 的 DAB 在室温下孵育 5 分钟 – 或使用 Warp Red 在室温下孵育 5-7 分钟。
Counterstain:	用苏木精复染。用去离子水冲洗。使用 Tacha 的蓝化溶液 1 分钟。用去离子水冲洗。

ONCORE Pro 自动玻片染色系统：

OPAI3289 适用于 ONCORE Pro。具体使用说明请参阅用户手册。协议编辑器中的协议参数应按如下方式编程：

Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	HRP 女士模板 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, 低 pH 值; 101C
Block Option:	缓冲
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 分钟, 25°C

Ventana 基准测试 ULTRA：

AVI3289 旨在与 BenchMark ULTRA 一起使用。具体使用说明请参阅用户手册。推荐协议参数如下：

Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 分钟
Peroxidase:	前初级过氧化物酶抑制剂
Primary Antibody:	8 分钟, 36°C

Q 系列 – 适用于徕卡 BOND-III：

ALI3289 旨在与 Leica BOND-III 配合使用。具体使用说明请参阅用户手册。推荐协议参数如下：

Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	IHC 方案 F
Detection:	粘合聚合物精炼
HIER:	ER1 10 分钟
Peroxide Block:	5 分钟
Marker (Primary Antibody):	15 分钟



HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody

901-3289-090623

Chinese (Simplified)

BIOCARE
M E D I C A L

Post Primary:	8 分钟
Polymer:	8 分钟
Mixed Chromogen Refine:	10 分钟
Hematoxylin:	5 分钟

质量控制:

请参阅 CLSI 免疫组织化学检测设计和实施的质量标准; 批准指南 - 第二版 (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org)。 2011 年。

阳性组织对照: 扁桃体

外部阳性对照材料应为新鲜标本, 以与患者样本相同的方式尽快固定、处理和包埋。阳性组织对照表明正确制备的组织 and 正确的染色技术。每次染色运行中应包括每组测试条件的一个阳性外部组织对照。

用于外部阳性对照材料的组织应选自具有良好特征的低水平阳性靶标活性的患者标本, 该活性呈弱阳性染色。外部阳性对照的低阳性水平旨在确保检测由于 IHC 方法不稳定或问题而导致的一抗敏感性的细微变化。市售的组织对照载玻片或与患者样本不同处理的样本仅验证试剂性能, 并不验证组织制备。

已知的阳性组织对照只能用于监测处理过的组织和测试试剂的正确性能, 而不是帮助制定患者样本的具体诊断。如果阳性组织对照未能表现出阳性染色, 则测试样本的结果应被视为无效。

阴性组织对照:

每次染色时, 使用与患者样本相同的方式固定、处理和包埋阴性组织对照 (已知为 HLA-B 阴性), 以验证 IHC 一抗的特异性 展示目标抗原, 并提供特定背景染色的指示 (假阳性染色)。此外, 大多数组织切片中存在多种不同的细胞类型, 可以被实验室人员用作内部阴性对照位点以验证 IHC 的性能规格。可用于阴性组织的标本类型和来源 控制措施列于“性能特征”部分。

如果阴性组织对照中出现特异性染色 (假阳性染色), 则患者标本的结果应被视为无效。

非特异性阴性试剂对照:

使用非特异性阴性试剂对照代替一抗, 并使用每个患者标本的切片来评估非特异性染色和

可以更好地解释抗原位点的特异性染色。理想情况下, 阴性试剂对照含有 HLA-B [BC43] IgG1 Kappa 抗体, 以与一抗相同的方式从组织培养上清液中产生, 但在与一抗相同的基质/溶液中与人体组织不表现出特异性反应性。生物护理抗体。将阴性对照抗体稀释至与稀释的一抗相同的免疫球蛋白或蛋白质浓度 抗体使用相同的稀释剂。如果处理后的纯抗体中保留胎牛血清, 则胎牛血清的蛋白质浓度相当于稀释后的抗体浓度。同一稀释液中的一抗也适合使用。(参见提供的试剂)。单独的稀释剂可以用作先前描述的阴性试剂对照的不太理想的替代品。阴性试剂对照的孵育时间应与一抗的孵育时间相对应。

当在连续切片上使用多个抗体组时, 一张载玻片的负染色区域可以用作其他抗体的负/非特异性结合背景对照。为了区分内源性酶活性或酶的非特异性结

合与特异性免疫反应性, 可以分别用底物-色原或酶复合物 (PAP、亲和素-生物素、链霉亲和素) 和底物-色原专门对其他患者组织进行染色。

测定验证:

在诊断程序中首次使用抗体或染色系统之前, 用户应通过在一系列具有代表已知阳性和阴性组织的已知免疫组织化学性能特征的内部组织上进行测试来验证抗体的特异性。请参阅产品说明书本节中先前概述的质量控制程序以及 CAP 认证计划的质量控制建议。用于免疫组织化学和/或 NCCLS IHC 指南¹⁰⁾。对于每个新抗体批次, 或每当测定参数发生变化时, 都应重复这些质量控制程序。性能特征部分列出的组织适合用于测定验证。

故障排除:

根据提供的数据表, 遵循抗体特定方案建议。如果出现非典型结果, 请致电 1-800-542-2002 联系 Biocare 的技术支持。

染色解读:

阳性组织对照:

应首先检查用指定抗体染色的阳性组织对照, 以确定所有试剂均正常工作。靶细胞的适当染色 (如上所述) 表明呈阳性反应。如果阳性组织对照未能表现出阳性染色, 则测试样本的任何结果均应被视为无效。反应产物的颜色可能会根据所使用的底物发色团而变化。有关预期的颜色反应, 请参阅基材包装插页。此外, 在染色方法的变化中可以观察到异染。¹¹⁾

当使用复染剂时, 根据孵育长度和所用复染剂的效力, 复染将导致细胞核着色。过度或不完整的复染可能会影响结果的正确解释。请参阅建议的复染方案。

阴性组织对照:

应在阳性组织对照后检查阴性组织对照, 以验证一抗标记靶抗原的特异性。阴性组织对照中缺乏特异性染色证实了抗体与细胞/细胞成分不存在交叉反应性。如果在阴性外部组织对照中出现特异性染色 (假阳性染色), 则患者标本的结果应被视为无效。

非特异性染色 (如果存在) 通常呈弥漫性外观。在过度福尔马林固定的组织切片中也可以观察到结缔组织的零星染色。使用完整的细胞来解释染色结果。坏死或退化的细胞通常会出现非特异性染色。

患者组织:

检查用指定抗体染色的患者标本 最后的。阳性染色强度应在阴性试剂对照的任何非特异性背景染色的背景下进行评估。与任何免疫组织化学测试一样, 阴性结果意味着未检测到抗原, 而不是所检测的细胞/组织中不存在抗原。如有必要, 使用一组抗体来识别假阴性反应。

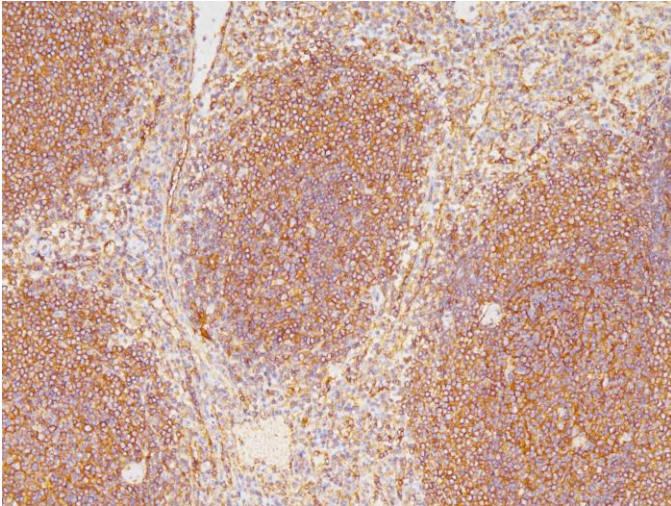


HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Chinese (Simplified)

BIOCARE
M E D I C A L



脾脏用 HLA-B [BC43] 抗体染色

有关指定抗体免疫反应性的具体信息，请参阅摘要和解释、限制和性能特征。

限制:

一般限制:

1. 为了体外诊断用途
2. 该产品仅供专业用途：免疫组织化学是一个多步骤的诊断过程，包括选择适当试剂的专门培训；组织选择、固定和处理；IHC 载玻片的制备；以及染色结果的解释。
3. 组织染色取决于染色前组织的处理和固定。不正确的固定、冷冻、解冻、清洗、干燥、加热、切片或被其他组织或液体污染可能会产生伪影、抗体捕获或假阴性结果。结果不一致可能是由于固定和嵌入方法的变化，或组织内固有的不规则性。¹²
4. 过度或不完整的复染可能会影响结果的正确解释。
5. 任何阳性或阴性染色的临床解释应在临床表现、形态学和其他组织病理学标准的背景下进行评估。任何阳性或阴性染色的临床解释均应通过使用适当的阳性和阴性内部和外部对照以及其他诊断测试的形态学研究来补充。熟悉 IHC 抗体、试剂和方法的合格病理学家有责任解释用于准备和解释最终 IHC 制剂的所有步骤。
6. 针对特定应用的最佳抗体稀释度和方案可能会有所不同。这些包括但不限于固定、热回收方法、孵育时间、组织切片厚度和使用的检测试剂盒。由于这些独特试剂具有卓越的灵敏度，所列推荐的孵育时间和滴度不适用于其他检测系统，因为结果可能会有所不同。数据表建议和协议基于 Biocare 产品的独家使用。最终，研究者有责任确定最佳条件。
7. 本产品不适用于流式细胞术。流式细胞术的性能特征尚未确定。
8. 感染乙型肝炎病毒并含有乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 的人的组织可能会出现辣根过氧化物酶的非特异性染色。¹³
9. 试剂可能会在先前未测试的组织中表现出意想不到的反应。由于肿瘤或其他病理组织中抗原表达的生物变异性，即使在测试的组织组中也不能完全消除意外反应的可能性。¹⁴ 请致电 1-800-542-2002 联系 Biocare 的

技术支持，或通过 biocare.net 上提供的技术支持信息联系，并记录意外反应。

10. 由于自身抗体或天然抗体，与封闭步骤中使用的二抗血清来自相同动物来源的正常/非免疫血清可能会导致假阴性或假阳性结果。
11. 由于蛋白质或底物反应产物的非免疫结合，可能会出现假阳性结果。它们也可能是由假过氧化物酶活性（红细胞）、内源性过氧化物酶活性（细胞色素 C）或内源性生物素（例如肝脏、乳腺、脑、肾）引起，具体取决于所用免疫染色的类型。¹²

产品特定限制:

没有已知的其他限制。

性能特点:

灵敏度、特异性和交叉反应性分别总结于表 1 和表 2 中。

重现性:

通过多个操作员在不同日期和不同仪器上测试选定的正常组织和肿瘤组织，验证了抗体性能的重现性。所选组织的染色一致且按预期进行。

通过在多个仪器上对包含相同组织的五个组织进行染色来确定染色的运行内重现性。

染色的运行间重现性通过在同一仪器上对包含相同组织的五张载玻片进行三天/运行的染色来确定。根据 Biocare 内部评分指南的定义，所有测试均以相同的分数通过。

免疫反应性:

以下阳性和阴性免疫反应性已在表 1 和 2 中得到证实。

下面提供的列表并不详尽，但描述了用所示抗体观察到的免疫反应类型的特征。

预期结果摘要:

发现该抗体与其测试的所有类型的组织都具有免疫反应性，包括所有类型的淋巴瘤和正常人体组织。染色主要是膜上的，但在高表达样品中也可能出现细胞质。染色主要存在于内皮细胞和淋巴细胞中，在某些组织的上皮细胞中发生率较低。

表 1: 通过测试福尔马林固定、石蜡包埋的患病组织来确定敏感性和特异性。

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Chinese (Simplified)

BIOCARE
M E D I C A L


Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6
-------------------------------	---	---

表 2: 通过测试福尔马林固定、石蜡包埋的正常组织来确定组织交叉反应性。

组织	正面案例	总病例数
大脑	5	6
小脑	3	3
肾上腺	3	3
子房	2	3
胰腺	3	3
淋巴结	3	3
气管	3	3
睾丸	5	5
甲状腺	3	3
胸部	2	2
脾	4	4
扁桃体	3	3
胸腺	3	3
骨髓	3	3
肺	3	3
心	3	3
食管	3	3
胃	2	3
小肠	3	3
盲号	3	3
肝	3	3
唾液腺	3	3
肾	3	3
前列腺	3	3
子宫	3	3
宫颈	3	3
骨骼肌	2	3
皮肤	2	2
周围神经	3	3
衬里细胞	2	2
眼睛	3	3
喉	3	3

故障排除:

1. 任何载玻片均未染色 - 检查以确定是否使用了适当的阳性对照组织、抗体和检测产品。
2. 所有载玻片的弱染色 - 检查以确定是否使用了适当的阳性对照组织、抗体和检测产品。
3. 所有载玻片的背景过多 - 可能存在高水平的内源生物素 (如果使用基于生物素的检测产品)、将色原转化为有色最终产物的内源 HRP 活性

 Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

16/150



TP v3 (12/15/2021)

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

(使用过氧化物酶块) 或过量的非特异性蛋白质相互作用 (使用蛋白质封闭液, 例如基于血清或酪蛋白的封闭液)。

4. 孵化过程中组织切片会从载玻片上洗掉——检查载玻片以确保它们带正电。
5. 特异性染色太深 - 检查实验方案以确定是否对载玻片应用了正确的抗体滴度以及所有试剂的正确孵育时间。此外, 确保方案有足够的清洗步骤, 在孵育步骤完成后去除多余的试剂。

参考:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. Curr Opin Immunol. 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. J Immunol. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

UltraLine 抗体由 Biocare Medical LLC 单独开发, 并不意味着 Ventana Medical Systems, Inc 或罗氏批准或认可 Biocare 抗体。Biocare、Ventana 和罗氏不存在任何附属、关联或关联。Ventana®、BenchMark®、ultraView 和 OptiView 是罗氏的商标。

Q 系列抗体由 Biocare Medical LLC 单独开发, 并不意味着 Leica Biosystems 对 Biocare 抗体的批准或认可。Biocare 和 Leica Biosystems 不存在任何附属、关联或关联。Leica、Leica Biosystems、BOND-MAX 和 BOND-III 是 Leica Biosystems 的商标。

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Chinese (Traditional)

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

有可能的使用:

為了體外診斷用途

HLA-B [BC43] 是一種小鼠單克隆抗體，在使用非免疫組織化學染色的常規組織病理學對腫瘤進行初步診斷後，供實驗室使用，用於 HLA-B 的定性鑑定。通過免疫組織化學 (IHC) 檢測福爾馬林固定石蠟包埋 (FFPE) 人體組織中的蛋白質。任何染色或染色缺失的臨床解釋均應通過使用適當對照的形態學研究來補充，並應在患者的臨床病史和由合格病理學家進行的其他診斷測試的背景下來進行評估，以幫助做出任何其他臨床決定。

總結與說明:

HLA-B 是主要組織相容性 I 類 (MHC-I) 複合體的高度多態性蛋白質編碼基因。¹⁵ MHC I 類分子在細胞表面表達，結合抗原肽並將其呈遞給 CD8+ T 淋巴細胞，介導針對細胞內病原體和癌症的免疫反應。¹⁶

程序原則:

該抗體產品可用作福爾馬林固定、石蠟包埋的組織切片的免疫組織化學檢測中的一抗。一般來說，免疫組織化學 (IHC) 染色技術允許通過連續應用抗原來可視化抗原。抗原的特異性抗體 (一抗)、一抗的二抗 (可選連接抗體/探針)、酶複合物和顯色底物以及插入的洗滌步驟。色原的酶促激活在抗原位點產生可見的反應產物。然後可以對樣本進行複染，並蓋上蓋玻片。使用光解釋結果。顯微鏡並有助於病理生理過程的鑑別診斷，這可能或可能與特定抗原無關。

材料和方法:

提供的試劑:

主機來源: 小鼠單克隆

物種反應性: 人類;其他物種未測試。

克隆: BC43

同種型: IgG1 kappa

蛋白質濃度: 有關批次特定濃度，請參閱小瓶標籤。

具體 IgG 濃度：聯繫 Biocare 的技術支持

特異性: HLA-B

蜂窩定位: 細胞膜

方法: 親和純化小鼠單克隆抗體

重構、混合、稀釋、滴定:

預稀釋的抗體試劑經過最佳稀釋，可與上述染色系統一起使用。進一步稀釋可能會導致抗原染色喪失。進一步稀釋可能會導致抗原染色喪失。用戶必須驗證任何此類更改。組織加工和技術程序的差異用戶實驗室中的結果可能會產生顯著的變化，因此需要定期進行內部控制 (參見質量控制部分)。

濃縮試劑需要按照上表所示進行稀釋。

已知應用:

免疫組織化學 (福爾馬林固定石蠟包埋組織)

提供方式: 緩衝鹽溶液, 5.9-7.4, 含有蛋白質載體和少於 0.1% 氫氧化鈉防腐劑。有關更多詳細信息，請參閱安全數據表。

需要但未提供的材料和試劑:

顯微鏡載玻片帶正電。

陽性和陰性組織對照

沙漠室 (或類似的干燥箱)

二甲苯或二甲苯替代品

乙醇或試劑醇

解密室 (高壓鍋)

去離子水或蒸餾水

洗滌緩衝液

預處理試劑

過氧化物酶阻斷

蛋白質塊 (可選)

檢測探針和聚合物

陰性對照試劑

顯色劑

蘇木精 (複染)

上藍試劑

封固劑

蓋玻片

光學顯微鏡 (40-400X 放大倍率)

*抗體產品的配置可用於上表所示的儀器。

儲存和穩定性:

儲存於 2°C 至 8°C。在這些條件下儲存時，該產品在小瓶標籤上印刷的有效期內是穩定的。請勿在有效期後使用。必須驗證在指定條件以外的任何條件

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Chinese (Traditional)

BIOCARE
M E D I C A L

下的儲存。稀釋後的試劑應及時使用；將所有剩餘試劑儲存在 2°C 至 8°C 下。Biocare 尚未確定用戶稀釋試劑的穩定性。

陽性和陰性對照應與所有患者標本同時進行。如果觀察到意外染色，且無法通過實驗室程序的變化來解釋，並且懷疑抗體存在問題，請致電 1-800-542-2002 或通過 biocare.net 上提供的技術支持信息聯繫 Biocare 的技術支持。

樣品製備：

福爾馬林固定的組織 適合在石蠟包埋之前使用。在組織處理之前應將骨組織脫鈣，以利於組織切割並防止損壞切片機刀片。^{1,2}

正確固定和包埋表達特定抗原靶標的組織應保存在陰涼處。1988 年臨床實驗室改進法案 (CLIA) 要求 42 CFR§493.1259(b) 規定“實驗室必須保留染色載玻片自染色之日起至少十年”檢查並保留樣本塊自檢查之日起至少兩年。³

染色前組織的處理：

根據下面推薦的方案執行熱誘導表位修復 (HIER)。在 IHC 之前常規使用 HIER 已被證明可以最大限度地減少不一致並使染色標準化。^{4,5}

警告和注意事項：

1. 該抗體含有低於 0.1% 的疊氮化鈉。根據 U.S. 29 CFR 1910.1200、OSHA 危險通報和 EC 指令 91/155/EC，濃度低於 0.1% 不屬於應報告危險物質。疊氮化鈉 (NaN₃) 用作防腐劑，如果攝入會有毒。疊氮化鈉可能與鉛和銅管道發生反應，形成高度爆炸性的金屬疊氮化物。處置後，用大量水沖洗，以防止疊氮化物在管道中積聚。（疾病控制中心，1976 年，國家職業安全與健康研究所，1976 年）。
2. 固定前後的標本以及所有暴露於其中的材料均應按照能夠傳播感染的方式進行處理，並採取適當的預防措施進行處置。切勿用嘴吸取試劑，並避免試劑和標本接觸皮膚和粘膜。如果試劑或標本接觸到敏感區域，請用大量水清洗。⁷
3. 試劑的微生物污染可能導致非特异性染色增加。
4. 未指定的孵育時間或溫度可能會產生錯誤的結果。用戶必須驗證任何此類更改。
5. 試劑瓶上印有有效期後請勿使用。
6. 預稀釋抗體試劑最佳稀釋後使用。進一步稀釋可能會導致抗原染色喪失。
7. 濃縮抗體試劑的稀釋在使用前必須經過驗證。任何未特別推薦使用的稀釋劑也必須經過兼容性和穩定性驗證。
8. SDS 可根據要求提供，位於 <http://biocare.net>。

使用說明：

推薦的 HLA-B [BC43] 染色方案：

IntelliPATH FLX 和手動使用：

API3289 用於 IntelliPATH FLX 和手動使用，已通過 MACH 4 進行標準化檢測系統。使用 TBS 進行洗滌步驟。

Peroxide Block: 用過氧化物 1 封閉 5 分鐘。

Pretreatment:	使用 Reveal Decloaker 執行熱檢索。有關具體說明，請參閱 Reveal Decloaker 數據表。
Protein Block (Optional):	使用背景懲罰器在室溫下孵育 5-10 分鐘。
Primary Antibody:	室溫孵育 30 分鐘。
Detection:	探針：在室溫下與輔助聚合物一起孵育 10 分鐘。
	聚合物：在室溫下與三級聚合物一起孵育 20 分鐘。
Chromogen:	使用 Biocare 的 DAB 在室溫下孵育 5 分鐘 – 或 – 使用 Warp Red 在室溫下孵育 5-7 分鐘。
Counterstain:	用蘇木精複染。用去離子水沖洗。使用 Tacha 的藍化溶液 1 分鐘。用去離子水沖洗。

ONCORE Pro 自動玻片染色系統：

OPAI3289 適用於 ONCORE Pro。具體使用說明請參閱用戶手冊。協議編輯器中的協議參數應按如下方式編程：

Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	HRP 女士模板 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, 低 pH 值; 101C
Block Option:	緩衝
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 分鐘, 25°C

Ventana 基準測試 ULTRA：

AVI3289 旨在與 BenchMark ULTRA 一起使用。具體使用說明請參閱用戶手冊。推薦協議參數如下：

Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 分鐘
Peroxidase:	前初級過氧化物酶抑制劑
Primary Antibody:	8 分鐘, 36°C

Q 系列 – 適用於徠卡 BOND-III：

ALI3289 旨在與 Leica BOND-III 配合使用。具體使用說明請參閱用戶手冊。推薦協議參數如下：

Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	IHC 方案 F
Detection:	粘合聚合物精煉
HIER:	ER1 10 分鐘
Peroxide Block:	5 分鐘
Marker (Primary Antibody):	15 分鐘



HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Chinese (Traditional)

BIOCARE
M E D I C A L

Post Primary:	8 分鐘
Polymer:	8 分鐘
Mixed Chromogen Refine:	10 分鐘
Hematoxylin:	5 分鐘

質量控制:

請參閱 CLSI 免疫組織化學檢測設計和實施的質量標準; 批准指南 - 第二版 (I/LA28-A2) CLSI Wayne, 美國賓夕法尼亞州 (www.clsi.org)。2011 年。

陽性組織對照: 扁桃腺

外部陽性對照材料應為新鮮標本, 以與患者樣本相同的方式盡快固定、處理和包埋。陽性組織對照表明正確製備的組織和正確的染色技術。每次染色運行中應包括每組測試條件的一個陽性外部組織對照。

用於外部陽性對照材料的組織應選自具有良好特徵的低水平陽性靶標活性的患者標本, 該活性呈弱陽性染色。外部陽性對照的低陽性水平旨在確保檢測由於 IHC 方法不穩定或問題而導致的一抗敏感性的細微變化。市售的組織對照載玻片或與患者樣本不同處理的樣本僅驗證試劑性能, 並不驗證組織製備。

已知的陽性組織對照只能用於監測處理過的組織和測試試劑的正確性能, 而不是幫助制定患者標本的具體診斷。如果陽性組織對照未能表現出陽性染色, 則測試樣本的結果應被視為無效。

陰性組織對照:

每次染色時, 使用與患者樣本相同的方式固定、處理和包埋陰性組織對照 (已知為 HLA-B 陰性), 以驗證 IHC 一抗的特異性 展示目標抗原, 並提供特定背景染色的指示 (假陽性染色)。此外, 大多數組織切片中存在多種不同的細胞類型, 可以被實驗室人員用作內部陰性對照位點以驗證 IHC 的性能規格。可用於陰性組織的標本類型和來源 控制措施列於“性能特徵”部分。

如果陰性組織對照中出現特異性染色 (假陽性染色), 則患者標本的結果應被視為無效。

非特異性陰性試劑對照:

使用非特異性陰性試劑對照代替一抗, 並使用每個患者標本的切片來評估非特異性染色和

可以更好地解釋抗原位點的特異性染色。理想情況下, 陰性試劑對照含有 HLA-B [BC43] IgG1 Kappa 抗體, 以與一抗相同的方式從組織培養上清液中產生, 但在與一抗相同的基質/溶液中與人體組織不表現出特異性反應性。生物護理抗體。將陰性對照抗體稀釋至與稀釋的一抗相同的免疫球蛋白或蛋白質濃度 抗體使用相同的稀釋劑。如果處理後的純抗體中保留胎牛血清, 則胎牛血清的蛋白質濃度相當於稀釋後的抗體濃度。同一稀釋液中的一抗也適合使用。(參見提供的試劑)。單獨的稀釋劑可以用作先前描述的陰性試劑對照的不太理想的替代品。陰性試劑對照的孵育時間應與一抗的孵育時間相對應。

當在連續切片上使用多個抗體組時, 一張載玻片的陰性染色區域可以用作其他抗體的陰性/非特異性結合背景對照。為了區分內源性酶活性或酶的非特異

性結合與特異性免疫反應性, 可以分別用底物-色原或酶複合物 (PAP、親和素-生物素、鏈黴親和素) 和底物-色原專門對其他患者組織進行染色。

測定驗證:

在診斷程序中首次使用抗體或染色系統之前, 用戶應通過在一系列具有代表已知陽性和陰性組織的已知免疫組織化學性能特徵的內部組織上進行測試來驗證抗體的特異性。請參閱產品說明書本節中先前概述的質量控制程序以及 CAP 認證計劃的質量控制建議。用於免疫組織化學和/或 NCCLS IHC 指南¹⁰。對於每個新抗體批次, 或每當測定參數發生變化時, 都應重複這些質量控制程序。性能特徵部分列出的組織適合用於測定驗證。

故障排除:

根據提供的數據表, 遵循抗體特定方案建議。如果出現非典型結果, 請致電 1-800-542-2002 聯繫 Biocare 的技術支持。

染色解讀:

陽性組織對照:

應首先檢查用指定抗體染色的陽性組織對照, 以確定所有試劑均正常工作。靶細胞的適當染色 (如上所述) 表明呈陽性反應。如果陽性組織對照未能表現出陽性染色, 則測試樣本的任何結果均應被視為無效。反應產物的顏色可能會根據所使用的底物髮色團而變化。有關預期的顏色反應, 請參閱基材包裝插頁。此外, 在染色方法的變化中可以觀察到異染。¹¹

當使用複染劑時, 根據孵育長度和所用複染劑的效力, 複染將導致細胞核著色。過度或不完整的複染可能會影響結果的正確解釋。請參閱建議的複染方案。

陰性組織對照:

應在陽性組織對照後檢查陰性組織對照, 以驗證一抗標記靶抗原的特異性。陰性組織對照中缺乏特異性染色證實了抗體與細胞/細胞成分不存在交叉反應性。如果在陰性外部組織對照中出現特異性染色 (假陽性染色), 則患者標本的結果應被視為無效。

非特異性染色 (如果存在) 通常呈瀰漫性外觀。在過度福爾馬林固定的組織切片中也可以觀察到結締組織的零星染色。使用完整的細胞來解釋染色結果。壞死或退化的細胞通常會出現非特異性染色。

患者組織:

檢查用指定抗體染色的患者標本 最後的。陽性染色強度應在陰性試劑對照的任何非特異性背景染色的背景下進行評估。與任何免疫組織化學測試一樣, 陰性結果意味著未檢測到抗原, 而不是所檢測的細胞/組織中不存在抗原。如有必要, 使用一組抗體來識別假陰性反應。

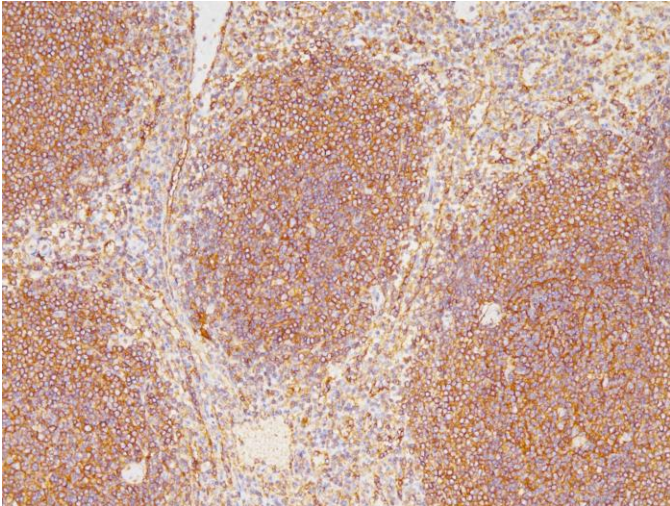


HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Chinese (Traditional)

BIOCARE
M E D I C A L



脾臟用 HLA-B [BC43] 抗體染色

有關指定抗體免疫反應性的具體信息，請參閱摘要和解釋、限制和性能特徵。

限制:

一般限制:

1. 為了體外診斷用途
2. 該產品僅供專業用途：免疫組織化學是一個多步驟的診斷過程，包括選擇適當試劑的專門培訓；組織選擇、固定和處理；IHC 載玻片的製備；以及染色結果的解釋。
3. 組織染色取決於染色前組織的處理和處理。不正確的固定、冷凍、解凍、清洗、乾燥、加熱、切片或被其他組織或液體污染可能會產生偽影、抗體捕獲或假陰性結果。結果不一致可能是由於固定和嵌入方法的變化，或組織內固有的不規則性。¹²
4. 過度或不完整的複染可能會影響結果的正確解釋。
5. 任何陽性或陰性染色的臨床解釋應在臨床表現、形態學和其他組織病理學標準的背景下進行評估。任何陽性或陰性染色的臨床解釋均應通過使用適當的陽性和陰性內部和外部對照以及其他診斷測試的形態學研究來補充。熟悉 IHC 抗體、試劑和方法的合格病理學家有責任解釋用於準備和解釋最終 IHC 製劑的所有步驟。
6. 針對特定應用的最佳抗體稀釋度和方案可能會有所不同。這些包括但不限於固定、熱回收方法、孵育時間、組織切片厚度和使用的檢測試劑盒。由於這些獨特試劑具有卓越的靈敏度，所列推薦的孵育時間和滴度不適用於其他檢測系統，因為結果可能會有所不同。數據表建議和協議基於 Biocare 產品的獨家使用。最終，研究者有責任確定最佳條件。
7. 本產品不適用於流式細胞術。流式細胞術的性能特徵尚未確定。
8. 感染乙型肝炎病毒並含有乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 的人的組織可能會出現辣根過氧化物酶的非特異性染色。¹³
9. 試劑可能會在先前未測試的組織中表現出意想不到的反應。由於腫瘤或其他病理組織中抗原表達的生物變異性，即使在測試的組織組中也不能完全消除意外反應的可能性。¹⁴ 請致電 1-800-542-2002 聯繫 Biocare 的

技術支持，或通過 biocare.net 上提供的技術支持信息聯繫，並記錄意外反應。

10. 由於自身抗體或天然抗體，與封閉步驟中使用的二抗血清來自相同動物來源的正常/非免疫血清可能會導致假陰性或假陽性結果。
11. 由於蛋白質或底物反應產物的非免疫結合，可能會出現假陽性結果。它們也可能是由假過氧化物酶活性（紅細胞）、內源性過氧化物酶活性（細胞色素 C）或內源性生物素（例如肝臟、乳腺、腦、腎）引起，具體取決於所用免疫染色的類型。¹²

產品特定限制:

沒有已知的其他限制。

性能特點:

靈敏度、特異性和交叉反應性分別總結於表 1 和表 2 中。

重現性:

通過多個操作員在不同日期和不同儀器上測試選定的正常組織和腫瘤組織，驗證了抗體性能的重現性。所選組織的染色一致且按預期進行。

通過在多個儀器上對包含相同組織的五個組織進行染色來確定染色的運行內再現性。

染色的運行間再現性通過在同一儀器上對包含相同組織的五張載玻片進行三天/運行的染色來確定。根據 Biocare 內部評分指南的定義，所有測試均以相同的分數通過。

免疫反應性:

以下陽性和陰性免疫反應性已在表 1 和 2 中得到證實。

下面提供的列表並不詳盡，但描述了用所示抗體觀察到的免疫反應類型的特徵。

預期結果摘要:

發現該抗體與其測試的所有類型的組織都具有免疫反應性，包括所有類型的淋巴瘤和正常人體組織。染色主要是膜上的，但在高表達樣品中也可能出現細胞質。染色主要存在於內皮細胞和淋巴細胞中，在某些組織的上皮細胞中發生率較低。

表 1: 通過測試福爾馬林固定、石蠟包埋的患病組織來確定敏感性和特異性。

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Chinese (Traditional)

BIOCARE
M E D I C A L

Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6
-------------------------------	---	---

表 2: 通過測試福爾馬林固定、石蠟包埋的正常組織來確定組織交叉反應性。

組織	正面案例	總病例數
大腦	5	6
小腦	3	3
腎上腺	3	3
子房	2	3
胰腺	3	3
淋巴結	3	3
氣管	3	3
睪丸	5	5
甲狀腺	3	3
胸部	2	2
脾	4	4
扁桃腺	3	3
胸腺	3	3
骨髓	3	3
肺	3	3
心	3	3
食管	3	3
胃	2	3
小腸	3	3
胃號	3	3
肝	3	3
唾液腺	3	3
腎	3	3
前列腺	3	3
子宮	3	3
子宮頸	3	3
骨骼肌	2	3
皮膚	2	2
周圍神經	3	3
襯裡細胞	2	2
眼睛	3	3
喉	3	3

故障排除:

1. 任何載玻片均未染色 - 檢查以確定是否使用了適當的陽性對照組織、抗體和檢測產品。
2. 所有載玻片的弱染色 - 檢查以確定是否使用了適當的陽性對照組織、抗體和檢測產品。
3. 所有載玻片的背景過多 - 可能存在高水平的內源生物素 (如果使用基於生物素的檢測產品)、將色原轉化為有色最終產物的內源 HRP 活性 (使用過氧化物酶塊) 或過量的非特異性蛋白質相互作用 (使用蛋白質封閉液, 例如基於血清或酪蛋白的封閉液)。

4. 孵育過程中組織切片會從載玻片上洗掉——檢查載玻片以確保它們帶正電。
5. 特異性染色太深 - 檢查實驗方案以確定是否對載玻片應用了正確的抗體滴度以及所有試劑的正確孵育時間。此外, 確保方案有足夠的清洗步驟, 以在孵育步驟完成後去除多餘的試劑。

參考:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. Curr Opin Immunol. 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. J Immunol. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

UltraLine 抗體由 Biocare Medical LLC 單獨開發, 並不意味著 Ventana Medical Systems, Inc 或羅氏批准或認可 Biocare 抗體。Biocare、Ventana 和羅氏不存在任何附屬、關聯或關聯。Ventana®、BenchMark®、ultraView 和 OptiView 是羅氏的商標。

Q 系列抗體由 Biocare Medical LLC 單獨開發, 並不意味著 Leica Biosystems 對 Biocare 抗體的批准或認可。Biocare 和 Leica Biosystems 不存在任何附屬、關聯或關聯。Leica、Leica Biosystems、BOND-MAX 和 BOND-III 是 Leica Biosystems 的商標。

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Croatian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Namjena:

Zain vitro Dijagnostička upotreba

HLA-B [BC43] je mišje monoklonsko protutijelo koje je namijenjeno za laboratorijsku upotrebu nakon što je početna dijagnoza tumora postavljena konvencionalnom histopatologijom korištenjem neimunoloških histokemijskih boja, u kvalitativnoj identifikaciji HLA-B proteina imunohistokemijom (IHC) u ljudskim tkivima fiksiranim u formalinu i ugrađenim u parafin (FFPE). Kliničko tumačenje bilo kakvog bojenja ili njegovog izostanka trebalo bi nadopuniti morfološkim studijama uz korištenje odgovarajućih kontrola i trebalo bi ga ocijeniti u kontekstu pacijentove kliničke povijesti i drugih dijagnostičkih testova od strane kvalificiranog patologa kao pomoć u donošenju drugih kliničkih odluka.

Sažetak i objašnjenje:

HLA-B je visoko polimorfni protein koji kodira gen za glavni kompleks histokompatibilnosti klase I (MHC-I).¹⁵ Molekule MHC klase I ekspimiraju se na površini stanice, vežu i prezentiraju antigene peptide CD8+ T limfocitima da posreduju u imunološkim odgovorima protiv intracelularnih patogena i karcinoma.¹⁶

Princip postupka:

Ovaj proizvod s antitijelima može se koristiti kao primarno antitijelo u imunohistokemijskom testiranju isječaka tkiva fiksiranih formalinom, u parafinu. Općenito, imunohistokemijski (IHC) tehnike bojenja omogućuju vizualizaciju antigena putem sekvencijalne primjene a specifično protutijelo na antigen (primarno protutijelo), sekundarno protutijelo na primarno protutijelo (opcionalna veza protutijelo/sonda), enzimski kompleks i kromogeni supstrat s umetnutim koracima ispiranja. Enzimski aktivacija kromogena rezultira vidljivim produktom reakcije na mjestu antigena. Uzorak se zatim može obojiti i prekriti. Rezultati se tumače pomoću svjetla mikroskop i pomoć u diferencijalnoj dijagnozi patofizioloških procesa, koji mogu ili ne moraju biti povezani s određenim antigenom.

Materijali i metode:

Priloženi reagensi:

Izvor hosta: Miš monoklonski

Reaktivnost vrste: ljudski; ostale vrste nisu ispitane.

Klon: BC43

Izotip: IgG1 kapa

Koncentracija proteina: Za koncentraciju specifičnu za seriju pogledajte naljepnicu na bočici.

Specifična koncentracija IgG: Kontaktirajte tehničku podršku tvrtke Biocare

Specifičnost: HLA-B

Stanična lokalizacija: Stanična membrana

metoda: Afinitetno pročišćen mišji monoklonski

Rekonstitucija, miješanje, razrjeđivanje, titracija:

Prethodno razrijeđeni reagens za antitijela optimalno je razrijeđen za upotrebu s gore navedenim sustavima bojenja. Daljnje razrjeđivanje može rezultirati gubitkom antigenske boje. Daljnje razrjeđivanje može rezultirati gubitkom antigenske boje. Korisnik mora potvrditi svaku takvu promjenu.

Razlike u obradi tkiva i tehničkim postupcima u laboratoriju korisnika može proizvesti značajnu varijabilnost u rezultatima zbog čega je potrebno redovito obavljanje internih kontrola (vidi odjeljak Kontrola kvalitete). Koncentrirani reagens zahtijeva razrjeđivanje kako je navedeno u gornjoj tablici.

Poznate primjene:

Imunohistokemija (tkiva fiksirana formalinom i parafinom)

Isporučuje se kao: Puferirana fiziološka otopina, 5,9-7,4, koji sadrži proteinski nosač i manje od 0,1% konzervansa natrijevog azida. Pogledajte Sigurnosno-tehnički list za dodatne pojedinosti.

Potrebni materijali i reagensi koji nisu isporučeni:

Mikroskopska stakalca pozitivno nabijena.

Pozitivne i negativne kontrole tkiva

Pustinjska komora (ili slična pećnica za sušenje)

Ksilen ili zamjena za ksilen

Etanol ili reagens alkohol

Komora za skidanje maske (lonac pod pritiskom)

Deionizirana ili destilirana voda

Pufer za pranje

Reagensi za prethodnu obradu

Blok peroksidaze

Proteinski blok (po izboru)

Sonda za detekciju i polimer

Reagensi za negativnu kontrolu

Kromogeni

Hematoksilin (kontrabojenje)

Reagens za plavljenje

Montažni medij

Pokrivno staklo

Svjetlosni mikroskop (40-400X povećanje)

*Konfiguracije proizvoda s antitijelima dostupne su za upotrebu na instrumentima navedenim u gornjoj tablici.

Skладиštenje i stabilnost:

Čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C. Proizvod je stabilan do isteka roka valjanosti otisnutog na naljepnici bočice, kada se čuva pod ovim uvjetima. Ne koristiti nakon isteka roka valjanosti. Mora se provjeriti skladištenje pod bilo kojim uvjetima osim navedenih. Razrijeđene reagentse treba upotrijebiti odmah; pohranite preostali reagens na 2°C do 8°C. Biocare nije utvrdio stabilnost reagensa razrijeđenog korisnikom.

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



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

22/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Croatian

BIOCARE
M E D I C A L

Priprema uzorka:

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

Ispravno fiksirana i ugrađena tkiva koja ekspresiraju specifični ciljani antigen trebaju biti pohranjena na hladnom mjestu. Zakon o poboljšanju kliničkog laboratorija (CLIA) iz 1988. zahtijeva u 42 CFR§493.1259(b) da „laboratorij mora čuvati obojena stakalca najmanje deset godina od datuma ispitivanja i čuvati blokove uzoraka najmanje dvije godine od datuma ispitivanja.”³

Obrada tkiva prije bojenja:

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

Upozorenje i mjere opreza:

- Ovo antitijelo sadrži manje od 0,1% natrijevog azida. Koncentracije manje od 0,1% nisu opasni materijali koji se mogu prijaviti prema U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA obavijesti o opasnostima i EC Direktivi 91/155/EC. Natrijev azid (NaN₃) koji se koristi kao konzervans je otrovan ako se proguta. Natrijev azid može reagirati s olovnim i bakrenim vodovodnim instalacijama stvarajući vrlo eksplozivne metalne azide. Nakon odlaganja, isperite velikom količinom vode kako biste spriječili nakupljanje azida u vodovodu. (Centar za kontrolu bolesti, 1976., Nacionalni institut za sigurnost i zdravlje na radu, 1976.)⁶
- Uzorcima, prije i nakon fiksacije, i svim materijalima koji su im bili izloženi treba rukovati kao da mogu prenijeti infekciju i treba ih zbrinuti uz odgovarajuće mjere opreza. Nikada nemojte pipetirati reagens ustima i izbjegavajte kontakt kože i sluznice s reagensima i uzorcima. Ako reagensi ili uzorci dođu u dodir s osjetljivim područjima, operite ih velikom količinom vode.⁷
- Mikrobna kontaminacija reagensa može rezultirati povećanjem nespecifičnog bojenja.
- Vremena inkubacije ili temperature koje nisu navedene mogu dati pogrešne rezultate. Korisnik mora potvrditi svaku takvu promjenu.
- Nemojte koristiti reagens nakon isteka roka valjanosti otisnutog na bočici.
- Prethodno razrijeđeni reagens za antitijela je optimalno razrijeđen za upotrebu. Daljnje razrjeđivanje može rezultirati gubitkom antigenске boje.
- Razrjeđivanje koncentriranog reagensa protutijela mora se provjeriti prije upotrebe. Svaki korišteni razrjeđivač koji nije izričito preporučen također mora biti validiran za kompatibilnost i stabilnost.
- STL je dostupan na zahtjev i nalazi se na <http://biocare.net>.

Upute za korištenje:

Preporučeni protokoli bojenja za HLA-B [BC43]:

IntelliPATH FLX i ručna upotreba:

API3289 za IntelliPATH FLX i ručnu upotrebu, standardiziran je s MACH 4 sustav detekcije. Koristite TBS za korake pranja.	
Peroxide Block:	Blokirajte 5 minuta s Peroxidazed 1.
Pretreatment:	Izvršite povrat topline koristeći Reveal Decloaker. Konkretno upute potražite u podatkovnoj tablici Reveal Decloaker.
Protein Block (Optional):	Inkubirajte 5-10 minuta na sobnoj temperaturi uz Background Punisher.
Primary Antibody:	Inkubirajte 30 minuta na sobnoj temperaturi.
Detection:	Sonda: Inkubirajte 10 minuta na sobnoj temperaturi sa sekundarnim polimerom.
	Polimer: Inkubirajte 20 minuta na sobnoj temperaturi s tercijarnim polimerom.

Chromogen:	Inkubirajte 5 minuta na sobnoj temperaturi s Biocare DAB – ILI – Inkubirajte 5-7 minuta na sobnoj temperaturi s Warp Red.
Counterstain:	Kontrabojanje hematoksilinom. Isprati deioniziranom vodom. Nanesite Tachinu Bluing otopinu na 1 minutu. Isprati deioniziranom vodom.

ONCORE Pro automatizirani sustav za bojenje stakalca:

OPAI3289 je namijenjen za korištenje s ONCORE Pro. Posebne upute za uporabu potražite u korisničkom priručniku. Parametri protokola u uređivaču protokola trebaju biti programirani na sljedeći način:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Ms HRP predložak 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, niski pH; 101°C
Block Option:	Pufer
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 min., 25°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3289 je namijenjen za korištenje s BenchMark ULTRA. Posebne upute za uporabu potražite u korisničkom priručniku. Preporučeni parametri protokola su sljedeći:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minute
Peroxidase:	Pre-primarni inhibitor peroksidaze
Primary Antibody:	8 minuta, 36°C

Seriya Q – za Leica BOND-III:

ALI3289 je namijenjen za korištenje s Leica BOND-III. Posebne upute za uporabu potražite u korisničkom priručniku. Preporučeni parametri protokola su sljedeći:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	IHC protokol F
Detection:	Bond Polymer Refine
HIER:	10 min s ER1
Peroxide Block:	5 minuta
Marker (Primary Antibody):	15 min
Post Primary:	8 min
Polymer:	8 min
Mixed Chromogen Refine:	10 min
Hematoxylin:	5 minuta

Kontrola kvalitete:

Pogledajte standarde kvalitete CLSI za dizajn i provedbu imunohistokemijskih testova; Odobrene smjernice-drugo izdanje (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA SAD (www.clsi.org). 2011⁸

Pozitivna kontrola tkiva: Krajnik

Materijali za vanjsku pozitivnu kontrolu trebaju biti svježi uzorci fiksirani, obrađeni i ugrađeni što je prije moguće na isti način kao i uzorci pacijenata. Pozitivne kontrole tkiva indikativne su za pravilno pripremljena tkiva i pravilne

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Croatian

BIOCARE
M E D I C A L

tehnike bojenja. Jedna pozitivna vanjska kontrola tkiva za svaki niz uvjeta ispitivanja treba biti uključena u svako bojenje.

Tkiva koja se koriste za materijale za vanjsku pozitivnu kontrolu trebaju se odabrati iz uzoraka pacijenata s dobro karakteriziranim niskim razinama pozitivne ciljne aktivnosti koja daje slabo pozitivno bojenje. Niska razina pozitivnosti za vanjske pozitivne kontrole osmišljena je kako bi se osiguralo otkrivanje suptilnih promjena u primarnoj osjetljivosti antitijela zbog nestabilnosti ili problema s IHC metodologijom. Komercijalno dostupna kontrolna stakalca tkiva ili uzorci obrađeni na drugačiji način od uzorka(a) pacijenta potvrđuju samo učinkovitost reagensa, a ne potvrđuju pripremu tkiva.

Poznate pozitivne kontrole tkiva trebale bi se koristiti samo za praćenje ispravne učinkovitosti obrađenih tkiva i testnih reagensa, a ne kao pomoć u formuliranju specifične dijagnoze uzoraka pacijenata. Ako pozitivne kontrole tkiva ne pokažu pozitivno bojenje, rezultate testnih uzoraka treba smatrati nevažecima.

Negativna kontrola tkiva:

Upotrijebite negativnu kontrolu tkiva (za koju se zna da je HLA-B negativna) fiksiranu, obrađenu i ugrađenu na način identičan uzorcima pacijenta sa svakim bojenjem kako biste potvrdili specifičnost IHC primarnog protutijela za demonstraciju ciljnog antigena i davanje indikacije specifičnog pozadinskog bojenja (lažno pozitivno bojenje). Također, raznolikost različitih tipova stanica prisutnih u većini dijelova tkiva može koristiti ih laboratorij kao mjesta interne negativne kontrole za provjeru rada IHC-a tehnički podaci. Vrste i izvori uzoraka koji se mogu koristiti za negativno tkivo kontrole su navedene u odjeljku Karakteristike izvedbe.

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

Nespecifična negativna kontrola reagensa:

Upotrijebite nespecifičnu negativnu kontrolu reagensa umjesto primarnog protutijela s dijelom svakog pacijentovog uzorka za procjenu nespecifičnog bojenja i omogućuju bolje tumačenje specifičnog bojenja na mjestu antigena. Idealno, negativna kontrola reagensa sadrži HLA-B [BC43] IgG1 Kappa antitijelo proizvedeno iz supernatanta kulture tkiva na isti način kao primarno antitijelo, ali ne pokazuje specifičnu reaktivnost s ljudskim tkivima u istoj matrici/otopini kao i Biocare antitijela. Razrijedite negativno kontrolno protutijelo na istu koncentraciju imunoglobulina ili proteina kao razrijeđeno primarno antitijelo korištenjem identičnog razrjeđivača. Ako se fetalni teleći serum zadrži u čistom antitijelu nakon obrade, fetalni teleći serum u koncentraciji proteina koja je jednaka razrijeđenom primarno protutijelu u istom razrjeđivaču također je prikladno za upotrebu. (Pogledajte isporučeni reagens). Sam razrjeđivač može se koristiti kao manje poželjna alternativa prethodno opisanim negativnim kontrolama reagensa. Razdoblje inkubacije za negativnu kontrolu reagensa treba odgovarati onom primarnog protutijela.

Kada se paneli nekoliko protutijela koriste na serijskim presjecima, negativno obojena područja jednog stakalca mogu poslužiti kao negativna/nespecifična pozadinska kontrola za druga protutijela. Kako bi se razlikovala endogena aktivnost enzima ili nespecifično vezanje enzima od specifične imunoreaktivnosti, dodatna tkiva bolesnika mogu se obojiti isključivo supstrat-kromogenom ili enzimskim kompleksima (PAP, avidin-biotin, streptavidin) odnosno supstrat-kromogenom.

Provjera testa:

Prije početne upotrebe antitijela ili sustava bojenja u dijagnostičkom postupku, korisnik bi trebao potvrditi specifičnost antitijela testiranjem na nizu internih tkiva s poznatim karakteristikama imunohistokemijske

učinkovitosti koja predstavljaju poznata pozitivna i negativna tkiva. Pogledajte postupke kontrole kvalitete prethodno navedene u ovom odjeljku uputa za proizvod i preporuke za kontrolu kvalitete CAP programa certifikacije za imunohistokemiju i/ili NCCLS IHC smjernice. Ove postupke kontrole kvalitete treba ponoviti za svaku novu seriju antitijela ili kad god dođe do promjene parametara testa. Tkiva navedena u Odjeljku o karakteristikama rada prikladna su za provjeru testa.

Rješavanje problema:

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

Tumačenje bojenja:

Pozitivna kontrola tkiva:

Prvo treba ispitati pozitivnu kontrolu tkiva obojenu navedenim protutijelima kako bi se utvrdilo da svi reagensi ispravno funkcioniraju. Odgovarajuće bojenje ciljnih stanica (kako je gore navedeno) pokazatelj je pozitivne reaktivnosti. Ako pozitivne kontrole tkiva ne pokažu pozitivno bojenje, sve rezultate s ispitnim uzorcima treba smatrati nevažecima. Boja produkta reakcije može varirati ovisno o korištenim kromogenima supstrata. Za očekivane reakcije boja pogledajte upute za pakiranje supstrata. Nadalje, metakromazija se može uočiti u varijacijama metode bojenja. Kada se koristi protubojenje, ovisno o duljini inkubacije i jačini korištenog protubojenja, suprotno bojenje će rezultirati obojenjem staničnih jezgri. Pretjerano ili nepotpuno kontrastno bojenje može ugroziti pravilno tumačenje rezultata. Pogledajte protokol(e) za preporučeno kontrastno bojenje.

Negativna kontrola tkiva:

Negativnu kontrolu tkiva treba pregledati nakon pozitivne kontrole tkiva kako bi se potvrdila specifičnost obilježavanja ciljnog antigena primarnim protutijelom. Odsutnost specifičnog bojenja u negativnoj kontroli tkiva potvrđuje nedostatak unakrsne reaktivnosti protutijela na stanice/stanične komponente. Ako dođe do specifičnog bojenja (lažno pozitivno bojenje) u negativnoj vanjskoj kontroli tkiva, rezultate uzorka s pacijenta treba smatrati nevažecima.

Nespecifično bojenje, ako je prisutno, obično ima difuzan izgled. Sporadično bojenje vezivnog tkiva također se može primijetiti u dijelovima tkiva koji su previše fiksirani formalinom. Koristite intaktne stanice za tumačenje rezultata bojenja. Nekrotične ili degenerirane stanice često se boje nespecifično.

Tkivo pacijenta:

Pregledajte uzorke pacijenata obojene navedenim protutijelima posljednji. Intenzitet pozitivnog bojenja treba procijeniti u kontekstu bilo kojeg nespecifičnog pozadinskog bojenja negativne kontrole reagensa. Kao i kod svakog imunohistokemijskog testa, negativan rezultat znači da antigen nije otkriven, a ne da antigen nije bio prisutan u testiranim stanicama/tkivu. Ako je potrebno, upotrijebite panel protutijela za identifikaciju lažno negativnih reakcija.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

24/150



TP v3 (12/15/2021)

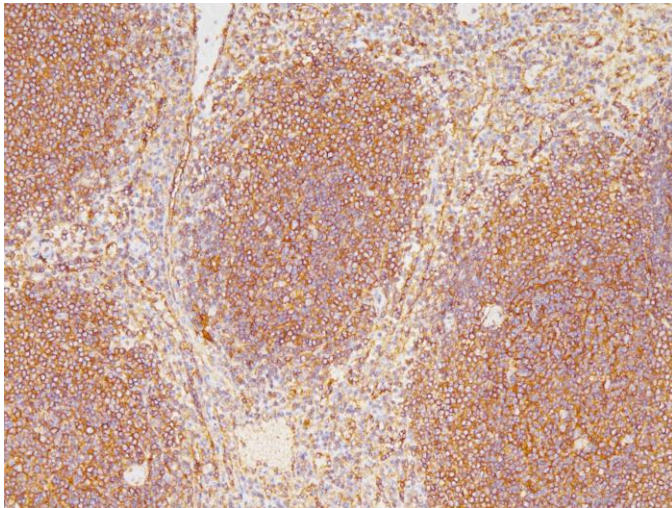
Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Croatian

BIOCARE
M E D I C A L



Slezena obojena HLA-B [BC43] antitijelom

Pogledajte Sažetak i objašnjenje, Ograničenja i Radne karakteristike za specifične informacije u vezi s indiciranim imunoreaktivnošću protutijela.

Ograničenja:

Opća ograničenja:

1. *Za in vitro* dijagnostička upotreba
2. Ovaj proizvod je samo za profesionalnu upotrebu: Imunohistokemija je višestupanjski dijagnostički proces koji se sastoji od specijalizirane obuke u odabiru odgovarajućih reagensa; selekcija, fiksacija i obrada tkiva; priprema IHC stakalca; i tumačenje rezultata bojenja.
3. Bojanje tkiva ovisi o rukovanju i obradi tkiva prije bojenja. Neodgovarajuće fiksiranje, zamrzavanje, odmrzavanje, pranje, sušenje, zagrijavanje, rezanje ili kontaminacija drugim tkivima ili tekućinama može proizvesti artefakte, hvatanje antitijela ili lažno negativne rezultate. Nedosljedni rezultati mogu biti posljedica varijacija u metodama fiksacije i ugradnje ili inherentnih nepravilnosti unutar tkiva.¹²
4. Pretjerano ili nepotpuno kontrastno bojenje može ugroziti pravilno tumačenje rezultata.
5. Kliničku interpretaciju bilo kojeg pozitivnog ili negativnog bojenja treba procijeniti u kontekstu kliničke slike, morfologije i drugih histopatoloških kriterija. Kliničku interpretaciju bilo kojeg pozitivnog ili negativnog bojenja treba nadopuniti morfološkim studijama uz korištenje odgovarajućih pozitivnih i negativnih unutarnjih i vanjskih kontrola, kao i drugih dijagnostičkih testova. Odgovornost je kvalificiranog patologa koji je upoznat s pravilnom upotrebom IHC protutijela, reagensa i metoda za tumačenje svih koraka korištenih za pripremu i tumačenje konačnog IHC priprema.
6. Optimalno razrjeđenje protutijela i protokoli za određenu primjenu mogu varirati. To uključuje, ali nije ograničeno na fiksaciju, metodu vraćanja topline, vrijeme inkubacije, debljinu presjeka tkiva i korišteni pribor za otkrivanje. Zbog vrhunske osjetljivosti ovih jedinstvenih reagensa, navedena preporučena vremena inkubacije i titri nisu primjenjivi na druge sustave detekcije jer rezultati mogu varirati. Preporuke i protokoli u podatkovnom listu temelje se na isključivoj uporabi Biocare proizvoda. U konačnici, odgovornost je istraživača da odredi optimalne uvjete.
7. Ovaj proizvod nije namijenjen za upotrebu u protočnoj citometriji. Radne karakteristike nisu utvrđene za protočnu citometriju.
8. Tkiva osoba zaraženih virusom hepatitisa B i koja sadrže površinski antigen hepatitisa B (HBsAg) mogu pokazivati nespecifično obojenje peroksidazom hrena.¹³

9. Reagensi mogu pokazati neočekivane reakcije u prethodno netestiranim tkivima. Mogućnost neočekivanih reakcija čak ni u ispitivanim skupinama tkiva ne može se u potpunosti eliminirati zbog biološke varijabilnosti ekspresije antigena u novotvorinama, odnosno drugim patološkim tkivima.¹⁴ Obratite se Biocare tehničkoj podršci na 1-800-542-2002 ili putem informacija o tehničkoj podršci na biocare.net, uz dokumentirane neočekivane reakcije.
10. Normalni/neimuni serumi iz istog životinjskog izvora kao i sekundarni antiserumi korišteni u koracima blokiranja mogu izazvati lažno negativne ili lažno pozitivne rezultate zbog autoantitijela ili prirodnih antitijela.
11. Lažno pozitivni rezultati mogu se vidjeti zbog neimunološkog vezanja proteina ili proizvoda reakcije supstrata. Također mogu biti uzrokovane aktivnošću pseudo peroksidaze (eritrociti), endogenom aktivnošću peroksidaze (citokrom C) ili endogenim biotinom (npr. jetra, dojka, mozak, bubreg) ovisno o vrsti korištenog imunološkog bojenja.¹²

Specifična ograničenja proizvoda:

Nema poznatih dodatnih ograničenja.

Karakteristike izvedbe:

Osjetljivost, specifičnost i križna reaktivnost sažeti su u tablicama 1 i 2.

Ponovljivost:

Ponovljivost učinka protutijela potvrđena je testiranjem odabranog normalnog i tumorskog tkiva različitim danima i različitim instrumentima s više operatera. Bojanje odabranih tkiva bilo je dosljedno i izvedeno prema očekivanjima.

Reproducibilnost bojenja unutar serije određena je bojenjem pet tkiva koja sadrže isto tkivo na više instrumenata.

Reproducibilnost bojenja između ciklusa određena je bojenjem pet stakalca koja sadrže isto tkivo tijekom tri dana/programa na istom instrumentu. Sva su testiranja prošla s istim rezultatima, kako je definirano Biocareovim internim smjernicama za bodovanje.

Imunoreaktivnost:

Sljedeće pozitivne i negativne imunoreaktivnosti prikazane su u tablicama 1 i 2 u nastavku.

Dolje navedeni popis nije iscrpan, ali karakterizira vrste imunoreaktivnosti uočene s navedenim protutijelima.

Sažetak očekivanih rezultata:

Utvrđeno je da je ovo protutijelo imunoreaktivno na sve vrste tkiva na kojima je testirano, uključujući sve vrste limfoma i normalno ljudsko tkivo. Bojenje je pretežno membransko, ali se može pojaviti i citoplazmatično u uzorcima s visokom ekspresijom. Bojenje je prisutno pretežno u endotelnim stanicama i limfocitima s manjom prevalencijom u epitelnim stanicama u nekim tkivima.

Stol 1: Osjetljivost i specifičnost određene su testiranjem oboljelih tkiva fiksiranih formalinom i parafinom.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Croatian

BIOCARE
M E D I C A L

Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Tablica 2: Križna reaktivnost tkiva određena je testiranjem normalnih tkiva fiksiranih u formalinu i u parafinu.

Tkivo	Pozitivni slučajevi	Ukupno slučajeva
Veliki mozak	5	6
Cerebelum	3	3
Nadbubrežne žlijezde	3	3
Jajnik	2	3
Gušterača	3	3
Limfni čvor	3	3
Dušnik	3	3
Testis	5	5
Štitnjača	3	3
Grudi	2	2
Slezena	4	4
Krajnik	3	3
Thymus	3	3
Koštana srž	3	3
Pluća	3	3
Srce	3	3
Jednjak	3	3
Trbuh	2	3
Tanko crijevo	3	3
Debelo crijevo	3	3
Jetra	3	3
Žlijezda slinovnica	3	3
Bubreg	3	3
Prostata	3	3
Maternica	3	3
Cerviks	3	3
Skeletni mišić	2	3
Koža	2	2
Periferni živac	3	3
Oblaganje stanica	2	2
Oko	3	3
Grkljan	3	3

Rješavanje problema:

- Nema bojanja niti na jednom predmetnom stakalcu – Provjerite jesu li korištena odgovarajuća pozitivna kontrola tkiva, antitijela i proizvoda za otkrivanje.
- Slabo bojenje svih stakalca – Provjerite je li korišteno odgovarajuće tkivo pozitivne kontrole, antitijela i proizvodi za otkrivanje.

- Prevelika pozadina svih stakalca – Mogu postojati visoke razine endogenog biotina (ako se koriste proizvodi za detekciju na bazi biotina), endogena HRP aktivnost koja pretvara kromogen u obojeni krajnji proizvod (koristite blok peroksidaze) ili prekomjerna nespecifična interakcija proteina (koristite protein blok, kao što je otopina za blokiranje na bazi seruma ili kazeina).
- Dijelovi tkiva ispiru se sa stakalca tijekom inkubacije – Provjerite stakalca kako biste bili sigurni da su pozitivno nabijena.
- Specifično bojenje pretamno – Provjerite protokol kako biste utvrdili je li na stakalcu primijenjen ispravan titar protutijela, kao i ispravna vremena inkubacije za sve reagense. Osim toga, osigurajte da protokol ima dovoljno koraka ispiranja za uklanjanje viška reagensa nakon završetka koraka inkubacije.

Reference:

- Kiernan JA. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*. New York: Pergamon Press 1981.
- Sheehan DC and Hrapchak BB. *Theory and Practice of Histotechnology*. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
- Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
- Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. *J Histotechnol*. 1999 Sep;22(3):177-92.
- Taylor CR, et al. *Biotech Histochem*. 1996 Jan;71(5):263-70.
- Center for Disease Control Manual. *Guide: Safety Management*, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition* CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
- CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; *Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2)* CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
- College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. <http://www.cap.org> (800) 323-4040.
- O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. *Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline*. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
- Koretz K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. *Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques*. *Histochemistry* 1987; 86:471-478.
- Nadji M, Morales AR. *Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls*. *Lab Med* 1983; 14:767.
- Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. *Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry*. *Am J Clin Path* 1980; 73:626.
- Herman GE and Elfont EA. *The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control*. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.
- Olson E, Geng J, Raghavan M. *Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity*. *Curr Opin Immunol*. 2020 Jun;64:137-145.
- Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. *Distinct assembly profiles of HLA-B molecules*. *J Immunol*. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Antitijela Ultraline razvila je isključivo tvrtka Biocare Medical LLC i ne impliciraju odobrenje ili podršku Biocare antitijela od strane Ventana Medical Systems, Inc ili Roche. Biocare, Ventana i Roche nisu ni na koji način povezani, povezani ili povezani. Ventana®, BenchMark®, ultraView i OptiView zaštitni su znakovi tvrtke Roche.

Protutijela serije Q razvila je isključivo tvrtka Biocare Medical LLC i ne podrazumijevaju odobrenje ili podršku Biocare protutijela od strane Leica Biosystems. Biocare i Leica Biosystems nisu ni na koji način povezani, povezani ili povezani. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX i BOND-III zaštitni su znakovi tvrtke Leica Biosystems.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

26/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Czech

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Zamýšlené použití:

Pro in vitro Diagnostické použití

HLA-B [BC43] je myší monoklonální protilátka, která je určena pro laboratorní použití po prvotní diagnóze nádoru konvenční histopatologií pomocí neimunologického histochemického barvení, při kvalitativní identifikaci HLA-B proteinu imunohistochemicky (IHC) v lidských tkáních fixovaných v parafínu (FFPE) fixovaných ve formalínu. Klinická interpretace jakéhokoli zbarvení nebo jeho nepřítomnosti by měla být doplněna morfoloogickými studii s použitím vhodných kontrol a měla by být vyhodnocena v kontextu pacientovy klinické anamnézy a dalších diagnostických testů kvalifikovaným patologem jako pomůcka při provádění jakýchkoli dalších klinických stanovení.

Shrnutí a vysvětlení:

HLA-B je vysoce polymorfní protein kódující gen pro hlavní komplex histokompatibility I. třídy (MHC-I).¹⁵ Molekuly MHC třídy I jsou exprimovány na buněčném povrchu, vážou se a prezentují antigenní peptidy CD8+ T lymfocytům, aby zprostředkovaly imunitní reakce proti intracelulárním patogenům a rakovinám.¹⁶

Princip postupu:

Tento protilátkový produkt může být použit jako primární protilátka při imunohistochemickém testování formalínem fixovaných, parafínem zalitých tkáňových řezů. Obecně platí, že imunohistochemické (IHC) techniky barvení umožňují vizualizaci antigenů prostřednictvím sekvenční aplikace a specifická protilátka k antigenu (primární protilátka), sekundární protilátka k primární protilátce (volitelná vazba protilátka/sonda), enzymový komplex a chromogenní substrát s vloženými promývacími kroky. Enzymatická aktivace chromogenu vede k viditelnému reakčnímu produktu v místě antigenu. Vzorek pak může být kontrastně obarven a kryt nasunut. Výsledky jsou interpretovány pomocí světla mikroskop a pomůcka při diferenciaci diagnostice patofyziologických procesů, které mohou popř. nemusí být spojeny s konkrétním antigenem.

Materiály a metody:

Dodávaná činidla:

Zdroj hostitele: Myš monoklonální

Druhá reaktivita: Člověk; ostatní druhy nebyly testovány.

Klonovat: BC43

izotyp: IgG1 kappa

Koncentrace bílkovin: Koncentraci specifickou pro šarži viz štítek lahvičky.

Specifická koncentrace IgG: Kontaktujte technickou podporu Biocare

Specifičnost: HLA-B

Buněčná lokalizace: Buněčná membrána

Metoda: Afinitně purifikovaná myší monoklonální

Rekonstituce, míchání, ředění, titrace:

Předředěné protilátkové činidlo je optimálně naředěno pro použití s výše uvedenými barvicími systémy. Další ředění může vést ke ztrátě barvení antigenu. Další ředění může vést ke ztrátě barvení antigenu. Uživatel musí každou takovou změnu potvrdit. Rozdíly ve zpracování tkání a technických postupech

v laboratoři uživatele může způsobit značnou variabilitu výsledků, což vyžaduje pravidelné provádění interních kontrol (viz část Kontrola kvality). Koncentrované činidlo vyžaduje ředění, jak je uvedeno v tabulce výše.

Znamé aplikace:

Imunohistochemie (tkáňě zalité v parafínu fixované formalínem)

Dodáváno jako: Pufrovaný fyziologický roztok, 5,9–7,4, obsahující proteinový nosič a méně než 0,1 % konzervační látky azid sodný. Další podrobnosti viz Bezpečnostní list.

Potřebné materiály a činidla, které nejsou součástí dodávky:

Mikroskopická sklíčka kladně nabitá.

Pozitivní a negativní tkáňové kontroly

Pouštní komora (nebo podobná sušárna)

Xylen nebo náhrada xylyenu

Ethanol nebo reagenční alkohol

Odmašťovací komora (tlakový hrnec)

Deionizovaná nebo destilovaná voda

Promývací pufr

Činidla pro předúpravu

Peroxidázový blok

Proteinový blok (volitelné)

Detekční sonda a polymer

Negativní kontrolní činidla

Chromogeny

Hematoxylin (kontrabarva)

Blueingovo činidlo

Montážní médium

Krycí sklo

Světelný mikroskop (40–400x zvětšení)

*Konfigurace protilátkového produktu jsou k dispozici pro použití s nástroji uvedenými v tabulce výše.

Skladování a stabilita:

Skladujte při teplotě 2°C až 8°C. Při skladování za těchto podmínek je přípravek stabilní do data expirace vytištěného na štítku lahvičky. Nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti. Skladování za jakýchkoli jiných než uvedených podmínek musí být ověřeno. Zředěná činidla by měla být použita okamžitě; veškeré zbývající činidlo skladujte při teplotě 2°C až 8°C. Stabilita uživatelem naředěného činidla nebyla společností Biocare stanovena.

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

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

27/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Czech

BIOCARE
M E D I C A L

Příprava vzorku:

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

Správně fixované a zapuštěné tkáňe exprimující specifický cílový antigen by měly být skladovány na chladném místě. Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) z roku 1988 vyžaduje v 42 CFR§493.1259(b), že „Laboratoř musí uchovávat obarvená sklíčka nejméně deset let od data vyšetření a uchovávat bloky vzorků nejméně dva roky od data vyšetření.“³

Ošetření tkáň před barvením:

Provedte Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) podle doporučeného protokolu níže. Ukázalo se, že rutinní použití HIER před IHC minimalizuje nekonzistenci a standardizuje barvení.^{4,5}

Upozornění a bezpečnostní opatření:

1. Tato protilátka obsahuje méně než 0,1 % azidu sodného. Koncentrace nižší než 0,1 % nejsou podle U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard communication a EC direktivy 91/155/EC nebezpečné materiály, které nelze hlásit. Azid sodný (NaN₃) použitý jako konzervační prostředek je při požití toxický. Azid sodný může reagovat s olověným a měděným potrubím za vzniku vysoce výbušných azidů kovů. Po likvidaci vypláchněte velkým množstvím vody, abyste zabránili usazování azidů v potrubí. (Centrum pro kontrolu nemocí, 1976, Národní institut bezpečnosti a ochrany zdraví při práci, 1976)⁶
2. Se vzorky před a po fixaci a se všemi materiály, které jim byly vystaveny, je třeba zacházet tak, jako by mohly přenášet infekci, a likvidovat je s náležitými opatřeními. Nikdy nepipetujte reagentie ústy a vyhněte se kontaktu kůže a sliznic s reagentiemi a vzorky. Pokud se činidla nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody.⁷
3. Mikrobiální kontaminace činidel může vést ke zvýšení nespecifického zbarvení.
4. Jiné než specifikované doby inkubace nebo teploty mohou vést k chybným výsledkům. Uživatel musí každou takovou změnu potvrdit.
5. Nepoužívejte činidlo po uplynutí doby použitelnosti vytištěné na lahvičce.
6. Předředěné protilátkové činidlo je pro použití optimálně naředěno. Další ředění může vést ke ztrátě barvení antigenu.
7. Ředění koncentrované protilátky musí být před použitím validováno. Jakékoli použité ředidlo, které není výslovně doporučeno, musí být také ověřeno z hlediska kompatibility a stability.
8. Bezpečnostní list je k dispozici na vyžádání a je umístěn na <http://biocare.net>.

Návod k použití:

Doporučené protokoly barvení pro HLA-B [BC43]:

IntelliPATH FLX a ruční použití:

API3289 pro IntelliPATH FLX a ruční použití, byl standardizován s MACH 4 detekční systém. Pro promývací kroky použijte TBS.	
Peroxide Block:	Blokujte po dobu 5 minut pomocí Peroxidazed 1.
Pretreatment:	Provedte získání tepla pomocí Reveal Decloaker. Konkrétní pokyny naleznete v datovém listu zařízení Reveal Decloaker.
Protein Block (Optional):	Inkubujte 5-10 minut při teplotě místnosti pomocí Background Punisher.
Primary Antibody:	Inkubujte 30 minut při teplotě místnosti.
Detection:	Sonda: Inkubujte 10 minut při teplotě místnosti se sekundárním polymerem.

	Polymer: Inkubujte 20 minut při teplotě místnosti s terciárním polymerem.
Chromogen:	Inkubujte 5 minut při RT s Biocare DAB – NEBO – Inkubujte 5-7 minut při RT s Warp Red.
Counterstain:	Kontrabarva hematoxylinem. Opláchněte deionizovanou vodou. Aplikujte Tacha's Blueing Solution na 1 minutu. Opláchněte deionizovanou vodou.

Automatizovaný systém barvení sklíček ONCORE Pro:

OPAI3289 je určen pro použití s ONCORE Pro. Konkrétní pokyny k použití naleznete v uživatelské příručce. Parametry protokolu v Editoru protokolu by měly být naprogramovány následovně:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Šablona paní HRP 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, nízké pH; 101C
Block Option:	Buffer
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 min., 25 °C

BenchMark Ventana ULTRA:

AVI3289 je určen pro použití s BenchMark ULTRA. Konkrétní pokyny k použití naleznete v uživatelské příručce. Doporučené parametry protokolu jsou následující:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minut
Peroxidase:	Pre-primární inhibitor peroxidázy
Primary Antibody:	8 minut, 36 °C

Řada Q – pro Leica BOND-III:

ALI3289 je určen pro použití s Leica BOND-III. Konkrétní pokyny k použití naleznete v uživatelské příručce. Doporučené parametry protokolu jsou následující:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	Protokol IHC F
Detection:	Bond Polymer Refine
HIER:	10 minut s ER1
Peroxide Block:	5 minut
Marker (Primary Antibody):	15 min
Post Primary:	8 min
Polymer:	8 min
Mixed Chromogen Refine:	10 min
Hematoxylin:	5 minut

Kontrola kvality:

Viz standardy kvality CLSI pro návrh a implementaci imunohistochemických testů; Schválená směrnice – druhé vydání (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁸

Positivní tkáňová kontrola: Mandle

Materiály pro externí pozitivní kontrolu by měly být čerstvé vzorky fixované, zpracované a zalité co nejdříve stejným způsobem jako vzorky pacienta.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Czech

BIOCARE
M E D I C A L

Positivní tkáňové kontroly ukazují na správně připravené tkáň a správné techniky barvení. V každém cyklu barvení by měla být zahrnuta jedna pozitivní externí tkáňová kontrola pro každou sadu testovacích podmínek.

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

Znamé pozitivní tkáňové kontroly by se měly používat pouze pro monitorování správného výkonu zpracovaných tkání a testovacích činidel, spíše než jako pomůcka při formulování specifické diagnózy vzorků pacientů. Pokud pozitivní tkáňové kontroly nevykazují pozitivní zbarvení, výsledky s testovacími vzorky by měly být považovány za neplatné.

Negativní tkáňová kontrola:

Použijte negativní tkáňovou kontrolu (známou jako HLA-B negativní), fixovanou, zpracovanou a zalitou stejným způsobem jako vzorek (vzorky) pacienta při každém cyklu barvení, abyste ověřili specifitu primární IHC protilátky pro prokázání cílového antigenu a poskytnutí indikace specifického barvení pozadí (falešně pozitivní barvení). Také může být rozmanitost různých typů buněk přítomných ve většině tkáňových řezů být používány laboratorní jako interní negativní kontrolní místa k ověření výkonu IHC Specifikace. Typy a zdroje vzorků, které lze použít pro negativní tkáň ovládací prvky jsou uvedeny v části Výkonové charakteristiky.

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

Nespecifická kontrola negativních činidel:

Použijte nespecifickou negativní reagenční kontrolu místo primární protilátky s řezem každého vzorku pacienta k vyhodnocení nespecifického zbarvení a umožňují lepší interpretaci specifického zbarvení v místě antigenu. V ideálním případě obsahuje negativní reagenční kontrola protilátku HLA-B [BC43] IgG1 Kappa produkovanou ze supernatantu tkáňové kultury stejným způsobem jako primární protilátka, ale nevykazuje žádnou specifickou reaktivitu s lidskými tkáněmi ve stejné matrici/roztoku jako Biocare protilátka. Nařeďte negativní kontrolní protilátku na stejnou koncentraci imunoglobulinu nebo proteinu jako nařeďená primární protilátka za použití identického ředidla. Pokud fetální telecí sérum zůstane po zpracování v čisté protilátce, použijte fetální telecí sérum v koncentraci proteinu ekvivalentní zředěné primární protilátka ve stejném ředidle je také vhodná pro použití. (Viz dodané činidlo). Samotné ředidlo může být použito jako méně žádoucí alternativa k dříve popsaným negativním reagenčním kontrolám. Inkubační doba pro negativní reagenční kontrolu by měla odpovídat inkubační době primární protilátky.

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

Ověření testu:

Před prvním použitím protilátky nebo barvicího systému v diagnostickém postupu by měl uživatel ověřit specifitu protilátky testováním na řadě

vlastních tkání se známými imunohistochemickými charakteristikami, které představují známé pozitivní a negativní tkáň. Viz postupy kontroly kvality dříve uvedené v této části příbalové informace k produktu a doporučení kontroly kvality certifikačního programu CAP® pro imunohistochemii a/nebo doporučení NCCLS IHC®). Tyto postupy kontroly kvality by se měly opakovat pro každou novou šarži protilátek nebo kdykoli dojde ke změně parametrů testu. Tkáň uvedené v části Výkonostní charakteristiky jsou vhodné pro ověření testu.

Odstraňování problémů:

Dodržujte doporučení specifického protokolu protilátek podle dodaného datového listu. Pokud se objeví atypické výsledky, kontaktujte technickou podporu Biocare na čísle 1-800-542-2002.

Interpretace barvení:

Pozitivní tkáňová kontrola:

Pozitivní tkáňová kontrola obarvená indikovanou protilátkou by měla být nejprve vyšetřena, aby se zjistilo, že všechna činidla fungují správně. Vhodné barvení cílových buněk (jak je uvedeno výše) svědčí o pozitivní reaktivitě. Pokud pozitivní tkáňové kontroly nevykazují pozitivní zbarvení, jakékoli výsledky s testovacími vzorky by měly být považovány za neplatné. Barva reakčního produktu se může lišit v závislosti na použitých substrátových chromogenech. Očekávané barevné reakce naleznete v příbalových informacích substrátu. Dále může být ve variantách způsobu barvení pozorována metachromázie."

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

Negativní tkáňová kontrola:

Negativní tkáňová kontrola by měla být vyšetřena po pozitivní tkáňové kontrole, aby se ověřila specifita značení cílového antigenu primární protilátkou. Absence specifického barvení v negativní tkáňové kontrole potvrzuje nedostatek zkřížené reaktivity protilátek s buňkami/buněčnými složkami. Pokud se u negativní externí tkáňové kontroly objeví specifické zbarvení (falešně pozitivní barvení), výsledky se vzorkem pacienta by měly být považovány za neplatné.

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

Pacientská tkáň:

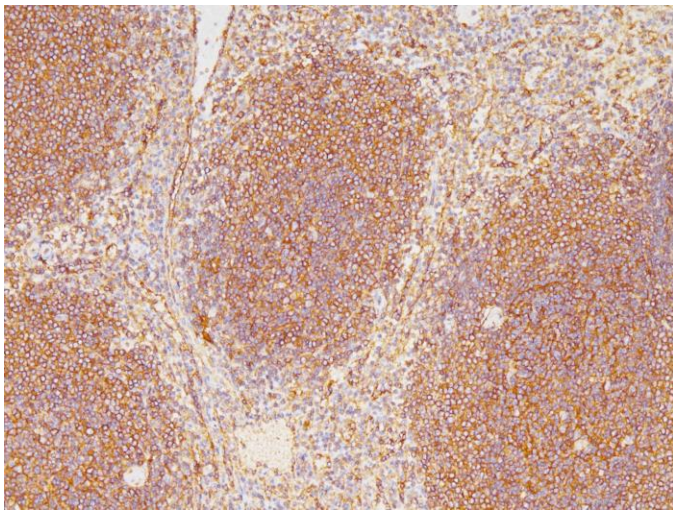
Prohlédněte si vzorky pacientů obarvené indikovanou protilátkou poslední. Intenzita pozitivního zbarvení by měla být posouzena v kontextu jakéhokoli nespecifického zbarvení pozadí negativní kontroly reagentů. Jako u každého imunohistochemického testu negativní výsledek znamená, že antigen nebyl detekován,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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Czech

BIOCARE
M E D I C A L



Slezina obarvená protilátkou HLA-B [BC43]

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

Omezení:

Obecná omezení:

1. *Pro in vitro* diagnostické použití
2. Tento produkt je určen pouze pro profesionální použití: Imunohistochemie je vícestupňový diagnostický proces, který se skládá ze specializovaného školení ve výběru vhodných činidel; výběr, fixace a zpracování tkáně; příprava podložního sklíčka IHC; a interpretaci výsledků barvení.
3. Barvení tkáně závisí na manipulaci a zpracování tkáně před barvením. Nesprávná fixace, zmrazování, rozmrazování, mytí, sušení, zahřívání, krájení nebo kontaminace jinými tkáněmi nebo tekutinami může způsobit artefakty, zachycení protilátek nebo falešně negativní výsledky. Nekonzistentní výsledky mohou být způsobeny odchylkami v metodách fixace a zalévání nebo přirozenými nepravidelnostmi v tkáni.¹²
4. Nadměrné nebo neúplné kontrastní barvení může ohrozit správnou interpretaci výsledků.
5. Klinická interpretace jakéhokoli pozitivního nebo negativního zbarvení by měla být vyhodnocena v kontextu klinické prezentace, morfologie a dalších histopatologických kritérií. Klinická interpretace jakéhokoli pozitivního nebo negativního zbarvení by měla být doplněna morfologickými studii s použitím správných pozitivních a negativních interních a externích kontrol, jakož i dalších diagnostických testů. Je odpovědností kvalifikovaného patologa, který je obeznámen se správným použitím IHC protilátek, činidel a metod, aby interpretoval všechny kroky použité k přípravě a interpretaci konečného IHC přípravku.
6. Optimální ředění protilátky a protokoly pro konkrétní aplikaci se mohou lišit. Mezi ně patří mimo jiné fixace, metoda získávání tepla, inkubační doby, tloušťka řezu tkáně a použitá detekční souprava. Vzhledem k vynikající citlivosti těchto jedinečných činidel nelze uvedené doporučené inkubační doby a titry použít pro jiné detekční systémy, protože výsledky se mohou lišit. Doporučení a protokoly datových listů jsou založeny na výhradním použití produktů Biocare. V konečném důsledku je odpovědností vyšetřovatele určit optimální podmínky.
7. Tento produkt není určen pro použití v průtokové cytometrii. Výkonnostní charakteristiky nebyly pro průtokovou cytometrii stanoveny.

8. Tkáně osob infikovaných virem hepatitidy B a obsahující povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg) mohou vykazovat nespecifické barvení křenuvou peroxidázou.¹³
9. Reagencie mohou vykazovat neočekávané reakce v dříve netestovaných tkáních. Možnost neočekávaných reakcí i u testovaných skupin tkání nelze zcela eliminovat z důvodu biologické variability exprese antigenu v novotvarech nebo jiných patologických tkáních.¹⁴ Kontaktujte technickou podporu společnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002 nebo prostřednictvím informací o technické podpoře uvedených na biocare.net se zdokumentovanými neočekávanými reakcemi.
10. Normální/neimunitní séra ze stejného zvířecího zdroje jako sekundární antiséra použitá v blokovacích krocích mohou způsobit falešně negativní nebo falešně pozitivní výsledky v důsledku autoprotilátek nebo přirozených protilátek.
11. Falešně pozitivní výsledky mohou být pozorovány v důsledku neimunologické vazby proteinů nebo produktů reakce substrátu. Mohou být také způsobeny pseudoperoxidázovou aktivitou (erytrocyty), endogenní peroxidázovou aktivitou (cytochrom C) nebo endogenním biotinem (např. játra, prsa, mozek, ledviny) v závislosti na typu použitého imunobarvení.¹⁵

Specifická omezení produktu:

Nejsou známa žádná další omezení.

Výkonnostní charakteristiky:

Senzitivita, specifita a zkřížená reaktivita jsou shrnuty v tabulkách 1 a 2, v daném pořadí.

Reprodukovatelnost:

Reprodukovatelnost účinnosti protilátek byla ověřena testováním vybrané normální a nádorové tkáně v různých dnech a na různých přístrojích s více operátory. Barvení vybraných tkání bylo konzistentní a provedlo se podle očekávání.

Reprodukovatelnost barvení v rámci cyklu byla stanovena barvením pěti tkání obsahujících stejnou tkáň na více přístrojích.

Reprodukovatelnost barvení mezi sériemi byla stanovena barvením pěti sklíček obsahujících stejnou tkáň ve třech dnech/běhech na stejném přístroji. Všechna testování prošla se stejným skóre, jak je definováno v interních směrnících Biocare pro hodnocení.

Imunoreaktivita:

V tabulkách 1 a 2 níže byly prokázány následující pozitivní a negativní imunoreaktivity.

Níže uvedený seznam není vyčerpávající, ale charakterizuje typy imunoreaktivity pozorované u uvedených protilátek.

Shrnutí očekávaných výsledků:

Bylo zjištěno, že tato protilátka je imunoreaktivní se všemi typy tkání, na kterých byla testována, včetně všech typů lymfomů a normální lidské tkáně. Barvení je převážně membránové, ale ve vzorcích s vysokou expresí se může jevit také jako cytoplazmatické. Barvení je přítomno převážně v endoteliálních buňkách a lymfocytech s nižší prevalencí v epiteliálních buňkách v některých tkáních.

Stůl 1: Senzitivita a specifita byly stanoveny testováním nemocných tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Czech

BIOCARE
M E D I C A L

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Tabulka 2:Křížová reaktivita tkání byla stanovena testováním normálních tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu.

Tkáň	Positivní případy	Celkem případů
Mozek	5	6
Mozeček	3	3
Nadledvinky	3	3
Vaječník	2	3
Slinivka břišní	3	3
Lymfatická uzlina	3	3
Průdušnice	3	3
Testis	5	5
Štitná žláza	3	3
Prsa	2	2
Slezina	4	4
Mandle	3	3
Brzlík	3	3
Kostní dřev	3	3
Plíce	3	3
Srdce	3	3
Jícen	3	3
Žaludek	2	3
Tenké střevo	3	3
Dvoječka	3	3
Játra	3	3
Slinná žláza	3	3
ledviny	3	3
Prostata	3	3
Děloha	3	3
Čípek	3	3
Kosterní sval	2	3
Kůže	2	2
Periferní nerv	3	3
Výstelkové buňky	2	2
Oko	3	3
Hrtan	3	3

Odstaňování problémů:

1. Žádné barvení sklíček – Zkontrolujte, zda byly použity vhodné pozitivní kontrolní tkáně, protilátky a detekční produkty.
2. Slabé zbarvení všech sklíček – Zkontrolujte, zda byly použity vhodné pozitivní kontrolní tkáně, protilátky a detekční produkty.

3. Nadměrné pozadí všech preparátů – Mohou existovat vysoké hladiny endogenního biotinu (pokud používáte detekční produkty na bázi biotinu), endogenní aktivita HRP přeměňující chromogen na barevný konečný produkt (použijte peroxidázový blok) nebo nadměrná nespecifická proteinová interakce (použijte protein blok, jako je blokovací roztok na bázi séra nebo kaseinu).
4. Tkáňové řezy smyjte sklíčka během inkubace – Zkontrolujte sklíčka, abyste se ujistili, že jsou kladně nabitá.
5. Specifické barvení je příliš tmavé – Zkontrolujte protokol, abyste zjistili, zda byl na sklíčko aplikován správný titer protilátek, a také správné inkubační doby pro všechna činidla. Dále zajistěte, aby protokol obsahoval dostatek promývacích kroků k odstranění přebytných činidel po dokončení inkubačních kroků.

Reference:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. Curr Opin Immunol. 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. J Immunol. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Protílátky Ultraline jsou vyvinuty výhradně společností Biocare Medical LLC a neznamenají schválení nebo schválení protilátek Biocare společností Ventana Medical Systems, Inc nebo Roche. Biocare, Ventana a Roche nejsou žádným způsobem přidruženy, spojeny ani propojeny. Ventana®, BenchMark®, ultraView a OptiView jsou ochranné známky společnosti Roche.

Protílátky řady Q jsou vyvinuty výhradně společností Biocare Medical LLC a neznamenají schválení nebo schválení protilátek Biocare společností Leica Biosystems. Biocare a Leica Biosystems nejsou žádným způsobem přidruženy, přidruženy ani propojeny. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX a BOND-III jsou ochranné známky společnosti Leica Biosystems.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

31/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Danish

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Anvendelsesformål:

Til *in vitro* Diagnostisk brug

HLA-B [BC43] er et muse monoklonalt antistof, der er beregnet til laboratoriebrug, efter at den indledende diagnose af tumor er blevet stillet ved konventionel histopatologi ved anvendelse af ikke-immunologiske histokemiske farvninger, i den kvalitative identifikation af HLA-B protein ved immunhistokemi (IHC) i formalinfikseret paraffin-indlejret (FFPE) humant væv. Den kliniske fortolkning af enhver farvning eller dens fravær bør suppleres med morfologiske undersøgelser med brug af passende kontroller og bør evalueres i sammenhæng med patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests af en kvalificeret patolog som en hjælp til at foretage andre kliniske bestemmelser.

Sammenfatning og forklaring:

HLA-B er et meget polymorft protein, der koder for gen for det store histokompatibilitetsklasse I (MHC-I) kompleks.¹⁵ MHC klasse I molekyler udtrykkes på celleoverfladen, binder og præsenterer antigene peptider til CD8+ T-lymfocytter for at mediere immunresponsen mod intracellulære patogener og cancer.¹⁶

Procedureprincip:

Dette antistofprodukt kan anvendes som det primære antistof i immunhistokemisk testning af formalinfikserede, paraffinindlejede vævssnit. Generelt immunhistokemisk (IHC) farvningsteknikker muliggør visualisering af antigener via sekventiel påføring af en specifikt antistof til antigenet (primært antistof), et sekundært antistof til det primære antistof (valgfrit link-antistof/probe), et enzymkompleks og et kromogent substrat med indskudte vasketrin. Den enzymatiske aktivering af kromogenet resulterer i et synligt reaktionsprodukt på antigenstedet. Prøven kan derefter modfarves og dækslet glides. Resultater fortolkes ved hjælp af et lys mikroskop og hjælp til differentialdiagnose af patofysiologiske processer, som evt er muligvis ikke forbundet med et bestemt antigen.

Materialer og metoder:

Medfølgende reagenser:

Værtskilde: Mus monoklonal

Artsreaktivitet: Human; andre arter ikke testet.

Klon: BC43

Isotype: IgG1 kappa

Proteinkoncentration: Se hætteglasset for partispecifik koncentration.

Specifik IgG-koncentration: Kontakt Biocares tekniske support

Specifitet: HLA-B

Cellulær lokalisering: Celle membran

Metode: Affinitetsoprenset mus monoklonal

Rekonstitution, blanding, fortynding, titrering:

Forfortyndet antistofreagens er optimalt fortyndet til brug med de ovenfor anførte farvningssystemer. Yderligere fortynding kan resultere i tab af antigenfarvning. Yderligere fortynding kan resultere i tab af antigenfarvning. Brugeren skal validere enhver sådan ændring. Forskelle i vævsbehandling og tekniske procedurer i brugerens laboratorium kan give betydelige variationer

i resultater, hvilket nødvendiggør regelmæssig udførelse af interne kontroller (se afsnittet Kvalitetskontrol).

Koncentreret reagens kræver fortynding som angivet i tabellen ovenfor.

Kendte applikationer:

Immunhistokemi (formalinfikseret paraffinindlejret væv)

Leveres som: Bufret saltvandsopløsning, 5,9-7,4, indeholdende en proteinbærer og mindre end 0,1 % natriumazidkonserveringsmiddel. Se sikkerhedsdatabladet for yderligere detaljer.

Nødvendige, men ikke medfølgende materialer og reagenser:

Objektglas til mikroskop positivt ladet.

Positive og negative vævskontroller

Ørkenkammer (eller lignende tørreovn)

Xylen eller xylenerstatning

Ethanol eller reagens alkohol

Afdækningskammer (trykkoger)

Deioniseret eller destilleret vand

Vaskebuffer

Forbehandlingsreagenser

Peroxidase blokering

Proteinblok (valgfrit)

Detektionssonde og polymer

Negative kontrolreagenser

Chromogener

Hæmatoxylin (modfarvning)

Blåreagens

Monteringsmedium

Dækglas

Lysmikroskop (40-400X forstørrelse)

*Konfigurationer af antistofproduktet er tilgængelige til brug på de instrumenter, der er angivet i tabellen ovenfor.

Opbevaring og stabilitet:

Opbevares ved 2°C til 8°C. Produktet er stabilt til den udløbsdato, der er trykt på hætteglasetiketten, når det opbevares under disse forhold. Må ikke bruges efter udløbsdatoen. Opbevaring under alle andre forhold end de specificerede skal verificeres. Fortyndede reagenser bør anvendes omgående; Opbevar eventuelt resterende reagens ved 2°C til 8°C. Stabiliteten af brugerfortyndet reagens er ikke blevet fastslået af Biocare.

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

Prøveforberedelse:

Væv fikseret i formalin er velegnet til brug før paraffinindstøbning. Ossøst væv bør afkalkes før vævsbehandling for at lette vævsskæring og forhindre beskadigelse af mikrotomblade.^{1,2}

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

32/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Danish

BIOCARE
M E D I C A L

Korrekt fikserede og indlejrede væv, der udtrykker det specificerede antigenmål, skal opbevares på et køligt sted. Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) fra 1988 kræver i 42 CFR§493.1259(b), at "Laboratoriet skal opbevare farvede objektglas mindst ti år fra datoen for undersøgelse og behold prøveblokke mindst to år fra eksamensdatoen."³

Behandling af væv før farvning:

Udfør Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) i henhold til den anbefalede protokol nedenfor. Den rutinemæssige brug af HIER før IHC har vist sig at minimere inkonsistens og standardisere farvning.^{4,5}

Advarsel og forholdsregler:

1. Dette antistof indeholder mindre end 0,1 % natriumazid. Koncentrationer mindre end 0,1 % er ikke rapporterbare farlige materialer i henhold til U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication og EC-direktiv 91/155/EC. Natriumazid (NaN₃) brugt som konserveringsmiddel er giftigt, hvis det indtages. Natriumazid kan reagere med bly- og kobber og danne højeksplosive metalazider. Efter bortskaffelse skylles med store mængder vand for at forhindre ophobning af azid i rørledninger. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶
2. Prøver før og efter fiksering og alle materialer, der udsættes for dem, skal håndteres, som om de er i stand til at overføre infektion og bortskaffes med passende forholdsregler. Pipetter aldrig reagenser gennem munden, og undgå at komme i kontakt med hud og slimhinder med reagenser og prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal du vaske med rigelige mængder vand.⁷
3. Mikrobiel kontaminering af reagenser kan resultere i en stigning i uspecifik farvning.
4. Andre inkubationstider eller temperaturer end de angivne kan give fejlagtige resultater. Brugeren skal validere enhver sådan ændring.
5. Brug ikke reagens efter den udløbsdato, der er trykt på hætteglasset.
6. Forfortyndet antistofreagens er optimalt fortyndet til brug. Yderligere fortynding kan resultere i tab af antigenfarvning.
7. Fortynding af koncentreret antistofreagens skal valideres før brug. Ethvert anvendt fortyndingsmiddel, der ikke specifikt anbefales, skal også valideres for kompatibilitet og stabilitet.
8. SDS er tilgængeligt efter anmodning og findes på <http://biocare.net>.

Brugsanvisning:

Anbefalede farvningsprotokoller til HLA-B [BC43]:

IntelliPATH FLX og manuel brug:

API3289 til IntelliPATH FLX og manuel brug, er blevet standardiseret med MACH 4 detektionssystem. Brug TBS til vasketrin.	
Peroxide Block:	Bloker i 5 minutter med Peroxidized 1.
Pretreatment:	Udfør varmegenvinding ved hjælp af Reveal Decloaker. Se Reveal Decloaker-databladet for specifikke instruktioner.
Protein Block (Optional):	Inkuber i 5-10 minutter ved stuetemperatur med Background Punisher.
Primary Antibody:	Inkuber i 30 minutter ved stuetemperatur.
Detection:	Probe: Inkuber i 10 minutter ved stuetemperatur med en sekundær polymer.
	Polymer: Inkuber i 20 minutter ved stuetemperatur med en tertiær polymer.
Chromogen:	Inkuber i 5 minutter ved RT med Biocares DAB – ELLER – Inkuber i 5-7 minutter ved RT med Warp Red.

Counterstain:	Modfarv med hæmatoxylin. Skyl med deioniseret vand. Påfør Tacha's Blueing Solution i 1 minut. Skyl med deioniseret vand.
----------------------	--

ONCORE Pro Automated Slide Staining System:

OPAI3289 er beregnet til brug med ONCORE Pro. Se brugervejledningen for specifikke instruktioner til brug. Protokolparametre i protokoleeditoren skal programmeres som følger:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Ms HRP skabelon 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, lav pH; 101°C
Block Option:	Buffer
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 min., 25°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3289 er beregnet til brug med BenchMark ULTRA. Se brugervejledningen for specifikke instruktioner til brug. De anbefalede protokolparametre er som følger:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minutter
Peroxidase:	Præ-primær peroxidasehæmmer
Primary Antibody:	8 minutter, 36°C

Q-serien – til Leica BOND-III:

ALI3289 er beregnet til brug med Leica BOND-III. Se brugervejledningen for specifikke instruktioner til brug. De anbefalede protokolparametre er som følger:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	IHC-protokol F
Detection:	Bond Polymer Forfin
HIER:	10 min med ER1
Peroxide Block:	5 min
Marker (Primary Antibody):	15 min
Post Primary:	8 min
Polymer:	8 min
Mixed Chromogen Refine:	10 min
Hematoxylin:	5 min

Kvalitetskontrol:

Se CLSI kvalitetsstandarder for design og implementering af immunhistokemiske analyser; Godkendt guideline-anden udgave (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁸

Positiv vævs kontrol: Mandel

Eksternt positivt kontrolmateriale skal være friske prøver, fikseret, behandlet og indlejret så hurtigt som muligt på samme måde som patientprøven/-erne. Positive vævs kontroller er tegn på korrekt forberedt væv og korrekte farvningssteknikker. En positiv ekstern vævs kontrol for hvert sæt af testbetingelser bør inkluderes i hver farvningskørsel.

De væv, der anvendes til de eksterne positive kontrolmaterialer, bør vælges fra patientprøver med velkarakteriserede lave niveauer af den positive målkaktivitet, der giver svag positiv farvning. Det lave niveau af positivitet for

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Danish

BIOCARE
M E D I C A L

eksterne positive kontroller er designet til at sikre påvisning af subtile ændringer i det primære antistofløbsomhed fra ustabilitet eller problemer med IHC-metoden. Kommercielt tilgængelige vævskontrolobjektglas eller -prøver, der er behandlet anderledes end patientprøven(-erne), validerer kun reagensydelse og verificerer ikke vævsforberedelse.

Kendte positive vævskontroller bør kun bruges til at overvåge den korrekte ydeevne af behandlet væv og testreagenser, snarere end som en hjælp til at formulere en specifik diagnose af patientprøver. Hvis de positive vævskontroller ikke viser positiv farvning, bør resultaterne med testprøverne betragtes som ugyldige.

Negativ vævskontrol:

Brug en negativ vævskontrol (kendt for at være HLA-B-negativ) fikseret, behandlet og indlejret på en måde, der er identisk med patientprøven/patienterne med hver farvningskørsel for at verificere specificiteten af det primære IHC-antistof for demonstration af målantigenet og for at give en indikation af specifik baggrundsfarvning (falsk positiv farvning). Det kan også de mange forskellige celletyper, der findes i de fleste vævssnit bruges af laboratoriet som interne negative kontrolsteder for at verificere IHC's ydeevne specifikationer. Typer og kilder til prøver, der kan bruges til negativt væv kontroller er angivet i afsnittet Ydelsesegenskaber.

Hvis der forekommer specifik farvning (falsk positiv farvning) i den negative vævskontrol, bør resultaterne med patientprøverne betragtes som ugyldige.

Ikke-specifik negativ reagenskontrol:

Brug en uspecifik negativ reagenskontrol i stedet for det primære antistof med et udsnit af hver patientprøve til at evaluere uspecifik farvning og tillade bedre fortolkning af specifik farvning på antigenstedet. Ideelt set indeholder en negativ reagenskontrol et HLA-B [BC43] IgG1 Kappa-antistof produceret fra vævskultursupernatant på samme måde som det primære antistof, men udviser ingen specifik reaktivitet med humant væv i samme matrix/opløsning som Biocare antistof. Fortynd et negativt kontrolantistof til samme immunoglobulin- eller proteinkoncentration som det fortyndede primære antistof under anvendelse af det identiske fortyndingsmiddel. Hvis føtal kalveserum tilbageholdes i det rene antistof efter forarbejdning, skal føtal kalveserum i en proteinkoncentration svarende til det fortyndede primære antistof i samme fortyndingsmiddel er også egnet til anvendelse. (Se det medfølgende reagens). Fortyndingsmiddel alene kan anvendes som et mindre ønskeligt alternativ til de tidligere beskrevne negative reagenskontroller. Inkubationsperioden for den negative reagenskontrol skal svare til den for det primære antistof.

Når paneler af flere antistoffer anvendes på serielle snit, kan de negativt farvningsområder på et objektglas tjene som en negativ/uspecifik bindingsbaggrundskontrol for andre antistoffer. For at differentiere endogen enzymaktivitet eller uspecifik binding af enzymer fra specifik immunreaktivitet, kan yderligere patientvæv udelukkende farves med henholdsvis substrat-chromogen eller enzymkomplekser (PAP, avidin-biotin, streptavidin) og substrat-chromogen.

Assaybekræftelse:

Før den første brug af et antistof eller farvningsystem i en diagnostisk procedure, skal brugeren verificere antistoffets specificitet ved at teste det på en række interne væv med kendte immunhistokemiske præstationskarakteristika, der repræsenterer kendte positive og negative væv. Se de kvalitetskontrolprocedurer, der tidligere er beskrevet i dette afsnit af produktindlægget og til kvalitetskontrolanbefalingerne fra CAP-certificeringsprogrammet til immunhistokemi og/eller NCCLS IHC guideline[®]). Disse kvalitetskontrolprocedurer bør gentages for hvert nyt antistoflot, eller når der er en ændring i assayparametrene. Væv, der er anført i afsnittet om ydeevnekarakteristika, er egnede til assayverifikation.

Fejlfinding:

Følg de antistofspecifikke protokolbefalinger i henhold til det medfølgende datablad. Hvis der opstår atypiske resultater, skal du kontakte Biocares tekniske support på 1-800-542-2002.

Fortolkning af farvning:

Positiv vævskontrol:

Den positive vævskontrol farvet med det angivne antistof bør undersøges først for at sikre, at alle reagenser fungerer korrekt. Den passende farvning af målceller (som angivet ovenfor) er tegn på positiv reaktivitet. Hvis de positive vævskontroller ikke viser positiv farvning, bør alle resultater med testprøverne betragtes som ugyldige. Farven på reaktionsproduktet kan variere afhængigt af de anvendte substratkromogener. Se substratets indlægssedler for forventede farvereaktioner. Yderligere kan metakromasi observeres i variationer af farvningsmetoden.¹¹

Når der anvendes en modfarvning, vil modfarvning, afhængigt af inkubationslængden og styrken af den anvendte modfarvning, resultere i en farvning af cellekernerne. Overdreven eller ufuldstændig modfarvning kan kompromittere korrekt fortolkning af resultater. Se protokollen(er) for anbefalet modfarvning.

Negativ vævskontrol:

Den negative vævskontrol bør undersøges efter den positive vævskontrol for at verificere specificiteten af mærkningen af målantigenet med det primære antistof. Fraværet af specifik farvning i den negative vævskontrol bekræfter manglen på antistofkrydsreaktivitet over for celler/cellulære komponenter. Hvis specifik farvning (falsk positiv farvning) forekommer i den negative eksterne vævskontrol, bør resultaterne med patientprøven betragtes som ugyldige.

Uspecifik farvning, hvis den er til stede, har normalt et diffust udseende. Sporadisk farvning af bindevæv kan også observeres i snit fra formalinfikseret væv. Brug intakte celler til fortolkning af farvningsresultater. Nekrotiske eller degenererede celler farves ofte uspecifikt.

Patientvæv:

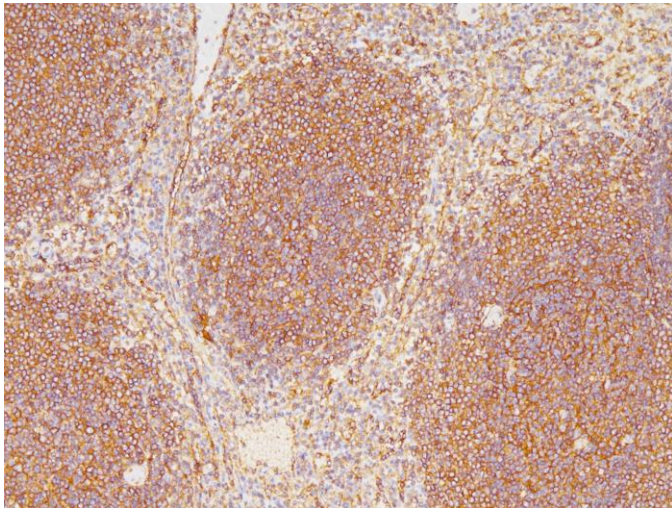
Undersøg patientprøver farvet med angivet antistof sidst. Positiv farvningsintensitet bør vurderes i sammenhæng med enhver uspecifik baggrundsfarvning af den negative reagenskontrol. Som med enhver immunhistokemisk test betyder et negativt resultat, at antigenet ikke blev påvist, ikke at antigenet var fraværende i de analyserede celler/væv. Brug om nødvendigt et panel af antistoffer til at identificere falsk-negative reaktioner.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Danish

BIOCARE
M E D I C A L



Milt farvet med HLA-B [BC43] antistof

Se Resumé og forklaring, begrænsninger og ydeevnekarakteristika for specifik information vedrørende indiceret antistof-immunreaktivitet.

Begrænsninger:

Generelle begrænsninger:

1. Til *in vitro* diagnostisk brug
2. Dette produkt er kun til professionel brug: Immunhistokemi er en flertrins diagnostisk proces, der består af specialiseret træning i udvælgelsen af de passende reagenser; vævsudvælgelse, fiksering og behandling; forberedelse af IHC-glasset; og fortolkning af farvningsresultaterne.
3. Vævsfarvning er afhængig af håndtering og behandling af vævet før farvning. Forkert fiksering, frysning, optøning, vask, tørring, opvarmning, sektionering eller kontaminering med andre væv eller væsker kan producere artefakter, antistoffangning eller falsk negative resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes variationer i fikserings- og indlejningsmetoder eller iboende uregelmæssigheder i vævet.¹²
4. Overdreven eller ufuldstændig modfarvning kan kompromittere korrekt fortolkning af resultater.
5. Den kliniske fortolkning af enhver positiv eller negativ farvning bør evalueres i sammenhæng med klinisk præsentation, morfologi og andre histopatologiske kriterier. Den kliniske fortolkning af enhver positiv eller negativ farvning bør suppleres med morfologiske undersøgelser med korrekte positive og negative interne og eksterne kontroller samt andre diagnostiske tests. Det er en kvalificeret patologs ansvar, som er fortrolig med den korrekte brug af IHC-antistoffer, reagenser og metoder, at fortolke alle de trin, der bruges til at forberede og fortolke det endelige IHC-præparat.
6. Den optimale antistoffortynding og protokoller til en specifik anvendelse kan variere. Disse omfatter, men er ikke begrænset til fiksering, varmhentningsmetode, inkubationstider, vævsnittykkelse og det anvendte detektionskit. På grund af den overlegne følsomhed af disse unikke reagenser er de anbefalede inkubationstider og titere, der er anført, ikke anvendelige for andre detektionssystemer, da resultaterne kan variere. Databladets anbefalinger og protokoller er baseret på eksklusiv brug af Biocare-produkter. I sidste ende er det efterforskerens ansvar at bestemme optimale forhold.
7. Dette produkt er ikke beregnet til brug i flowcytometri. Ydeevnekarakteristika er ikke blevet bestemt for flowcytometri.

8. Væv fra personer inficeret med hepatitis B-virus og indeholdende hepatitis B-overfladeantigen (HBsAg) kan udvise uspecifik farvning med peberrodsperoxidase.¹³
9. Reagenser kan udvise uventede reaktioner i tidligere utestede væv. Muligheden for uventede reaktioner selv i testede vævsgrupper kan ikke fuldstændigt elimineres på grund af biologisk variabilitet af antigenekspresion i neoplasmer eller andre patologiske væv.¹⁴ Kontakt Biocares tekniske support på 1-800-542-2002 eller via de tekniske supportoplysninger, der er angivet på biocare.net, med dokumenterede uventede reaktioner.
10. Normale/ikke-immune sera fra samme dyrekilde som sekundære antisera, der anvendes i blokeringsstrin, kan forårsage falsk-negative eller falsk-positive resultater på grund af autoantistoffer eller naturlige antistoffer.
11. Falsk-positive resultater kan ses på grund af ikke-immunologisk binding af proteiner eller substratreaktionsprodukter. De kan også være forårsaget af pseudoperoxidaseaktivitet (erythrocytter), endogen peroxidaseaktivitet (cytochrom C) eller endogen biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) afhængigt af den anvendte type immunfarvning.¹²

Produktspecifikke begrænsninger:

Der er ingen yderligere begrænsninger kendt.

Ydelseskarakteristika:

Sensitivitet, specificitet og krydsreaktivitet er opsummeret i henholdsvis tabel 1 og 2.

Reproducerbarhed:

Reproducerbarheden af antistofydelse blev verificeret ved at teste udvalgt normalt væv og tumorvæv på forskellige dage og forskellige instrumenter med flere operatører. Farvning af de udvalgte væv var konsistent og udført som forventet.

Intra-run reproducerbarhed af farvning blev bestemt ved at farve fem væv indeholdende det samme væv på flere instrumenter.

Inter-run reproducerbarhed af farvning blev bestemt ved farvning af fem objektglas indeholdende det samme væv på tre dage/kørsler på det samme instrument. Alle test bestod med de samme scores, som defineret af Biocares interne retningslinjer for scoring.

Immunreaktivitet:

Følgende positive og negative immunreaktiviteter er blevet påvist i tabel 1 og 2 nedenfor.

Listen nedenfor er ikke udtømmende, men karakteriserer de typer af immunreaktiviteter, der observeres med det angivne antistof.

Oversigt over forventede resultater:

Dette antistof viste sig at være immunreaktivt med alle typer væv, som det blev testet på, inklusive alle typer lymfomer og normalt humant væv. Farvningen er overvejende membranøs, men kan også forekomme cytoplasmatisk i prøver med høj ekspresion. Farvning er overvejende til stede i endotelceller og lymfocytter med lavere prævalens i epitelceller i noget væv.

Tabel 1: Sensitivitet og specificitet blev bestemt ved at teste formalinfikserede, paraffinindlejrede syge væv.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
--------	----------------	-------------

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Danish

BIOCARE
M E D I C A L

Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Tabel 2: Vævsreaktivitet blev bestemt ved at teste formalinfikserede, paraffinindlejrede normale væv.

Væv	Positive tilfælde	Sager i alt
Cerebrum	5	6
Lillehjernen	3	3
Binyre	3	3
Ovarie	2	3
Bugspytkirtel	3	3
Lymfeknude	3	3
Luftrør	3	3
Testis	5	5
Skjoldbruskkirtel	3	3
Bryst	2	2
Milt	4	4
Mandel	3	3
Thymus	3	3
Knoglemarv	3	3
Lunge	3	3
Hjerte	3	3
Spiserøret	3	3
Mave	2	3
Tyndtarm	3	3
Kolon	3	3
Lever	3	3
Spytkirtlen	3	3
Nyre	3	3
Prostata	3	3
Livmoder	3	3
Livmoderhalsen	3	3
Skelet muskel	2	3
Hud	2	2
Perifer nerve	3	3
Foring celler	2	2
Øje	3	3
Strubehoved	3	3

Fejlfinding:

- Ingen farvning af nogen objektglas – Tjek for at fastslå, om der er brugt passende positivt kontrolvæv, antistof og detektionsprodukter.
- Svag farvning af alle objektglas – Tjek for at fastslå, om der er anvendt passende positivt kontrolvæv, antistof og detektionsprodukter.
- Overdreven baggrund af alle objektglas - Der kan være høje niveauer af endogent biotin (hvis der bruges biotinbaserede

detektionsprodukter), endogen HRP-aktivitet, der omdanner kromogen til farvet slutprodukt (brug peroxidaseblok) eller overskydende uspecifik proteininteraktion (brug et protein blokeringsmiddel, såsom serum- eller kaseinbaseret blokeringsopløsning).

- Vævssektioner vasker objektglas af under inkubation – Tjek objektglas for at sikre, at de er positivt ladede.
- Specifik farvning for mørk – Tjek protokollen for at bestemme, om korrekt antistoftiter blev anvendt på objektglasset, samt korrekte inkubationstider for alle reagenser. Sørg desuden for, at protokollen har nok vasketrin til at fjerne overskydende reagenser, efter at inkubationstrinene er afsluttet.

Referencer:

- Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
- Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
- Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
- Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
- Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
- Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
- CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
- College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
- O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
- Koretz K, Lemaire ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
- Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
- Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Path 1980; 73:626.
- Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
- Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. Curr Opin Immunol. 2020 Jun;64:137-145.
- Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. J Immunol. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Ultraline-antistoffer udvikles udelukkende af Biocare Medical LLC og indebærer ikke godkendelse eller godkendelse af Biocare-antistoffer fra Ventana Medical Systems, Inc. eller Roche. Biocare, Ventana og Roche er ikke tilknyttet, associeret eller relateret på nogen måde. Ventana®, BenchMark®, ultraView og OptiView er varemærker tilhørende Roche.

Q-seriens antistoffer udvikles udelukkende af Biocare Medical LLC og indebærer ikke godkendelse eller godkendelse af Biocare-antistoffer fra Leica Biosystems. Biocare og Leica Biosystems er ikke tilknyttet, associeret eller relateret på nogen måde. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX og BOND-III er varemærker tilhørende Leica Biosystems.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

36/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Dutch

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Beoogd gebruik:

Voor *in vitro* Diagnostisch gebruik

HLA-B [BC43] is een monokonaal muizenantilichaam dat bedoeld is voor laboratoriumgebruik nadat de initiële diagnose van een tumor is gesteld door middel van conventionele histopathologie met behulp van niet-immunologische histochemische kleuringen, bij de kwalitatieve identificatie van HLA-B eiwit door immunohistochemie (IHC) in in formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde (FFPE) menselijke weefsels. De klinische interpretatie van eventuele kleuringen of de afwezigheid ervan moet worden aangevuld met morfologisch onderzoek met behulp van de juiste controles en moet worden geëvalueerd binnen de context van de klinische geschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests door een gekwalificeerde patholoog als hulpmiddel bij het maken van andere klinische bepalingen.

Samenvatting en uitleg:

HLA-B is een zeer polymorf eiwit dat codeert voor het belangrijkste histocompatibiliteitsklasse I (MHC-I) complex.¹⁵ MHC klasse I-moleculen worden tot expressie gebracht op het celoppervlak, waarbij ze antigene peptiden binden en presenteren aan CD8+ T-lymfocyten om immunoreacties tegen intracellulaire pathogenen en kankers te mediëren.¹⁶

Principe van procedure:

Dit antilichaamproduct kan worden gebruikt als het primaire antilichaam bij immunohistochemische tests van in formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde weefselcoupes. In het algemeen immunohistochemisch (IHC) kleuringstechnieken maken de visualisatie van antigenen mogelijk via de opeenvolgende toepassing van een specifiek antilichaam tegen het antigeen (primaire antilichaam), een secundair antilichaam tegen het primaire antilichaam (optioneel bindingsantilichaam/probe), een enzymcomplex en een chromogeen substraat met tussenliggende wasstappen. De enzymatische activering van het chromogeen resulteert in een zichtbaar reactieproduct op de antigeenplaats. Het monster kan vervolgens worden tegengekleurd en afgedekt. De resultaten worden geïnterpreteerd met behulp van een lamp microscoop en hulp bij de differentiële diagnose van pathofysiologische processen, die mogelijk is mogelijk niet geassocieerd met een bepaald antigeen.

Materialen en methodes:

Meegeleverde reagentia:

Hostbron: Monokonaal muis

Soortreactiviteit: Menselijk; andere soorten niet getest.

Kloon: BC43

Isotype: IgG1-kappa

Eiwitconcentratie: Zie het etiket op het flesje voor de partijspecifieke concentratie.

Specifieke IgG-concentratie: Neem contact op met de technische ondersteuning van Biocare

Specificiteit: HLA-B

Mobiele lokalisatie: Celmembraan

Methode: Affiniteitsgezuiverde monoklonale muis

Reconstitutie, mengen, verdunnen, titratie:

Voorverdund antilichaamreagens wordt optimaal verdund voor gebruik met de hierboven genoemde kleursystemen. Verdere verdunning kan leiden tot verlies van antigeenkleuring. Verdere verdunning kan leiden tot verlies van antigeenkleuring. De gebruiker moet een dergelijke wijziging valideren. Verschillen in weefselverwerking en technische procedures in het laboratorium van de gebruiker kan aanzienlijke variabiliteit in de resultaten veroorzaken, waardoor regelmatige uitvoering van interne controles noodzakelijk is (zie het hoofdstuk Kwaliteitscontrole). Geconcentreerd reagens vereist verdunning zoals aangegeven in de bovenstaande tabel.

Bekende toepassingen:

Immunohistochemie (formaline-gefixeerde, in paraffine ingebedde weefsels)

Geleverd als: Gebufferde zoutoplossing, 5,9-7,4, met een eiwitdrager en minder dan 0,1% natriumazideconserveermiddel. Zie het veiligheidsinformatieblad voor aanvullende details.

Benodigde maar niet meegeleverde materialen en reagentia:

Microscopglaasjes positief geladen.

Positieve en negatieve weefselcontroles

Woestijnkamer (of soortgelijke droogoven)

Xyleen of xyleenvervanger

Ethanol of reagensalcohol

Onthulkamer (snelkookpan)

Gedeïoniseerd of gedestilleerd water

Wasbuffer

Reagentia voor voorbehandeling

Peroxidase-blok

Eiwitblok (optioneel)

Detectiesonde en polymeer

Negatieve controle reagentia

Chromogenen

Hematoxyline (tegenkleuring)

Blauwingsreagens

Montage medium

Dekglasjes

Lichtmicroscoop (40-400x vergroting)

*Configuraties van het antilichaamproduct zijn beschikbaar voor gebruik op de instrumenten aangegeven in de bovenstaande tabel.

Opslag en stabiliteit:

Bewaren bij 2°C tot 8°C. Het product is stabiel tot de vervaldatum die op het etiket van de injectieflacon staat, indien bewaard onder deze omstandigheden. Niet gebruiken na de vervaldatum. Opslag onder alle andere omstandigheden dan gespecificeerd moet worden geverifieerd. Verdunde reagentia moeten onmiddellijk worden gebruikt; bewaar het resterende reagens bij 2°C tot 8°C. De stabiliteit van door de gebruiker verdund reagens is niet vastgesteld door Biocare.

Positieve en negatieve controles moeten gelijktijdig met alle patiëntmonsters worden uitgevoerd. Als er onverwachte kleuring wordt waargenomen die niet kan worden verklaard door variaties in laboratoriumprocedures en er wordt

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

37/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Dutch

BIOCARE
M E D I C A L

vermoed dat er een probleem is met het antilichaam, neem dan contact op met de technische ondersteuning van Biocare op 1-800-542-2002 of via de technische ondersteuningsinformatie op biocare.net.

Monstervoorbereiding:

Weefsels gefixeerd in formaline zijn geschikt voor gebruik voorafgaand aan het inbedden van paraffine. Botweefsel moet vóór de weefselverwerking worden ontkalkt om het snijden van het weefsel te vergemakkelijken en schade aan de microtoombladen te voorkomen.^{1,2}

Goed gefixeerde en ingebedde weefsels die het gespecificeerde antigeendoel tot expressie brengen, moeten op een koele plaats worden bewaard. De Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) van 1988 vereist 42 CFR§493.1259(b) dat "Het laboratorium gekleurde objectglaasjes ten minste tien jaar vanaf de datum van onderzoeken en monsterblokken ten minste twee jaar na de datum van onderzoek bewaren."³

Behandeling van weefsels voorafgaand aan kleuring:

Voer Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) uit volgens het aanbevolen protocol hieronder. Er is aangetoond dat het routinematige gebruik van HIER voorafgaand aan IHC de inconsistentie minimaliseert en de kleuring standaardiseert.^{4,5}

Waarschuwing en voorzorgsmaatregelen:

1. Dit antilichaam bevat minder dan 0,1% natriumazide. Concentraties van minder dan 0,1% zijn geen gevaarlijke materialen die moeten worden gerapporteerd volgens U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication en EC-richtlijn 91/155/EC. Natriumazide (NaN₃) gebruikt als conserveermiddel is giftig bij inslikken. Natriumazide kan reageren met loden en koperen leidingen en zeer explosieve metaalaziden vormen. Wanneer u het afvoert, moet u het met grote hoeveelheden water spoelen om ophoping van azide in de leidingen te voorkomen. (Centrum voor Ziektebestrijding, 1976, Nationaal Instituut voor Veiligheid en Gezondheid op het werk, 1976)
2. Monsters, voor en na fixatie, en alle materialen die eraan worden blootgesteld, moeten worden behandeld alsof ze infecties kunnen overdragen, en moeten met de juiste voorzorgsmaatregelen worden verwijderd. Pipetteer reagentia nooit via de mond en vermijd contact van de huid en slijmvliezen met reagentia en monsters. Als reagentia of monsters in contact komen met gevoelige gebieden, spoel ze dan met grote hoeveelheden water.⁷
3. Microbiële contaminatie van reagentia kan resulteren in een toename van niet-specifieke kleuring.
4. Andere incubatietijden of temperaturen dan gespecificeerd kunnen foutieve resultaten opleveren. De gebruiker moet een dergelijke wijziging valideren.
5. Gebruik geen reagens na de vervaldatum die op de injectieflacon staat vermeld.
6. Voorverdund antilichaamreagens wordt optimaal verdund voor gebruik. Verdere verdunding kan leiden tot verlies van antigeenkleuring.
7. De verdunding van geconcentreerd antilichaamreagens moet vóór gebruik worden gevalideerd. Elk gebruikt verdunningsmiddel dat niet specifiek wordt aanbevolen, moet ook worden gevalideerd op compatibiliteit en stabiliteit.
8. Het veiligheidsinformatieblad is op aanvraag verkrijgbaar en bevindt zich op <http://biocare.net>.

Gebruiksaanwijzing:

Aanbevolen kleurprotocollen voor HLA-B [BC43]:

IntelliPATH FLX en handmatig gebruik:

API3289 voor IntelliPATH FLX en handmatig gebruik, is gestandaardiseerd met MACH 4 detectie systeem. Gebruik TBS voor wasstappen.

Peroxide Block: Blokkeer gedurende 5 minuten met Peroxidized 1.

Pretreatment:	Voer warmteterugwinning uit met Reveal Decloaker. Raadpleeg het gegevensblad van de Reveal Decloaker voor specifieke instructies.
Protein Block (Optional):	Incubeer gedurende 5-10 minuten bij kamertemperatuur met Background Punisher.
Primary Antibody:	Incubeer gedurende 30 minuten bij kamertemperatuur.
Detection:	Sonde: Incubeer gedurende 10 minuten bij kamertemperatuur met een secundair polymeer. Polymeer: Incubeer gedurende 20 minuten bij kamertemperatuur met een tertiair polymeer.
Chromogen:	Incubeer gedurende 5 minuten bij kamertemperatuur met DAB van Biocare – OF – Incubeer gedurende 5-7 minuten bij kamertemperatuur met Warp Red.
Counterstain:	Tegenkleuring met hematoxyline. Spoelen met gedeïoniseerd water. Breng Tacha's Blueing Solution aan gedurende 1 minuut. Spoelen met gedeïoniseerd water.

ONCORE Pro geautomatiseerd kleuringssysteem voor objectglaasjes:

OPAI3289 is bedoeld voor gebruik met de ONCORE Pro. Raadpleeg de gebruikershandleiding voor specifieke gebruiksinstructies. Protocolparameters in de Protocol-editor moeten als volgt worden geprogrammeerd:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Mevrouw HRP-sjabloon 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, lage pH; 101C
Block Option:	Buffer
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 min., 25°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3289 is bedoeld voor gebruik met de BenchMark ULTRA. Raadpleeg de gebruikershandleiding voor specifieke gebruiksinstructies. Aanbevolen protocolparameters zijn als volgt:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minuten
Peroxidase:	Preprimaire peroxidaseremmer
Primary Antibody:	8 minuten, 36°C

Q-serie – voor Leica BOND-III:

ALI3289 is bedoeld voor gebruik met de Leica BOND-III. Raadpleeg de gebruikershandleiding voor specifieke gebruiksinstructies. Aanbevolen protocolparameters zijn als volgt:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	IHC-protocol F
Detection:	Bond Polymeer Verfijnen
HIER:	10 minuten met ER1
Peroxide Block:	5 minuten
Marker (Primary Antibody):	15 minuten
Post Primary:	8 minuten
Polymer:	8 minuten
Mixed Chromogen Refine:	10 minuten
Hematoxylin:	5 minuten

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

38/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Dutch

BIOCARE
M E D I C A L

Kwaliteitscontrole:

Raadpleeg de CLSI-kwaliteitsnormen voor ontwerp en implementatie van immunohistochemische tests; Goedgekeurde richtlijn-tweede editie (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011*

Positieve weefselcontrole: Tonsil

Externe positieve controlematerialen moeten verse monsters zijn die zo snel mogelijk op dezelfde manier zijn gefixeerd, verwerkt en ingebed als de patiëntmonsters. Positieve weefselcontroles duiden op correct geprepareerde weefsels en juiste kleuringstechnieken. Bij elke kleuringssrun moet voor elke reeks testomstandigheden één positieve externe weefselcontrole worden meegenomen.

De weefsels die voor de externe positieve controlematerialen worden gebruikt, moeten worden geselecteerd uit patiëntspecimens met goed gekarakteriseerde lage niveaus van de positieve doelactiviteit die een zwakke positieve kleuring veroorzaken. Het lage niveau van positiviteit voor externe positieve controles is bedoeld om detectie van subtiele veranderingen in de primaire antilichaamgevoeligheid als gevolg van instabiliteit of problemen met de IHC-methodologie te garanderen. In de handel verkrijgbare objectglaasjes of monsters voor weefselcontrole die op een andere manier zijn verwerkt dan het/de patiëntmonster(s), valideren alleen de prestaties van het reagens en verifiëren de weefselpreparatie niet.

Bekende positieve weefselcontroles mogen alleen worden gebruikt voor het monitoren van de juiste prestatie van verwerkte weefsels en testreagentia, en niet als hulpmiddel bij het formuleren van een specifieke diagnose van patiëntmonsters. Als de positieve weefselcontroles geen positieve kleuring vertonen, moeten de resultaten met de testmonsters als ongeldig worden beschouwd.

Negatieve weefselcontrole:

Gebruik bij elke kleuringssrun een negatieve weefselcontrole (waarvan bekend is dat deze HLA-B-negatief is), gefixeerd, verwerkt en ingebed op een manier die identiek is aan het/de patiëntmonster(s) om de specificiteit van het primaire IHC-antilichaam te verifiëren. demonstratie van het doelantigeen, en om een indicatie te geven van specifieke achtergrondkleuring (vals-positieve kleuring). Ook de verscheidenheid aan verschillende celtypen die in de meeste weefselcoupes aanwezig zijn, kan dat doen door het laboratorium worden gebruikt als interne negatieve controlelocaties om de prestaties van de IHC te verifiëren specificaties. De soorten en bronnen van specimens die voor negatief weefsel kunnen worden gebruikt bedieningselementen vindt u in het gedeelte Prestatiekenmerken.

Als er specifieke kleuring (vals-positieve kleuring) optreedt in de negatieve weefselcontrole, moeten de resultaten met de patiëntspecimens als ongeldig worden beschouwd.

Niet-specifieke negatieve reagenscontrole:

Gebruik een niet-specifieke negatieve reagenscontrole in plaats van het primaire antilichaam met een deel van elk patiëntmonster om niet-specifieke kleuring en maken een betere interpretatie van specifieke kleuring op de antigeenplaats mogelijk. Idealiter bevat een negatieve reagenscontrole een HLA-B [BC43] IgG1 Kappa-antilichaam dat op dezelfde manier uit weefselweeksupernatant wordt geproduceerd als het primaire antilichaam, maar vertoont geen specifieke reactiviteit met menselijke weefsels in dezelfde matrix/oplossing als het Biocare-antilichaam. Verdun een negatief controle-antilichaam tot dezelfde immunoglobuline- of eiwitconcentratie als het verdunde primaire antilichaam antilichaam met behulp van hetzelfde verdunningsmiddel. Als foetaal kalfsserum na verwerking in het zuivere antilichaam achterblijft, moet foetaal kalfsserum met een eiwitconcentratie equivalent aan de verdunde primair antilichaam in hetzelfde verdunningsmiddel is ook geschikt voor gebruik. (Zie het meegeleverde

reagens). Alleen verdunningsmiddel kan worden gebruikt als een minder wenselijk alternatief voor de eerder beschreven negatieve reagenscontroles. De incubatietijd voor de negatieve reagenscontrole moet overeenkomen met die van het primaire antilichaam.

Wanneer op seriële secties panels van verschillende antilichamen worden gebruikt, kunnen de negatief kleurende gebieden van één objectglaasje dienen als een negatieve/niet-specifieke bindende achtergrondcontrole voor andere antilichamen. Om endogene enzymactiviteit of niet-specifieke binding van enzymen te onderscheiden van specifieke immuunreactiviteit, kunnen extra patiëntweefsels uitsluitend worden gekleurd met respectievelijk substraat-chromogeen of enzymcomplexen (PAP, avidine-biotine, streptavidine) en substraat-chromogeen.

Assayverificatie:

Voorafgaand aan het eerste gebruik van een antilichaam of kleursysteem in een diagnostische procedure moet de gebruiker de specificiteit van het antilichaam verifiëren door het te testen op een reeks interne weefsels met bekende immunohistochemische prestatiekenmerken die bekende positieve en negatieve weefsels vertegenwoordigen. Raadpleeg de kwaliteitscontroleprocedures die eerder in dit gedeelte van de productbijsluiters zijn beschreven en de aanbevelingen voor kwaliteitscontrole van het CAP-certificeringsprogramma[®] voor immunohistochemie en/of de NCCLS IHC-richtlijn[®]. Deze kwaliteitscontroleprocedures moeten worden herhaald voor elke nieuwe partij antilichamen, of telkens wanneer er een verandering in de testparameters optreedt. Weefsels vermeld in de sectie Prestatiekenmerken zijn geschikt voor assayverificatie.

Probleemoplossen:

Volg de antilichaamspecifieke protocolaanbevelingen volgens het meegeleverde gegevensblad. Als er atypische resultaten optreden, neem dan contact op met de technische ondersteuning van Biocare op 1-800-542-2002.

Interpretatie van kleuring:

Positieve weefselcontrole:

De positieve weefselcontrole, gekleurd met het aangegeven antilichaam, moet eerst worden onderzocht om er zeker van te zijn dat alle reagentia goed functioneren. De juiste kleuring van doelcellen (zoals hierboven aangegeven) is indicatief voor positieve reactiviteit. Als de positieve weefselcontroles geen positieve kleuring vertonen, moeten alle resultaten met de testmonsters als ongeldig worden beschouwd. De kleur van het reactieproduct kan variëren afhankelijk van de gebruikte substraatchromogenen. Raadpleeg de bijsluiters van het substraat voor de verwachte kleurreacties. Verder kan metachromasie worden waargenomen bij variaties op de kleuringmethode.¹¹ Wanneer een tegenkleuring wordt gebruikt, zal de tegenkleuring, afhankelijk van de incubatieduur en de sterkte van de gebruikte tegenkleuring, resulteren in een verkleuring van de celkernen. Overmatige of onvolledige tegenkleuring kan de juiste interpretatie van de resultaten in gevaar brengen. Raadpleeg protocol(len) voor aanbevolen tegenkleuring.

Negatieve weefselcontrole:

De negatieve weefselcontrole moet na de positieve weefselcontrole worden onderzocht om de specificiteit van de labeling van het doelantigeen door het primaire antilichaam te verifiëren. De afwezigheid van specifieke kleuring in de negatieve weefselcontrole bevestigt het ontbreken van kruisreactiviteit van antilichamen met cellen/cellulaire componenten. Als er specifieke kleuring (vals-positieve kleuring) optreedt in de negatieve externe weefselcontrole, moeten de resultaten met het patiëntmonster als ongeldig worden beschouwd.

Niet-specifieke kleuring, indien aanwezig, heeft gewoonlijk een diffuus uiterlijk. Sporadische kleuring van bindweefsel kan ook worden



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

39/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

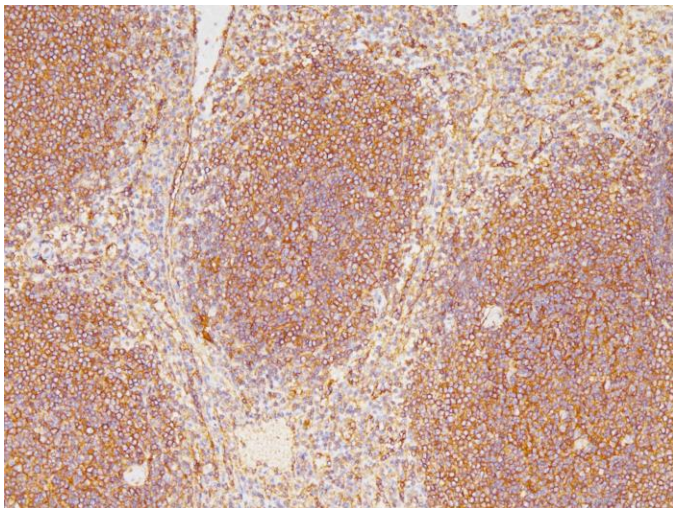
Dutch

BIOCARE
M E D I C A L

waargenomen in coupes van overmatig formalinegefixeerd weefsel. Gebruik intacte cellen voor de interpretatie van kleuringsresultaten. Necrotische of gedegenerende cellen kleuren vaak niet-specifiek.

Patiëntenweefsel:

Onderzoek patiëntenspecimens die zijn gekleurd met het aangegeven antilichaam laatst. De positieve kleurintensiteit moet worden beoordeeld binnen de context van eventuele niet-specifieke achtergrondkleuring van de negatieve reagenscontrole. Zoals bij elke immunohistochemische test betekent een negatief resultaat dat het antigeen niet is gedetecteerd, en niet dat het antigeen afwezig was in de geteste cellen/weefsels. Gebruik indien nodig een panel antilichamen om vals-negatieve reacties te identificeren.



Milt gekleurd met HLA-B [BC43]-antilichaam

Raadpleeg de Samenvatting en uitleg, beperkingen en prestatiekenmerken voor specifieke informatie over de aangegeven immunoreactiviteit van antilichamen.

Beperkingen:

Algemene beperkingen:

1. Voor *in vitro* diagnostisch gebruik
2. Dit product is uitsluitend bedoeld voor professioneel gebruik: Immunohistochemie is een uit meerdere stappen bestaand diagnostisch proces dat bestaat uit gespecialiseerde training in de selectie van de juiste reagentia; weefselselectie, fixatie en verwerking; voorbereiding van het IHC-glaasje; en interpretatie van de kleuringsresultaten.
3. Weefselkleuring is afhankelijk van de behandeling en verwerking van het weefsel voorafgaand aan de kleuring. Onjuiste fixatie, invriezen, ontdooien, wassen, drogen, verwarmen, snijden of contaminatie met andere weefsels of vloeistoffen kan artefacten, het opsluiten van antilichamen of vals-negatieve resultaten veroorzaken. Inconsistente resultaten kunnen te wijten zijn aan variaties in de fixatie- en inbeddingsmethoden, of aan inherente onregelmatigheden in het weefsel.¹²
4. Overmatige of onvolledige tegenkleuring kan de juiste interpretatie van de resultaten in gevaar brengen.
5. De klinische interpretatie van elke positieve of negatieve kleuring moet worden beoordeeld binnen de context van de klinische presentatie, morfologie en andere histopathologische criteria. De klinische interpretatie van elke positieve of negatieve kleuring moet worden aangevuld met morfologisch onderzoek waarbij gebruik wordt gemaakt

van de juiste positieve en negatieve interne en externe controles, evenals andere diagnostische tests. Het is de verantwoordelijkheid van een gekwalificeerde patholoog die bekend is met het juiste gebruik van IHC-antilichamen, reagentia en methoden om alle stappen te interpreteren die worden gebruikt om het uiteindelijke IHC-preparaat voor te bereiden en te interpreteren.

6. De optimale antilichaamverduunning en protocollen voor een specifieke toepassing kunnen variëren. Deze omvatten, maar zijn niet beperkt tot, de fixatie, de warmtewinningsmethode, de incubatietijden, de dikte van de weefselsectie en de gebruikte detectiekiet. Vanwege de superieure gevoeligheid van deze unieke reagentia zijn de vermelde aanbevolen incubatietijden en titers niet van toepassing op andere detectiesystemen, omdat de resultaten kunnen variëren. De aanbevelingen en protocollen in het gegevensblad zijn gebaseerd op exclusief gebruik van Biocare-producten. Uiteindelijk is het de verantwoordelijkheid van de onderzoeker om optimale omstandigheden te bepalen.
7. Dit product is niet bedoeld voor gebruik bij flowcytometrie. Prestatiekenmerken zijn niet bepaald voor flowcytometrie.
8. Weefsels van personen die zijn geïnfecteerd met het hepatitis B-virus en die hepatitis B-oppervlakteantigeen (HBsAg) bevatten, kunnen niet-specifieke kleuring vertonen met mierikswortelperoxidase.¹³
9. Reagentia kunnen onverwachte reacties vertonen in niet eerder geteste weefsels. De mogelijkheid van onverwachte reacties, zelfs in geteste weefselgroepen, kan niet volledig worden uitgesloten vanwege de biologische variabiliteit van antigeenexpressie in neoplasmata of andere pathologische weefsels.¹⁴ Neem contact op met de technische ondersteuning van Biocare op 1-800-542-2002, of via de technische ondersteuningsinformatie op biocare.net, met gedocumenteerde onverwachte reactie(s).
10. Normale/niet-immune sera uit dezelfde dierlijke bron als secundaire antisera die bij blokkeringsstappen worden gebruikt, kunnen vals-negatieve of vals-positieve resultaten veroorzaken als gevolg van auto-antilichamen of natuurlijke antilichamen.
11. Er kunnen vals-positieve resultaten optreden als gevolg van niet-immunologische binding van eiwitten of substraatreactieproducten. Ze kunnen ook worden veroorzaakt door pseudo-peroxidase-activiteit (erythrocyten), endogene peroxidase-activiteit (cytochrom C) of endogene biotine (bijv. Lever, borst, hersenen, nier), afhankelijk van het gebruikte type immunokleuring.¹²

Productspecifieke beperkingen:

Er zijn geen aanvullende beperkingen bekend.

Prestatiekenmerken:

Gevoeligheid, specificiteit en kruisreactiviteit zijn respectievelijk samengevat in Tabellen 1 en 2.

Reproduceerbaarheid:

De reproduceerbaarheid van de antilichaamprestaties werd geverifieerd door het testen van geselecteerd normaal weefsel en tumorweefsel op verschillende dagen en verschillende instrumenten met meerdere operators. De kleuring van de geselecteerde weefsels was consistent en werd uitgevoerd zoals verwacht.

De reproduceerbaarheid van de kleuring binnen een run werd bepaald door vijf weefsels die hetzelfde weefsel bevatten, op meerdere instrumenten te kleuren.

De reproduceerbaarheid van de kleuring tussen runs werd bepaald door het kleuren van vijf objectglaasjes met hetzelfde weefsel gedurende drie dagen/runs op hetzelfde instrument. Alle tests zijn geslaagd met dezelfde scores, zoals gedefinieerd door de interne scorerichtlijnen van Biocare.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Dutch

BIOCARE
M E D I C A L

Immunoreactiviteit:

De volgende positieve en negatieve immunoreactiviteiten zijn aangetoond in de onderstaande tabellen 1 en 2.

De onderstaande lijst is niet uitputtend, maar karakteriseert de soorten immunoreactiviteiten die worden waargenomen met het aangegeven antilichaam.

Samenvatting van verwachte resultaten:

Dit antilichaam bleek immuunreactief te zijn met alle soorten weefsels waarop het werd getest, inclusief alle soorten lymfomen en normaal menselijk weefsel. De kleuring is overwegend vliezig, maar kan ook cytoplasmatisch lijken in monsters met hoge expressie. Kleuring komt voornamelijk voor in endotheelcellen en lymfocyten, maar komt in sommige weefsels minder vaak voor in epitheelcellen.

Dubbele punt	3	3
Lever	3	3
Speekselklier	3	3
Nier	3	3
Prostaat	3	3
Baarmoeder	3	3
Baarmoederhals	3	3
Skeletachtige spier	2	3
Huid	2	2
Perifere zenuw	3	3
Voerende cellen	2	2
Oog	3	3
Strottenhoofd	3	3

Tafel 1: Gevoeligheid en specificiteit werden bepaald door het testen van in formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde zieke weefsels.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Tafel 2: De kruisreactiviteit van het weefsel werd bepaald door het testen van in formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde normale weefsels.

Zakdoek	Positieve gevallen	Totaal aantal gevallen
Hersenen	5	6
Cerebellum	3	3
Bijnier	3	3
Eierstok	2	3
Alveesklier	3	3
Lymfeklier	3	3
Luchtpijp	3	3
Testis	5	5
Schildklier	3	3
Borst	2	2
Milt	4	4
Tonsil	3	3
Thymus	3	3
Beenmerg	3	3
Long	3	3
Hart	3	3
Slokdarm	3	3
Maag	2	3
Dunne darm	3	3

Probleemoplossen:

1. Geen kleuring van objectglaasjes – Controleer of er geschikt positief controleweefsel, antilichaam en detectieproducten zijn gebruikt.
2. Zwakke kleuring van alle objectglaasjes – Controleer of er geschikt positief controleweefsel, antilichaam en detectieproducten zijn gebruikt.
3. Overmatige achtergrond van alle objectglaasjes – Er kunnen hoge niveaus van endogeen biotine zijn (bij gebruik van op biotine gebaseerde detectieproducten), endogene HRP-activiteit die chromogeen omzet in gekleurd eindproduct (gebruik peroxidaseblok) of overmatige niet-specifieke eiwitinteractie (gebruik een eiwit blok, zoals een blokkeeroplossing op basis van serum of caseïne).
4. Weefselcoupes worden tijdens de incubatie van de objectglaasjes gewassen – Controleer de objectglaasjes om er zeker van te zijn dat ze positief geladen zijn.
5. Specifieke kleuring te donker – Controleer het protocol om te bepalen of de juiste antilichaamtiter op het objectglaasje is aangebracht, evenals de juiste incubatietijden voor alle reagentia. Zorg er bovendien voor dat het protocol voldoende wasstappen heeft om overtollige reagentia te verwijderen nadat de incubatiestappen zijn voltooid.

Referenties:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. <http://www.cap.org> (800) 323-4040.
10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Dutch

BIOCARE
M E D I C A L

11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. *Histochemistry* 1987; 86:471-478.
12. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. *Lab Med* 1983; 14:767.
13. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *AmJ Clin Path* 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.
15. Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. *Curr Opin Immunol.* 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. *J Immunol.* 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Ultraline-antilichamen zijn uitsluitend ontwikkeld door Biocare Medical LLC en impliceren geen goedkeuring of goedkeuring van Biocare-antilichamen door Ventana Medical Systems, Inc of Roche. Biocare, Ventana en Roche zijn op geen enkele manier verbonden, geassocieerd of gerelateerd. Ventana®, BenchMark®, ultraView en OptiView zijn handelsmerken van Roche.

Antilichamen uit de Q-serie zijn uitsluitend ontwikkeld door Biocare Medical LLC en impliceren geen goedkeuring of goedkeuring van Biocare-antilichamen door Leica Biosystems. Biocare en Leica Biosystems zijn op geen enkele manier geaffilieerd, geassocieerd of gerelateerd. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX en BOND-III zijn handelsmerken van Leica Biosystems.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Estonian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Mõeldud kasutamiseks:

Sest *in vitro* Diagnostiline kasutamine

HLA-B [BC43] on hiire monoklonaalne antikeha, mis on ette nähtud laboratoorseks kasutamiseks pärast seda, kui kasvaja esmane diagnoos on tehtud tavapärase histopatoloogilise meetodiga, kasutades HLA-B kvalitatiivseks tuvastamiseks mitteimmunoloogilisi histokeemilisi plekke. Valk immunohistokeemia (IHC) abil formaliiniga fikseeritud parafiiniga manustatud (FFPE) inimese kudedes. Mis tahes värvimise või selle puudumise kliinilist tõlgendamist peaksid täiendama morfoloogilised uuringud, milles kasutatakse nõuetekohast kontrolli, ning kvalifitseeritud patoloog peaks seda hindama patsiendi kliinilise ajaloo ja muude diagnostiliste testide kontekstis, et aidata teha muid kliinilisi määramisi.

Kokkuvõte ja selgitus:

HLA-B on ülimalt polümorfne valku kodeeriv geen, mis kodeerib peamist histoiühilduvusklassi I (MHC-I) kompleksi.¹⁵ MHC I klassi molekulid ekspresseeritakse rakupinnal, sidudes ja esitledes antigeenseid peptiide CD8+ T-lümfotsüütidele, et vahendada immuunvastuseid rakusiseste patogeenide ja vähkkasvajate vastu.¹⁶

Menetluse põhimõte:

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

Materjalid ja meetodid:

Kaasasolevad reaktiivid:

Hosti allikas: Hiir monoklonaalne

Liigi reaktsioonivõime: Inimene; muud liigid, mida ei ole testitud.

Kloonimine: eKr 43

Isotüüp: IgG1 kappa

Valgu kontsentratsioon: Partiiipõhise kontsentratsiooni kohta vaadake viaali etiketti.

Konkreetne IgG kontsentratsioon: võtke ühendust Biocare'i tehnilise toega

Spetsiifilisus: HLA-B

Mobiilne lokaliseerimine: Rakumembraan

Meetod: Afiinsupuhastatud hiire monoklonaalne

Lahustamine, segamine, lahjendamine, tiitrimine:

Eellahjendatud antikehareaktiiv on ülaltoodud värvimissüsteemidega kasutamiseks optimaalselt lahjendatud. Edasine lahjendamine võib põhjustada antigeeni värvumise kadumise. Edasine lahjendamine võib põhjustada antigeeni värvumise kadumise. Kasutaja peab kõik sellised

muudatused kinnitama. Erinevused kudede töötlemises ja tehnilistes protseduurides kasutaja laboris võivad tulemused olla märkimisväärsed, mistõttu on vaja regulaarselt läbi viia ettevõttesisesed kontrollid (vt jaotist Kvaliteedikontroll). Kontsenteeritud reaktiiv vajab lahjendamist, nagu on näidatud ülaltoodud tabelis.

Tuntud rakendused:

Immunohistokeemia (formaliiniga fikseeritud parafiiniga kaetud koed)

Tarnitakse järgmiselt: Puhverdatud soolalahus, 5,9–7,4, mis sisaldab valgukandjat ja vähem kui 0,1% naatriumasiidi säilitusainet. Lisateabe saamiseks vaadake ohutuskaarti.

Vajalikud materjalid ja reaktiivid, mida pole kaasas:

Mikroskoobi slaidid on positiivselt laetud.
Positiivsed ja negatiivsed koekontrollid
Desert Chamber (või sarnane kuivatusahi)
Ksüleen või ksüleeni asendaja
Etanool või reaktiivalkohol
Deklaratsioonikamber (survepliit)
Deioniseeritud või destilleeritud vesi
Pesupuhver
Eeltötlusreaktiivid
Peroksidaasi blokaad
Valguplokk (valikuline)
Tuvastussond ja polümeer
Negatiivsed kontrollreaktiivid
Kromogeenid
Hematoküliin (vastuvärv)
Sinistamise reaktiiv
Paigaldusvahend
Katteklaas
Valgusmikroskoop (40-400X suurendus)
*Antikehatoote konfiguratsioonid on saadaval kasutamiseks ülaltoodud tabelis näidatud instrumentidel.

Säilitamine ja stabiilsus:

Hoida temperatuuril 2°C kuni 8°C. Toode on sellistes tingimustes säilitamisel stabiilne kuni viaali etiketile trükitud aegumiskuupäevani. Ärge kasutage pärast aegumiskuupäeva. Säilitamist muudes tingimustes kui ette nähtud tuleb kontrollida. Lahjendatud reaktiivid tuleb kohe ära kasutada; Hoidke järelejäänud reaktiivi temperatuuril 2 °C kuni 8 °C. Biocare ei ole kindlaks teinud kasutaja lahjendatud reaktiivi stabiilsust.

Positiivsed ja negatiivsed kontrollid tuleb läbi viia samaaegselt kõigi patsiendi proovidega. Kui täheldatakse ootamatut värvimist, mida ei saa seletada erinevustega laboratoorses protseduurides, ja kahtlustate probleemi antikehaga, võtke ühendust Biocare'i tehnilise toega numbril 1-800-542-2002 või veebisaidil biocare.net pakutava tehnilise toe teabe kaudu.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

43/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Estonian

BIOCARE
M E D I C A L

Proovi ettevalmistamine:

Formaliinis fikseeritud koed sobivad kasutamiseks enne parafiini manustamist. Luukuded tuleb enne kudede töötlemist katlakivi eemaldada, et hõlbustada kudede lõikamist ja vältida mikrotoomi labade kahjustamist.^{1,2}

Korralikult fikseeritud ja sisestatud kudesid, mis ekspresseerivad määratud sihtmärkantigeeni, tuleb hoida jahedas. 1988. aasta Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) nõuab 42 CFR-i §493.1259(b), et „Labor peab säilitama värvitud objektiklaase vähemalt kümme aastat alates uurige ja säilitage prooviplokid vähemalt kaks aastat alates uurimise kuupäevast.“³

Kudede töötlemine enne värvimist:

Tehke kuumuse põhjustatud epitoopide otsimine (HIER) vastavalt allolevale soovitatud protokollile. On näidatud, et HIER-i rutiinne kasutamine enne IHC-d vähendab ebakõlasid ja standardiseerib värvimist.^{4,5}

Hoiatus ja ettevaatusabinõud:

- See antikeha sisaldab vähem kui 0,1% naatriumasiidi. Alla 0,1% kontsentratsioonid ei ole USA standardi 29 CFR 1910.1200, OSHA ohuteate ja EÜ direktiivi 91/155/EÜ kohaselt ohtlikud materjalid. Naatriumasiid (NaN₃) säilitusainena kasutatav on allaneelamisel mürgine. Naatriumasiid võib reageerida plii ja vase torustikuga, moodustades väga plahvatusohtlikke metalliisiide. Utiliseerimisel loputage suure koguse veega, et vältida asiidi kogunemist torustikku. (Haiguste tõrje keskus, 1976, riiklik tööohutuse ja töötervishoiu instituut, 1976)⁶
- Proove enne ja pärast fikseerimist ning kõiki nendega kokkupuutuvaid materjale tuleb käsitseda nii, nagu need oleksid võimalised nakkust edasi kandma, ja kõrvaldada asjakohaste ettevaatusabinõudega. Ärge kunagi pipeteerige reaktiive suu kaudu ning vältige reaktiivide ja proovidega kokkupuudet naha ja limaskestadega. Kui reaktiivid või proovid puutuvad kokku tundlike piirkondadega, peske neid rohke veega.⁷
- Reaktiivide mikroobne saastumine võib põhjustada mittespetsiifilise värvumise suurenemist.
- Määratletust erinevad inkubatsiooniajad või temperatuurid võivad anda ekslikke tulemusi. Kasutaja peab kõik sellised muudatused kinnitama.
- Ärge kasutage reaktiivi pärast viaalile trükitud kõlblikkusaega.
- Eellahjendatud antikehareaktiiv on kasutamiseks optimaalselt lahjendatud. Edasine lahjendamine võib põhjustada antigeeni värvumise kadumise.
- Kontsentreeritud antikehareagendi lahjendamine tuleb enne kasutamist valideerida. Kõik kasutatavad lahjendid, mida ei ole spetsiaalselt soovitatavad, tuleb samuti ühilduvuse ja stabiilsuse osas valideerida.
- Ohutuskart on saadaval nõudmisel ja asub aadressil <http://biocare.net>.

Kasutusjuhend:

HLA-B [BC43] soovitatavad värvimisprotokollid:

IntelliPATH FLX ja käsitsi kasutamine:

API3289 IntelliPATH FLX ja käsitsi kasutamiseks on standarditud MACH 4-ga tuvastussüsteem. Kasutage pesemistappideks TBS-i.	
Peroxide Block:	Blokeerige 5 minutit Peroxidized 1-ga.
Pretreatment:	Tehke soojuse otsimine, kasutades Reveal Decloakerit. Täpsemate juhiste saamiseks vaadake Reveal Decloakeri andmelehte.
Protein Block (Optional):	Inkubeerige 5-10 minutit toatemperatuuril Background Punisheriga.
Primary Antibody:	Inkubeerige 30 minutit toatemperatuuril.
Detection:	Sond: inkubeerida 10 minutit toatemperatuuril sekundaarse polümeeriga.
	Polümeer: inkubeerida 20 minutit toatemperatuuril tertsiaarse polümeeriga.

Chromogen:	Inkubeerige 5 minutit toatemperatuuril Biocare'i DAB-ga – VÕI – Inkubeerige 5–7 minutit toatemperatuuril Warp Rediga.
Counterstain:	Vastuvärvimine hematoksüliiniga. Loputage deioniseeritud veega. Kandke 1 minutiks Tacha sinistamislahust. Loputage deioniseeritud veega.

ONCORE Pro automaatne slaidvärvimissüsteem:

OPAI3289 on mõeldud kasutamiseks koos ONCORE Proga. Täpsemad kasutusjuhised leiata kasutusjuhendist. Protokollid parameetrid protokolliredaktoris tuleks programmeerida järgmiselt.	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Ms HRP mall 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, madal pH; 101 °C
Block Option:	Puhver
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 min, 25 °C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3289 on mõeldud kasutamiseks koos BenchMark ULTRAg. Täpsemad kasutusjuhised leiata kasutusjuhendist. Soovitatavad protokollid parameetrid on järgmised:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minutit
Peroxidase:	Pre-primaarne peroksidaasi inhibiitor
Primary Antibody:	8 minutit, 36 °C

Q-seeria – Leica BOND-III jaoks:

ALI3289 on ette nähtud kasutamiseks koos Leica BOND-III-ga. Täpsemad kasutusjuhised leiata kasutusjuhendist. Soovitatavad protokollid parameetrid on järgmised:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	IHC protokoll F
Detection:	Bond Polymer Refine
HIER:	10 min ER1-ga
Peroxide Block:	5 min
Marker (Primary Antibody):	15 min
Post Primary:	8 min
Polymer:	8 min
Mixed Chromogen Refine:	10 min
Hematoxylin:	5 min

Kvaliteedi kontroll:

Vaadake CLSI kvaliteedistandardeid immunohistokeemiliste analüüside kavandamiseks ja rakendamiseks; Heakskiidetud juhiste teine väljaanne (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011. aastal⁸

Positiivne koekontroll: Tonsil

Välised positiivsed kontrollmaterjalid peaksid olema värsked proovid, mis on fikseeritud, töödeldud ja sisestatud võimalikult kiiresti samamoodi nagu patsiendi proov(id). Positiivsed koekontrollid näitavad õigesti ettevalmistatud

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Estonian

BIOCARE
M E D I C A L

kudesid ja õigeid värvimistehnikaid. Igasse värvimistsükklisse tuleks lisada üks positiivne väline koekontroll iga katsetingimuste komplekti kohta.

Välise positiivsete kontrollmaterjalide jaoks kasutatavad koed tuleks valida patsiendi proovidest, millel on hästi iseloomustatud madal positiivse sihtaktiivsuse tase, mis annab nõrga positiivse värvumise. Välise positiivsete kontrollide madal positiivsus tase on loodud selleks, et tagada ebastabiilsusest või IHC metoodikaga seotud probleemidest tingitud väikeste muutuste tuvastamine primaarse antikeha tundlikkuses. Kaubanduslikult saadavad koekontrolli objektiklaasid või patsiendi proovidest erinevalt töödeldud proovid kinnitavad ainult reaktiivi toimivust ega kontrolli koe ettevalmistamist.

Teadaolevaid positiivseid koekontrolle tuleks kasutada ainult töödeldud kudede ja testreaktiivide õige toimimise jälgimiseks, mitte abivahendina patsiendi proovide spetsiifilise diagnoosi koostamisel. Kui positiivsed koekontrollid ei näita positiivset värvumist, tuleks analüüsivate proovide tulemused lugeda kehtetuks.

Negatiivsete kudede kontroll:

Kasutage igas värvimistsükklis negatiivset koekontrolli (teadaolevalt HLA-B negatiivne), mis on fikseeritud, töödeldud ja manustatud patsiendi proovi(de)ga identsel viisil, et kontrollida IHC primaarse antikeha spetsiifilisust. sihtantigeeni demonstreerimine ja spetsiifilise taustavärvimise indikaator (valepositiivne värvimine). Samuti võivad enamikus koeosades esinevad erinevad rakutüübid labori poolt kasutada sisemiste negatiivsete kontrollikohtadena, et kontrollida IHC toimivust spetsifikatsioonid. Negatiivse koe jaoks kasutatavate proovide tüübid ja allikad juhtelemendid on loetletud jaotises Toimivusnäitajad.

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

Mittespetsiifiline negatiivse reaktiivi kontroll:

Kasutage primaarse antikeha asemel mittespetsiifilist negatiivset reagendi kontrolli koos iga patsiendi proovi osaga, et hinnata mittespetsiifilist värvimist ja võimaldavad paremini tõlgendada spetsiifilist värvumist antigeeni saidil. Ideaalis sisaldab negatiivne reaktiivi kontroll HLA-B [BC43] IgG1 Kappa antikeha, mis on toodetud koekultuuri supernatandist samamoodi nagu primaarne antikeha, kuid sellel ei ole spetsiifilist reaktsioonivõimet inimese kudede samas matriksis/lahuses Biocare antikehad. Lahjendage negatiivne kontrollantikeha sama immunoglobuliini või valgu kontsentratsioonini kui lahjendatud primaarne antikeha, kasutades identset lahjendit. Kui vasika loote seerum jääb pärast töötlemist puhtas antikehas alles, siis vasika loote seerumit valgukontsentratsiooniga, mis on samaväärne lahjendatud kontsentratsiooniga. kasutamiseks sobib ka primaarne antikeha samas lahjendis. (Vt kaasasolevat reaktiivi). Ainuüksi lahjendit võib kasutada vähem soovitava alternatiivina eelnevalt kirjeldatud negatiivsete reaktiivide kontrollidele. Negatiivse reaktiivi kontrolli inkubatsiooniperiood peaks vastama primaarse antikeha inkubatsiooniperioodile.

Kui seerialõikudel kasutatakse mitme antikeha paneele, võivad ühe objektiklaasi negatiivselt värvunud alad toimida negatiivse/mittespetsiifilise seondumise taustakontrollina teiste antikehade jaoks. Endogeense ensüümi aktiivsuse või ensüümide mittespetsiifilise seondumise eristamiseks spetsiifilisest immunoreaktiivsusest võib täiendavalt patsiendi kudesid värvida ainult substraat-kromogeeni või ensüümi kompleksidega (PAP, avidiin-biotiin, streptavidiin) ja substraat-kromogeeni.

Testi kinnitamine:

Enne antikeha või värvimissüsteemi esmakordset kasutamist diagnostilises protseduuris peaks kasutaja kontrollima antikeha spetsiifilisust, testides seda mitmel ettevõttesisesel kudedel, millel on teadaolevad immunohistokeemilised omadused, mis esindavad teadaolevaid positiivseid ja negatiivseid kudesid. Vaadake eelnevalt selles tootelehe jaotises kirjeldatud kvaliteedikontrolli protseduure ja CAP sertifitseerimisprogrammi kvaliteedikontrolli soovitusi. immunohistokeemia ja/või NCCLS IHC juhiste jaoks[®]). Neid kvaliteedikontrolli protseduure tuleks korrata iga uue antikehapartii puhul või alati, kui analüüsiparameetrid muutuvad. Katse kontrollimiseks sobivad toimivusnäitajate jaotises loetletud koed.

Veotsing:

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

Värvimise tõlgendamine:

Positiivne koekontroll:

Näidatud antikehaga värvitud positiivset koekontrolli tuleks esmalt uurida, et teha kindlaks, kas kõik reaktiivid töötavad korralikult. Sihtrakkude sobiv värvimine (nagu ülalpool näidatud) näitab positiivset reaktsioonivõimet. Kui positiivsed koekontrollid ei näita positiivset värvumist, tuleks katseproovide tulemused lugeda kehtetuks. Reaktsiooniproducti värvus võib varieeruda sõltuvalt kasutatud substraadi kromogeenidest. Oodatavate värvireaktsioonide kohta vaadake aluspinna pakendi infolehti. Lisaks võib metakromaasiat täheldada värvimismeetodi variatsioonides.¹¹

Kui kasutatakse vastuvärvi, olenevalt kasutatud vastuvärvi inkubatsiooni pikkusest ja tõhususest, põhjustab vastuvärvimine raku tuumade värvuse. Liigne või mittetäielik vastuvärvimine võib kahjustada tulemuste õiget tõlgendamist. Soovitatud vastuvärvimise kohta vaadake protokoll/protokollis.

Negatiivsete kudede kontroll:

Negatiivset koekontrolli tuleks uurida pärast positiivset koekontrolli, et kontrollida sihtantigeeni märgistamise spetsiifilisust primaarse antikehaga. Spetsiifilise värvumise puudumine negatiivses koekontrollis kinnitab antikehade ristreaktiivsuse puudumist rakkude/rakukomponentide suhtes. Kui negatiivse väliskoe kontrolli korral ilmneb spetsiifiline värvumine (valepositiivne värvumine), tuleb patsiendi proovi tulemusi lugeda kehtetuks.

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

Patsiendi kude:

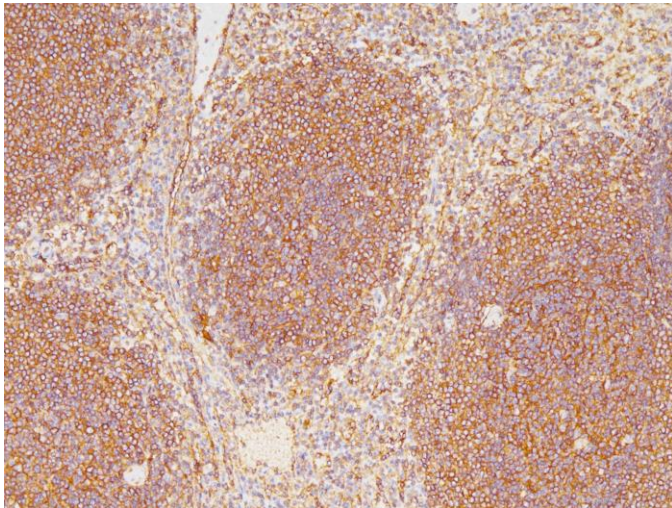
Uurige näidatud antikehaga värvitud patsiendi proove viimane. Positiivset värvimise intensiivsust tuleks hinnata negatiivse reaktiivi kontrolli mis tahes mittespetsiifilise taustavärvimise kontekstis. Nagu iga immunohistokeemilise testi puhul, tähendab negatiivne tulemus seda, et antigeeni ei tuvastatud,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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Estonian

BIOCARE
M E D I C A L



HLA-B [BC43] antikehaga värvitud põrn

Täpsemat teavet näidatud antikehade immunoreaktiivsuse kohta leiate jaotisest Kokkuvõte ja selgitus, Piirangud ja Toimivusomadused.

Piirangud:

Üldised piirangud:

1. Sest *in vitro* diagnostika kasutamine
2. See toode on mõeldud ainult professionaalseks kasutamiseks: Immunohistokeemia on mitmeastmeline diagnostiline protsess, mis koosneb sobivate reaktiivide valimise erikoolitusest; kudedele valik, fikseerimine ja töötlemine; IHC slaidi ettevalmistamine; ja värvimistulemuste tõlgendamine.
3. Kudedele värvimine sõltub koe käsitsemisest ja töötlemisest enne värvimist. Ebaõige fikseerimine, külmutamine, sulatamine, pesemine, kuivatamine, kuumutamine, lõikamine või saastumine teiste kudedele või vedelikega võib põhjustada artefakte, antikehade kinnijäämist või valenegatiivseid tulemusi. Ebajärjekindlad tulemused võivad olla tingitud fikseerimis- ja kinnistamismeetodite erinevustest või koe omastest ebakorrapärasustest.¹²
4. Liigne või mittetäielik vastuvärvimine võib kahjustada tulemuste õiget tõlgendamist.
5. Iga positiivse või negatiivse värvumise kliinilist tõlgendust tuleks hinnata kliinilise pildi, morfoloogia ja muude histopatoloogiliste kriteeriumide kontekstis. Positiivse või negatiivse värvumise kliinilist tõlgendamist tuleks täiendada morfoloogiliste uuringutega, milles kasutatakse nõuetekohast positiivset ja negatiivset sise- ja väliskontrolli ning muid diagnostilisi teste. Kvalifitseeritud patoloog, kes tunneb IHC antikehade, reaktiivide ja meetodite õiget kasutamist, vastutab kõigi IHC lõpliku preparaadi ettevalmistamiseks ja tõlgendamiseks kasutatud etappide tõlgendamise eest.
6. Antikehade optimaalne lahendus ja konkreetse rakenduse protokollid võivad erineda. Nende hulka kuuluvad (kuid mitte ainult) fikseerimine, kuumuse taastamise meetod, inkubatsiooniajad, koelõike paksus ja kasutatud tuvastamiskomplekt. Nende ainulaadsete reaktiivide ülima tundlikkuse tõttu ei ole loetletud soovitatavad inkubatsiooniajad ja tiitrid muude tuvastamissüsteemide puhul kohaldatavad, kuna tulemused võivad erineda. Andmelehe soovitusel ja protokollid põhinevad ainult Biocare toodete kasutamisel. Lõppkokkuvõttes vastutab uurija optimaalsete tingimuste kindlaksmääramise eest.
7. See toode ei ole ette nähtud kasutamiseks voolutsütomeetrias. Voolutsütomeetria jõudlusnäitajaid ei ole määratud.

8. B-hepatiidi viirusega nakatunud ja B-hepatiidi pinnaantigeeni (HBsAg) sisaldavate inimeste kudedel võib ilmuda mädarõika peroksüdaasiga mittespetsiifiline värvumine.¹³
9. Reaktiivid võivad avaldada ootamatuid reaktsioone varem testimata kudedes. Ootamatute reaktsioonide võimalust isegi testitud koerühmades ei saa täielikult välistada antigeeni ekspressiooni bioloogilise varieeruvuse tõttu kasvajates või muudes patoloogilistes kudedes.¹⁴ Dokumenteeritud ootamatu(te) reaktsiooni(de)ga võtke ühendust Biocare'i tehnilise toeaga numbril 1-800-542-2002 või veebisaidil biocare.net pakutava tehnilise toe teabe kaudu.
10. Normaalsed/mitteimmuunsed seerumid, mis pärinevad samast loomsest allikast kui blokeerimisetappides kasutatavad sekundaarsed antiseerumid, võivad autoantikehade või looduslike antikehade tõttu põhjustada valenegatiivseid või valepositiivseid tulemusi.
11. Valepositiivseid tulemusi võib näha valkude või substraadi reaktsiooniproduktide mitteimmunoloogilise seondumise tõttu. Need võivad olla põhjustatud ka pseudoperoksüdaasi aktiivsusest (erütrotsüüdid), endogeense peroksüdaasi aktiivsusest (tsütokroom C) või endogeensest biotiinist (nt maks, rind, aju, neer), olenevalt kasutatavast immunovärvi tüübist.¹²

Tootepõhised piirangud:

Täiendavaid piiranguid ei ole teada.

Jõudlusnäitajad:

Tundlikkus, spetsiifilisus ja ristreaktiivsus on kokku võetud vastavalt tabelites 1 ja 2.

Reprodutseeritavus:

Antikehade toimivuse reprodutseeritavust kontrolliti, testides valitud normaalset ja kasvajakudet erinevatel päevadel ja erinevatel instrumentidel mitme operaatoriga. Valitud kudedele värvimine oli järjepidev ja viidi läbi ootuspäraselt.

Värvimise tsükliline reprodutseeritavus määrati viie sama koe sisaldava koe värvimisega mitmel instrumentil.

Värvimise katsetevaheline reprodutseeritavus määrati viie sama koe sisaldava slaidi värvimisega kolmel päeval/käivitades samal instrumentil. Kõik testid läbisid samade skooridega, nagu on määratletud Biocare'i sisemiste punktide määramise juhistega.

Immunoreaktiivsus:

Tabelites 1 ja 2 on näidatud järgmised positiivsed ja negatiivsed immunoreaktiivsused.

Allpool esitatud loetelu ei ole ammendav, vaid iseloomustab näidatud antikehaga täheldatud immunoreaktiivsuse tüüpe.

Oodatavate tulemuste kokkuvõte:

Leiti, et see antikeha on immunoreaktiivne igat tüüpi kudedega, milles seda testiti, sealhulgas igat tüüpi lümfoomide ja normaalsete inimkudedega suhtes. Värvumine on valdavalt membraanne, kuid võib kõrge ekspressiooniga proovides tunduda ka tsütoplasmaatiline. Värvumine esineb valdavalt endoteelirakkudes ja lümfootsüütides, epiteelirakkudes mõnes koes vähem.

Tabel 1: Tundlikkus ja spetsiifilisus määrati formaliiniga fikseeritud, parafiiniga manustatud haigete kudedele testimise teel.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Estonian

BIOCARE
M E D I C A L

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Tabel 2: Kudede ristreaktiivsus määrati formaliiniga fikseeritud, parafiiniga manustatud normaalsete kudede testimise teel.

Pabertaskurätik	Positiivsed juhtumid	Juhtumeid kokku
Suuraju	5	6
Väikeaju	3	3
Neerupealised	3	3
Munasarja	2	3
Pankreas	3	3
Lümfisõlm	3	3
Hingetoru	3	3
Munand	5	5
Kilpnääre	3	3
Rind	2	2
Põrn	4	4
Tonsil	3	3
Harknääre	3	3
Luuüdi	3	3
Kops	3	3
Süda	3	3
Söögitoru	3	3
Kõht	2	3
Peensoolde	3	3
Käärsool	3	3
Maks	3	3
Süljenääre	3	3
Neer	3	3
Eesnääre	3	3
Emakas	3	3
Emakakael	3	3
Skeletilihased	2	3
Nahk	2	2
Perifeerne närv	3	3
Vooderdavad rakud	2	2
Silm	3	3
Kõri	3	3

Veotsing:

- Objektiklaasid ei värvunud – Kontrollige, kas on kasutatud sobivat positiivset kontrollkudet, antikeha ja tuvastamisprodukte.
- Kõigi objektiklaaside nõrk värvumine – Kontrollige, kas on kasutatud sobivat positiivset kontrollkudet, antikeha ja tuvastamistooteid.

- Kõigi slaidide liigne taust – võib esineda kõrge endogeense biotiini tase (kui kasutate biotiinipõhiseid tuvastamistooteid), endogeenset HRP aktiivsust, mis muudab kromogeeni värviliseks lõpptooteks (kasutage peroksidaasi plokki), või võib esineda liigne mittespetsiifiline valgu interaktsioon (kasutage valku). blokk, nagu seerumi- või kaseiinipõhine blokeeriv lahus).
- Koesad pesevad slaididel inkubeerimise ajal maha – Kontrollige slaidide, et veenduda, et need on positiivselt laetud.
- Spetsiifiline värvumine on liiga tume – kontrollige protokollid, et teha kindlaks, kas objektiklaasile on rakendatud õige antikehade tiiter, samuti kõigi reaktiivide õiged inkubatsiooniajad. Lisaks veenduge, et protokollis on piisavalt pesemisetappe, et eemaldada pärast inkubatsioonietappide lõppu liigsed reaktiivid.

Viited:

- Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
- Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
- Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
- Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
- Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
- Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
- CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
- College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. <http://www.cap.org> (800) 323-4040.
- O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
- Koretz K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
- Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
- Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Path 1980; 73:626.
- Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
- Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. Curr Opin Immunol. 2020 Jun;64:137-145.
- Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. J Immunol. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Ultraline antikehad on välja töötanud ainult Biocare Medical LLC ja see ei tähenda, et Ventana Medical Systems, Inc või Roche on Biocare'i antikehadele heaks kiitnud või kinnitanud. Biocare, Ventana ja Roche ei ole mingil viisil seotud, seotud ega seotud. Ventana®, BenchMark®, ultraView ja OptiView on Roche kaubamärgid.

Q-seeria antikehad on välja töötanud ainult Biocare Medical LLC ja need ei tähenda, et Leica Biosystems on Biocare'i antikehadele heaks kiitnud või heaks kiitnud. Biocare ja Leica Biosystems ei ole mingil viisil seotud, seotud ega seotud. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX ja BOND-III on Leica Biosystems'i kaubamärgid.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

47/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Finnish

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Käyttötarkoitus:

varten *in vitro* Diagnostinen käyttö

HLA-B [BC43] on hiiren monoklonaalinen vasta-aine, joka on tarkoitettu laboratoriotuotteen sen jälkeen, kun kasvaimen alkuperäinen diagnoosi on tehty tavanomaisella histopatologialla käyttäen ei-immunologisia histokemiallisia värjäyksiä HLA-B:n kvalitatiivisessa tunnistamisessa. proteiini immunohistokemialla (IHC) formaliinilla kiinnitetyissä parafiiniin upotetuissa (FFPE) ihmiskudosissa. Kaikkien värjäytymien tai sen puuttumisen kliinistä tulkintaa tulisi täydentää morfologisilla tutkimuksilla, joissa käytetään asianmukaisia kontroleja, ja pätevän patologin tulee arvioida potilaan kliinisen historian ja muiden diagnostisten testien yhteydessä muiden kliinisten määritelmien avuksi.

Yhteenvedo ja selitys:

HLA-B on erittäin polymorfinen proteiinia koodaava geeni pääasiallisen histokompatibiliteettiluokan I (MHC-I) kompleksille.¹⁵ MHC-luokan I molekyylit ekspressoituvat solun pinnalla, sitovat ja esittelevät antigeenisä peptidejä CD8+ T-lymfosyyteille välittämään immuunivasteita solunsisäisiä patogeeneja ja syöpiä vastaan.¹⁶

Menettelyn periaate:

Tätä vasta-ainetuotetta voidaan käyttää ensisijaisena vasta-aineena formaliinilla kiinnitettyjen, parafiiniin upotettujen kudosteiden immunohistokemian testauksessa. Yleensä immunohistokemiallinen (IHC) värjäystekniikat mahdollistavat antigeenin visualisoinnin soveltamalla peräkkäin a spesifinen vasta-aine antigeenille (primaarinen vasta-aine), sekundaarinen vasta-aine primaariselle vasta-aineelle (valinnainen linkkivasta-aine/koetin), entsyymikompleksi ja kromogeeninen substraatti, jossa on pesuvaiheet. Kromogeenin entsyymaattinen aktivaatio johtaa näkyvään reaktiotuotteeseen antigeenikohdassa. Näyte voidaan sitten vastavärjätä ja kansi liu'uttaa. Tulokset tulkitaan valon avulla mikroskoopi ja apu patofysiologisten prosessien erotusdiagnoosissa, jotka voivat tai olla ei välttämättä liity tiettyyn antigeeniin.

Materiaalit ja menetelmät:

Mukana toimitetut reagenssit:

Isäntälähde: Hiiri monoklonaalinen

Lajien reaktiivisuus: Ihmisen; muita lajeja, joita ei ole testattu.

Klooni: BC43

Isotyyppi: IgG1 kappa

Proteiinipitoisuus: Katso eräkohtainen pitoisuus injektiopullon etiketistä.

Erityinen IgG-pitoisuus: Ota yhteyttä Biocaren tekniseen tukeen

Spesifisyys: HLA-B

Mobiililokalisointi: Solukalvo

Menetelmä: Affiniteettipuhdistettu hiiren monoklonaalinen

Liuottaminen, sekoitus, laimennus, titraus:

Esilaimennettu vasta-ainereagenssi on optimaalisesti laimennettu käytettäväksi yllä lueteltujen värjäysjärjestelmien kanssa. Lisälaimennus voi johtaa antigeenin värjäytymisen menetykseen. Lisälaimennus voi johtaa antigeenin värjäytymisen menetykseen. Käyttäjän on vahvistettava kaikki

tällaiset muutokset. Erot kudokäsittelyssä ja teknisissä menetelmissä käyttäjän laboratoriossa voi tuottaa merkittäviä vaihteluita tuloksissa, mikä edellyttää säännöllistä sisäistä valvontaa (katso Laadunvalvonta-osio). Väkevä reagenssi vaatii laimentamisen yllä olevan taulukon mukaisesti.

Tunnetut sovellukset:

Immunohistokemia (formaliinilla kiinnitetyt parafiiniin upotetut kudokset)

Toimitettu nimellä: Puskuroitu suolaliuos, 5,9–7,4, sisältää proteiinikantajaa ja alle 0,1 % natriumatsidia. Katso lisätietoja käyttöturvallisuustiedotteesta.

Tarvittavat materiaalit ja reagenssit, joita ei toimiteta:

Mikroskoopin objektilasit ovat positiivisesti varattuja.

Positiiviset ja negatiiviset kudokontrolit
Desert Chamber (tai vastaava kuivausuuni)

Ksyleeni tai ksyleenin korvike

Etanoli tai reagenssialkoholi

Peittokammio (painekeitin)

Deionisoitu tai tislattu vesi

Pesupuskuri

Esikäsittelyreagenssit

Peroksidaasin esto

Proteiiniblokki (valinnainen)

Tunnistin ja polymeeri

Negatiiviset kontrollireagenssit

Kromogeenit

Hematoksyliini (vastavärjäys)

Sinitysreagenssi

Asennusväline

Suojalasi

Valomikroskoopi (40-400X suurennus)

*Vasta-ainetuotteen konfiguraatiot ovat käytettävissä yllä olevassa taulukossa mainituissa instrumenteissa.

Varastointi ja vakaus:

Säilytä 2°C - 8°C. Tuote on stabiili injektiopullon etikettiin painettuun viimeiseen käyttöpäivään asti, kun sitä säilytetään näissä olosuhteissa. Älä käytä viimeisen käyttöpäivän jälkeen. Varastointi muissa kuin määritellyissä olosuhteissa on tarkistettava. Laimennetut reagenssit tulee käyttää viipymättä; Säilytä jäljellä oleva reagenssi 2–8 °C:ssa. Biocare ei ole vahvistanut käyttäjän laimennetun reagenssin stabiiliisuutta.

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

Näytteen valmistus:

Kudokset kiinnitetty formaliniin soveltuvat käytettäväksi ennen parafiiniin upottamista. Luukudokset tulee poistaa kalkki ennen kudosten käsittelyä

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

48/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Finnish

BIOCARE
M E D I C A L

kudoksen leikkaamisen helpottamiseksi ja mikrotomin terien vaurioitumisen estämiseksi.^{1,2}

Asianmukaisesti kiinnitetyt ja upotetut kudokset, jotka ilmentävät määritettyä antigeenikohdetta, tulee säilyttää viileässä paikassa. Vuoden 1988 Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) -laki edellyttää 42 CFR:ssä §493.1259(b), jonka mukaan "Laboratorion on säilytettävä värjätyt objektilasit vähintään kymmenen vuotta tutkia ja säilyttää näytekappaleet vähintään kaksi vuotta tutkimuspäivästä."³

Kudosten hoito ennen värjäystä:

Suorita Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) alla suositellun protokollan mukaisesti. HIER:n rutiinimaisen käytön ennen IHC:tä on osoitettu minimoivan epäkohdonmukaisuudet ja standardoivan värjäytymistä.^{4,5}

Varoitukset ja varoimet:

1. Tämä vasta-aine sisältää alle 0,1 % natriumatsidia. Alle 0,1 %:n pitoisuudet eivät ole raportoitavia vaarallisia aineita U.S. 29 CFR 1910.1200:n, OSHA Hazard communicationin ja EY:n direktiivin 91/155/EC mukaisesti. Natriumatsidi (NaN₃) säilöntäaineena käytettynä on myrkyllistä nieltynä. Natriumatsidi voi reagoida lyijy- ja kupariputkiston kanssa muodostaen erittäin räjähtäviä metalliatsideja. Hävittämisen yhteydessä huuhtelee runsaalla vedellä, jotta putkistoihin ei kerry atsidiä. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶
2. Näytteitä ennen kiinnitystä ja sen jälkeen sekä kaikkia niille altistettuja materiaaleja tulee käsitellä ikään kuin ne voisivat välittää infektiota, ja ne on hävitettävä asianmukaisin varotoimin. Älä koskaan pipetoi reagensseja suun kautta ja vältä koskettamasta ihoa ja limakalvoja reagenssien ja näytteiden kanssa. Jos reagenssit tai näytteet joutuvat kosketuksiin herkkien alueiden kanssa, pese runsaalla vedellä.⁷
3. Reagenssien mikrobikontaminaatio voi johtaa epäspesifisen värjäytymisen lisääntymiseen.
4. Muut kuin ilmoitetut inkubointiajat tai lämpötilat voivat antaa virheellisiä tuloksia. Käyttäjän on vahvistettava kaikki tällaiset muutokset.
5. Älä käytä reagenssia pulloon painetun viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.
6. Esilaimennettu vasta-ainereagenssi on optimaalisesti laimennettu käyttöä varten. Lisälaimennus voi johtaa antigeenin värjäytymisen menetykseen.
7. Väkevän vasta-ainereagenssin laimennus on validoitava ennen käyttöä. Kaikki käytetyt laimennusaineet, joita ei erityisesti suositella, on myös validoitava yhteensopivuuden ja stabiiliisuuden suhteen.
8. Käyttöturvallisuustiedote on saatavilla pyynnöstä, ja se sijaitsee osoitteessa <http://biocare.net>.

Käyttöohjeet:

Suosittelut värjäysprotokollat HLA-B:lle [BC43]:

IntelliPATH FLX ja manuaalinen käyttö:

API3289 IntelliPATH FLX:ää ja manuaalista käyttöä varten on standardoitu MACH 4:n kanssa tunnistusjärjestelmä. Käytä TBS:ää pesuvaiheisiin.	
Peroxide Block:	Estä 5 minuuttia Peroxidized 1:llä.
Pretreatment:	Suorita lämmön talteenotto käyttämällä Reveal Decloakeria. Katso tarkemmat ohjeet Reveal Decloaker -tietolomakkeesta.
Protein Block (Optional):	Inkuboi 5-10 minuuttia huoneenlämpötilassa Background Punisherin kanssa.
Primary Antibody:	Inkuboi 30 minuuttia huoneenlämpötilassa.
Detection:	Koetin: Inkuboi 10 minuuttia huoneenlämpötilassa sekundäärisen polymeerin kanssa.

	Polymeeri: Inkuboi 20 minuuttia huoneenlämpötilassa tertiäärisen polymeerin kanssa.
Chromogen:	Inkuboi 5 minuuttia huoneenlämpötilassa Biocare DAB:n kanssa – TAI – Inkuboi 5–7 minuuttia huoneenlämpötilassa Warp Redin kanssa.
Counterstain:	Vastavärjäys hematoksyliinillä. Huuhtelee deionisoidulla vedellä. Levitä Tacha's Bluing -liuosta 1 minuutin ajan. Huuhtelee deionisoidulla vedellä.

ONCORE Pro automaattinen liukuvärjäysjärjestelmä:

OPAI3289 on tarkoitettu käytettäväksi ONCORE Pron kanssa. Katso käyttöoppaasta tarkat käyttöohjeet. Protokollaparametrit Protocol Editorissa tulee ohjelmoida seuraavasti:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Ms HRP -malli 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, matala pH; 101 °C
Block Option:	Puskuri
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 min, 25 °C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3289 on tarkoitettu käytettäväksi BenchMark ULTRA:n kanssa. Katso käyttöoppaasta tarkat käyttöohjeet. Suositellut protokollaparametrit ovat seuraavat:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minuuttia
Peroxidase:	Esiprimaarinen peroksidaasin estäjä
Primary Antibody:	8 minuuttia, 36 °C

Q-sarja – Leica BOND-III:lle:

ALI3289 on tarkoitettu käytettäväksi Leica BOND-III:n kanssa. Katso käyttöoppaasta tarkat käyttöohjeet. Suositellut protokollaparametrit ovat seuraavat:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	IHC-protokolla F
Detection:	Bond Polymer Refine
HIER:	10 min ER1:llä
Peroxide Block:	5 min
Marker (Primary Antibody):	15 min
Post Primary:	8 min
Polymer:	8 min
Mixed Chromogen Refine:	10 min
Hematoxyliin:	5 min

Laadunvalvonta:

Katso CLSI-laatustandardit immunohistokemiallisten määrittysten suunnittelua ja toteutusta varten; Hyväksytty Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁸

Positiivinen kudoksetrolli: Tonsilla

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

49/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Finnish

BIOCARE
M E D I C A L

Ulkoiset positiiviset kontrollimateriaalit tulee olla tuoreita näytteitä, jotka on kiinnitetty, käsitelty ja upotettava mahdollisimman pian samalla tavalla kuin potilasnäytteet. Positiiviset kudoskontrollit osoittavat oikein valmistettuja kudoksia ja asianmukaisia värjäystekniikoita. Yksi positiivinen ulkoinen kudoskontrolli jokaista testiolosuhteita kohden tulisi sisällyttää jokaiseen värjäysajoon.

Ulkoisiin positiivisiin kontrollimateriaaleihin käytetyt kudokset tulee valita potilasnäytteistä, joissa on hyvin karakterisoitu alhainen positiivinen kohdeaktiivisuus, joka antaa heikon positiivisen värjäytymisen. Ulkoisten positiivisten kontrollien alhainen positiivisuustaso on suunniteltu varmistamaan pienten muutosten havaitseminen primaarisen vasta-aineen herkkyudessa epästabiilisuudesta tai IHC-metodologian ongelmista. Kaupallisesti saatavilla olevat kudoskontrollilevyt tai näytteet, jotka on käsitelty eri tavalla kuin potilasnäyte(t), validoivat vain reagenssin suorituskyvyn, eivätkä ne varmista kudosten valmistelua.

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

Negatiivisten kudosten kontrolli:

Käytä negatiivista kudoskontrollia (joka tiedetään olevan HLA-B-negatiivinen), joka on kiinnitetty, käsitelty ja upotettu identtisellä tavalla potilasnäytteen (näytteiden) kanssa jokaisessa värjäysajossa varmistaaksesi IHC:n primaarisen vasta-aineen spesifisyyden kohdeantigeenin osoittamiseen ja spesifisen taustavärjäytymisen osoittamiseen (väärä positiivinen värjäys). Myös useimmat eri solutyypit, joita esiintyy useimmissa kudoksetleikkeissä, voivat laboratorio käyttää niitä sisäisinä negatiivisina kontrollipaikkoina IHC:n suorituskyvyn tarkistamiseen tekniset tiedot. Näytetyypit ja -lähteet, joita voidaan käyttää negatiiviseen kudokseen säätimet on lueteltu Suorituskyvyminaisuudet-osiossa.

Jos negatiivisessa kudoskontrollissa esiintyy spesifistä värjäytymistä (väärä positiivinen värjäytyminen), potilasnäytteillä saatuja tuloksia on pidettävä virheellisinä.

Epäspesifinen negatiivinen reagenssikontrolli:

Käytä epäspesifistä negatiivista reagenssikontrollia primaarisen vasta-aineen sijasta kunkin potilasnäytteen leikkeen kanssa arvioidaksesi epäspesifistä värjäytymistä ja mahdollistaa spesifisen värjäytymisen paremman tulkinnan antigeenikohdassa. Ihannetapauksessa negatiivinen reagenssikontrolli sisältää HLA-B [BC43] IgG1 Kappa -vasta-aineen, joka on tuotettu kudosviljelmän supernatantista samalla tavalla kuin primaarinen vasta-aine, mutta sillä ei ole spesifistä reaktiivisuutta ihmiskudosten kanssa samassa matriisissa/liuoksessa kuin Biocare vasta-aine. Laimenna negatiivinen kontrollivasta-aine samaan immunoglobuliini- tai proteiinipitoisuuteen kuin laimennettu primäärinen vasta-aine vasta-aine käyttäen samaa laimennusainetta. Jos vasikan sikiön seerumi jää puhtaaseen vasta-aineeseen käsittelyn jälkeen, vasikan sikiön seerumi proteiinipitoisuudessa, joka vastaa laimennettua Primaarinen vasta-aine samassa laimentimessa soveltuu myös käytettäväksi. (Katso toimitettua reagenssia). Pelkkää laimennusainetta voidaan käyttää vähemmän toivottavana vaihtoehtona aiemmin kuvatuille negatiivisille reagenssikontrolleille. Negatiivisen reagenssikontrollin inkubaatioajan tulee vastata primaarisen vasta-aineen inkubaatioaikaa.

Kun sarjaleikkeissä käytetään useiden vasta-aineiden paneeleja, yhden objektilasin negatiivisesti värjäytyneet alueet voivat toimia negatiivisena/epäspesifisenä sitoutumisen taustakontrollina muille vasta-aineille. Endogeenisen entsyymiaktiivisuuden tai entsyymien epäspesifisen

sitoutumisen erottamiseksi spesifisestä immunoreaktiivisuudesta voidaan potilaan lisäkudoksia värjätä yksinomaan substraatti-kromogeeni- tai entsyymikomplekseilla (PAP, avidiini-biotiini, streptavidini) ja substraatti-kromogeenilla, vastaavasti.

Määrityksen vahvistus:

Ennen vasta-aineen tai värjäysjärjestelmän ensimmäistä käyttöä diagnostisessa toimenpiteessä käyttäjän tulee varmistaa vasta-aineen spesifisyys testaamalla se sarjalla yrityksen sisäisiä kudoksia, joiden immunohistokemialliset suorituskyvyminaisuudet tunnetaan ja jotka edustavat tunnettuja positiivisia ja negatiivisia kudoksia. Tutustu laadunvalvontamenettelyihin, jotka on kuvattu aiemmin tässä tuoteselosteeseen osassa ja CAP-sertifiointiohjelman laadunvalvontasuosituksissa. (Immunohistokemiaa ja/tai NCCLS IHC -ohjetta varten[®]). Nämä laadunvalvontatoimenpiteet on toistettava jokaiselle uudelle vasta-aineerälle tai aina, kun määrittämissä parametreissa tapahtuu muutoksia. Suorituskyvyminaisuudet-osiossa luetellut kudokset soveltuvat määrityksen todentamiseen.

Ongelmien karttoittaminen:

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

Värjäyksen tulkinta:

Positiivinen kudoskontrolli:

Osoitetuilla vasta-aineilla värjäyty positiivinen kudoskontrolli tulee ensin tutkia sen varmistamiseksi, että kaikki reagenssit toimivat oikein. Kohdesolujen asianmukainen värjäys (kuten edellä on osoitettu) osoittaa positiivista reaktiivisuutta. Jos positiiviset kudoskontrollit eivät osoita positiivista värjäytymistä, testinäytteillä saatuja tuloksia on pidettävä virheellisinä. Reaktiokuotteen väri voi vaihdella riippuen käytetyistä substraattikromogeenista. Katso odotetut värireaktiot alustan pakkauselosteista. Lisäksi metakromiaa voidaan havaita värjäysmenetelmän muunnelmissa.¹¹

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

Negatiivinen kudoskontrolli:

Negatiivinen kudoskontrolli tulee tutkia positiivisen kudoskontrollin jälkeen primaarisen vasta-aineen kohdeantigeenin leiman spesifisyyden varmistamiseksi. Spesifisen värjäytymisen puuttuminen negatiivisessa kudoskontrollissa vahvistaa vasta-aineen ristireaktiivisuuden puuttumisen soluja/solukomponentteja kohtaan. Jos negatiivisessa ulkoisessa kudoskontrollissa esiintyy erityistä värjäytymistä (väärä positiivinen värjäytyminen), potilasnäytteen tuloksia on pidettävä virheellisinä.

Epäspesifinen värjäys, jos sitä esiintyy, on yleensä hajanainen. Sidekudoksen satunnaista värjäytymistä voidaan havaita myös leikkeissä, jotka ovat peräisin liikaa formaliinista kiinnitetystä kudoksista. Käytä ehjiä soluja värjäystulosten tulkittamiseen. Nekrootiset tai rapeutuneet solut värjäytyvät usein epäspesifisesti.

Potilaan kudos:

Tutki potilasnäytteet, jotka on värjätty osoitetulla vasta-aineella kestää. Positiivinen värjäytymisintensiteetti tulee arvioida negatiivisen reagenssikontrollin epäspesifisen taustavärjäyksen yhteydessä. Kuten missä tahansa immunohistokemiallisessa testissä, negatiivinen tulos tarkoittaa, että antigeeniä ei havaittu, ei sitä, että antigeeni puuttui määritetyistä

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

50/150



TP v3 (12/15/2021)

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

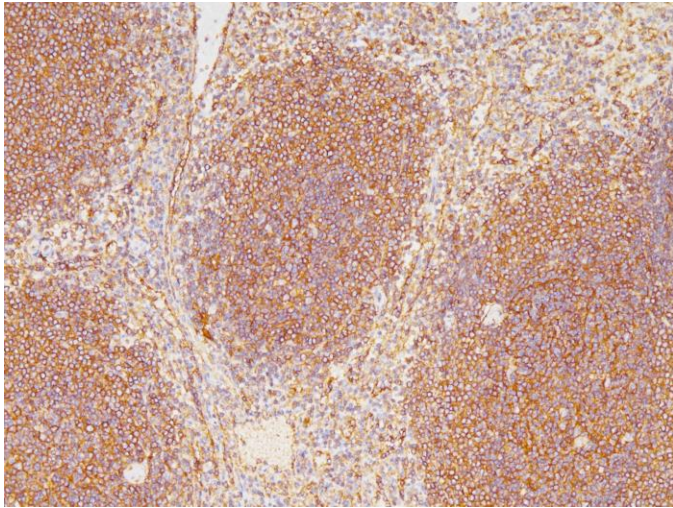
HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Finnish

BIOCARE
M E D I C A L

soluista/kudoksesta. Käytä tarvittaessa vasta-ainepaneelia tunnistaaksesi väärät negatiiviset reaktiot.



Perna värjätty HLA-B [BC43] -vasta-aineella

Katso Yhteenveto ja selitys, Rajoitukset ja Suorituskykyominaisuudet saadaksesi erityisiä tietoja osoitetusta vasta-aineen immunoreaktiivisuudesta.

Rajoitukset:

Yleiset rajoitukset:

1. varten *in vitro* diagnostinen käyttö
2. Tämä tuote on tarkoitettu vain ammattikäyttöön: Immunohistokemia on monivaiheinen diagnostinen prosessi, joka koostuu erityiskoulutuksesta sopivien reagenssien valinnassa; kudosten valinta, kiinnitys ja käsittely; IHC-levyn valmistus; ja värjäystulosten tulkinta.
3. Kudovärjäys riippuu kudoksen käsittelystä ja prosessoinnista ennen värjäystä. Väärä kiinnitys, jäädyttäminen, sulattaminen, pesu, kuivaus, kuumennus, leikkaus tai kontaminaatio muilla kudoksilla tai nesteillä voi aiheuttaa artefakteja, vasta-aineiden vangitsemista tai väärää negatiivisia tuloksia. Epäjohdonmukaiset tulokset voivat johtua vaihteluista kiinnitys- ja upotusmenetelmistä tai kudoksen sisäisistä epäsuoruuksista.¹²
4. Liiallinen tai epätäydellinen vastavärjäys voi vaarantaa tulosten oikean tulkinnan.
5. Kaikkien positiivisten tai negatiivisten värjäytymien kliininen tulkinta on arvioitava kliinisen esityksen, morfologian ja muiden histopatologisten kriteerien yhteydessä. Positiivisen tai negatiivisen värjäytymisen kliinistä tulkintaa tulisi täydentää morfologisilla tutkimuksilla, joissa käytetään asianmukaisia positiivisia ja negatiivisia sisäisiä ja ulkoisia kontroleja sekä muita diagnostisia testejä. Pätevän patologin, joka tuntee IHC-vasta-aineiden, reagenssien ja menetelmien oikean käytön, vastuulla on tulkita kaikki vaiheet, joita käytetään lopullisen IHC-valmisteen valmistelussa ja tulkinnassa.
6. Optimaalinen vasta-aineen laimennus ja protokollat tietyille sovellukselle voivat vaihdella. Näitä ovat muun muassa kiinnitys, lämmön talteenottomenetelmä, inkubaatioajat, kudisleikkeen paksuus ja käytetty havaitsemispakkaus. Näiden ainutlaatuisten reagenssien ylivoimaisen herkkyyden vuoksi lueteltuja suositeltuja inkubointiaikoja ja tiittereitä ei voida soveltaa muihin tunnistusjärjestelmiin, koska tulokset voivat vaihdella. Käyttöturvallisuustiedotteen suositukset ja protokollat perustuvat Biocare-tuotteiden yksinomaiseen käyttöön. Viime kädessä on tutkijan vastuulla määrittää optimaaliset olosuhteet.

7. Tätä tuotetta ei ole tarkoitettu käytettäväksi virtaussytopometriassa. Virtaussytopometrian suorituskykyominaisuuksia ei ole määritetty.
8. Hepatiitti B -viruksella infektoiduneiden henkilöiden kudoksissa, jotka sisältävät hepatiitti B -pinta-antigeeniä (HBsAg), voi esiintyä epäspesifistä piparjuuriperoksidaasin värjäytymistä.¹³
9. Reagenssit voivat osoittaa odottamattomia reaktioita aiemmin testaamattomissa kudoksissa. Odottamattomien reaktioiden mahdollisuutta ei edes testatuissa kudosityhmissä voida täysin eliminoida antigeenin ilmentymisen biologisen vaihtelun vuoksi kasvaimissa tai muissa patologisissa kudoksissa.¹⁴ Ota yhteyttä Biocaren tekniseen tukeen numerossa 1-800-542-2002 tai biocare.net-sivustossa olevien teknisen tuen tietojen kautta ja kerro dokumentoiduista odottamattomista reaktioista.
10. Normaali/ei-immuniseerumit samasta eläinlähteestä kuin estovaiheissa käytetyt sekundaariset antiseerumit voivat aiheuttaa väärää negatiivisia tai väärää positiivisia tuloksia autovasta-aineista tai luonnollisista vasta-aineista johtuen.
11. Väärää positiivisia tuloksia voidaan nähdä johtuen proteiinien tai substraattireaktiotuotteiden ei-immunologisesta sitoutumisesta. Ne voivat johtua myös pseudoperoksidaasiaktiivisuudesta (erytrosyytit), endogeenisestä peroksidaasiaktiivisuudesta (sytokromi C) tai endogeenisestä biotiinista (esim. maksa, rinta, aivot, munuaiset) riippuen käytetyn immunovärjäyksen tyypistä.¹²

Tuotekohtaiset rajoitukset:

Muita rajoituksia ei tunneta.

Suorituskykyominaisuudet:

Herkkyyks, spesifisyys ja ristireaktiivisuus on yhteenveto taulukoissa 1 ja 2, vastaavasti.

Toistettavuus:

Vasta-aineen suorituskyvyn toistettavuus varmistettiin testaamalla valittua normaalia ja kasvainkudosta eri päivinä ja erilaisilla instrumenteilla useilla käyttäjillä. Valittujen kudosten värjäys oli johdonmukaista ja suoritettiin odotetulla tavalla.

Värjäyksen ajonsisäinen toistettavuus määritettiin värjäämällä viisi kudosta, jotka sisälsivät saman kudoksen useilla instrumenteilla.

Ajojen välinen värjäyksen toistettavuus määritettiin värjäämällä viisi objekti, jotka sisälsivät saman kudoksen kolmena päivänä/ajoina samalla instrumentilla. Kaikki testit läpäisivät samoin arvosanan Biocaren sisäisten pisteytysohjeiden mukaisesti.

Immunoreaktiivisuus:

Seuraavat positiiviset ja negatiiviset immunoreaktiivisuudet on osoitettu alla olevissa taulukoissa 1 ja 2.

Alla oleva luettelo ei ole tyhjentävä, mutta se kuvaa ilmoitetun vasta-aineen yhteydessä havaittuja immunoreaktiivisuustyyppisiä.

Yhteenveto odotetuista tuloksista:

Tämän vasta-aineen havaittiin olevan immunoreaktiivinen kaikentyyppisten kudosten kanssa, joissa sitä testattiin, mukaan lukien kaikentyyppiset lymfoomat ja normaalit ihmiskudokset. Värjäys on pääasiassa kalvomaista, mutta se voi myös näyttää sytoplasmalta, kun näytteissä on korkea ekspressio. Värjäytymistä esiintyy pääasiassa endoteelisoluissa ja lymfosyyteissä, ja epiteelisoluissa joissakin kudoksissa esiintyy vähemmän.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Finnish

BIOCARE
M E D I C A L

Pöytä 1: Herkkyyks ja spesifisyys määritettiin testaamalla formaliinilla kiinnitettyjä, parafiiniin upotettuja sairaita kudoksia.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Taulukko 2: Kudosten ristireaktiivisuus määritettiin testaamalla formaliinilla kiinnitettyjä, parafiiniin upotettuja normaaleja kudoksia.

Kudos	Positiiviset tapaukset	Tapauksia yhteensä
Cerebrum	5	6
Pikkuaivot	3	3
Lisämunuainen	3	3
Munasarja	2	3
Haima	3	3
Imusolmuke	3	3
Henkitorvi	3	3
Kives	5	5
Kilpirauhanen	3	3
Rinta	2	2
Spleen	4	4
Tonsilla	3	3
Kateenkorva	3	3
Luuydin	3	3
Lung	3	3
Sydän	3	3
Ruokatorvi	3	3
Vatsa	2	3
Ohutsuoli	3	3
Kaksoispiste	3	3
Maksa	3	3
Sylkirauhanen	3	3
Munuainen	3	3
Eturauhanen	3	3
Kohtu	3	3
Kohdunkaula	3	3
Luurankolihas	2	3
Iho	2	2
Ääreisherma	3	3
Vuoraussolut	2	2
Silmä	3	3
Kurkunpää	3	3

Ongelmien kartoittaminen:

- Objektilasit ei värjäytyneet – Tarkista, että on käytetty asianmukaista positiivista kontrollikudosta, vasta-ainetta ja havaitsemistuotteita.
- Kaikkien objektilasien heikko värjäys – Tarkista, että on käytetty asianmukaista positiivista kontrollikudosta, vasta-ainetta ja havaitsemistuotteita.
- Kaikkien objektilasien liiallinen tausta – Endogeenistä biotiinia (jos käytät biotiinipohjaisia tunnistustuotteita), endogeenistä HRP-aktiivisuutta, joka muuttaa kromogeenin värilliseksi lopputuotteeksi (käytä peroksidaasisalppaa), tai ylimääräistä epäspesifistä proteiiniuorovaikutusta (käytä proteiinia) esto, kuten seerumi- tai kaseiinipohjainen estoliuos).
- Kudososat pesevät objektilasit pois inkubaation aikana – Tarkista objektilasit varmistaaksesi, että ne ovat positiivisesti varautuneita.
- Eriytynen värjäys liian tumma – Tarkista protokolla määrittääksesi, onko objektilasiin käytetty oikea vasta-ainetieteri, sekä oikeat inkubaatioajat kaikille reagenssille. Varmista lisäksi, että protokollassa on riittävästi pesuvaiheita ylimääräisten reagenssien poistamiseksi inkubointivaiheiden jälkeen.

Viitteet:

- Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
- Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
- Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
- Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
- Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
- Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
- CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
- College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
- O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
- Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
- Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
- Omata M, Liew CT, Ashcavi M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
- Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
- Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. Curr Opin Immunol. 2020 Jun;64:137-145.
- Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. J Immunol. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Ultraline-vasta-aineet on kehittänyt yksinomaan Biocare Medical LLC, eivätkä ne tarkoita, että Ventana Medical Systems, Inc. tai Roche olisi hyväksynyt tai hyväksyneet Biocare-vasta-aineet. Biocare, Ventana ja Roche eivät ole sidoksissa, sidoksissa tai millään tavalla toisiinsa. Ventana®, BenchMark®, ultraView ja OptiView ovat Rochen tavaramerkkejä.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Finnish

BIOCARE
M E D I C A L

Q-sarjan vasta-aineet on kehittänyt yksinomaan Biocare Medical LLC, eivätkä ne tarkoita, että Leica Biosystems olisi hyväksynyt tai hyväksynyt Biocare-vasta-aineet. Biocare ja Leica Biosystems eivät ole millään tavalla sidoksissa, sidoksissa tai toisiinsa. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX ja BOND-III ovat Leica Biosystems'in tavaramerkkejä.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

53/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

French

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Utilisation prévue :

Pour *in vitro* Utilisation diagnostique

HLA-B [BC43] est un anticorps monoclonal de souris destiné à être utilisé en laboratoire après que le diagnostic initial de tumeur ait été posé par histopathologie conventionnelle utilisant des colorants histochimiques non immunologiques, pour l'identification qualitative de HLA-B. protéine par immunohistochimie (IHC) dans des tissus humains fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE). L'interprétation clinique de toute coloration ou de son absence doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée dans le contexte des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié pour faciliter toute autre détermination clinique.

Résumé et explication :

HLA-B est une protéine hautement polymorphe codant pour le complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (MHC-I).¹⁵ Les molécules du CMH de classe I sont exprimées à la surface des cellules, liant et présentant des peptides antigéniques aux lymphocytes T CD8+ pour médier les réponses immunitaires contre les agents pathogènes intracellulaires et les cancers.¹⁶

Principe de procédure :

Ce produit anticorps peut être utilisé comme anticorps primaire dans les tests immunohistochimiques de coupes de tissus fixées au formol et incluses en paraffine. En général, immunohistochimie (IHC) Les techniques de coloration permettent la visualisation des antigènes via l'application séquentielle d'un anticorps spécifique de l'antigène (anticorps primaire), un anticorps secondaire de l'anticorps primaire (lien optionnel anticorps/sonde), un complexe enzymatique et un substrat chromogène avec étapes de lavage interposées. L'activation enzymatique du chromogène entraîne un produit de réaction visible au site de l'antigène. L'échantillon peut ensuite être contre-coloré et recouvert. Les résultats sont interprétés à l'aide d'une lumière microscope et aide au diagnostic différentiel des processus physiopathologiques, qui peuvent ou peut ne pas être associé à un antigène particulier.

Matériels et méthodes:

Réactifs fournis :

Source de l'hôte : Souris monoclonale

Réactivité des espèces : Humain; autres espèces non testées.

Cloner: BC43

Isotype : IgG1 kappa

Concentration en protéines : Voir l'étiquette du flacon pour connaître la concentration spécifique du lot.

Concentration spécifique d'IgG : contactez le support technique de Biocare

Spécificité: HLA-B

Localisation cellulaire : Membrane cellulaire

Méthode: Monoclonal de souris purifié par affinité

Reconstitution, Mélange, Dilution, Titrage :

Le réactif anticorps prédilué est dilué de manière optimale pour être utilisé avec les systèmes de coloration répertoriés ci-dessus. Une dilution supplémentaire peut entraîner une perte de la coloration antigénique. L'utilisateur doit valider une telle modification. Différences dans le traitement des tissus et les procédures techniques dans le laboratoire de l'utilisateur peut produire une variabilité significative des résultats nécessitant la réalisation régulière de contrôles internes (voir la section Contrôle qualité). Le réactif concentré nécessite une dilution comme indiqué dans le tableau ci-dessus.

Applications connues :

Immunohistochimie (tissus inclus en paraffine fixés au formol)

Fourni comme : Solution saline tamponnée, 5.9-7.4, contenant un support protéique et moins de 0,1 % de conservateur à base d'azoture de sodium. Voir la fiche de données de sécurité pour plus de détails.

Matériels et réactifs nécessaires mais non fournis :

Lames de microscope chargées positivement.

Contrôles tissulaires positifs et négatifs

Chambre du désert (ou four de séchage similaire)

Xylène ou substitut de xylène

Éthanol ou alcool réactif

Chambre de découfrage (autocoureur)

Eau désionisée ou distillée

Tampon de lavage

Réactifs de prétraitement

Blocage de la peroxydase

Bloc de protéines (facultatif)

Sonde de détection et polymère

Réactifs de contrôle négatif

Chromogènes

Hématoxyline (contre-colorant)

Réactif de bleuissement

Support de montage

Lamelle de verre

Microscope optique (grossissement 40-400X)

*Les configurations du produit anticorps sont disponibles pour une utilisation sur les instruments indiqués dans le tableau ci-dessus.

Stockage et stabilité :

Conserver entre 2 °C et 8 °C. Le produit est stable jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette du flacon, lorsqu'il est conservé dans ces conditions. Ne pas utiliser après la date de péremption. Le stockage dans des conditions autres que celles spécifiées doit être vérifié. Les réactifs dilués doivent être utilisés rapidement ; conserver tout réactif restant entre 2 °C et 8 °C. La stabilité du réactif dilué par l'utilisateur n'a pas été établie par Biocare.

Les contrôles positifs et négatifs doivent être effectués simultanément avec tous les échantillons de patients. Si une coloration inattendue est observée

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

54/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

French

BIOCARE
M E D I C A L

qui ne peut pas être expliquée par des variations dans les procédures de laboratoire et qu'un problème avec l'anticorps est suspecté, contactez le support technique de Biocare au 1-800-542-2002 ou via les informations d'assistance technique fournies sur biocare.net.

Préparation des échantillons :

Tissus fixés au formol conviennent pour une utilisation avant l'inclusion en paraffine. Les tissus osseux doivent être décalcifiés avant le traitement des tissus pour faciliter la coupe des tissus et éviter d'endommager les lames du microtome.^{1,2}

Les tissus correctement fixés et intégrés exprimant l'antigène cible spécifié doivent être conservés dans un endroit frais. La loi sur l'amélioration des laboratoires cliniques (CLIA) de 1988 exige dans 42 CFR§493.1259(b) que « Le laboratoire doit conserver les lames colorées au moins dix ans à compter de la date de examen et conserver les blocs d'échantillons au moins deux ans à compter de la date de l'examen. »

Traitement des tissus avant coloration :

Effectuer la récupération d'épitopes induite par la chaleur (HIER) selon le protocole recommandé ci-dessous. Il a été démontré que l'utilisation systématique de HIER avant l'IHC minimise les incohérences et standardise la coloration.^{4,5}

Avertissement et précautions:

1. Cet anticorps contient moins de 0,1 % d'azote de sodium. Les concentrations inférieures à 0,1 % ne sont pas des matières dangereuses à déclaration obligatoire selon la norme américaine 29 CFR 1910.1200, la communication des dangers de l'OSHA et la directive européenne 91/155/CE. Azote de sodium (NaN₃) utilisé comme conservateur est toxique en cas d'ingestion. L'azote de sodium peut réagir avec la plomberie en plomb et en cuivre pour former des azotures métalliques hautement explosifs. Lors de son élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter l'accumulation d'azote dans la plomberie. (Center for Disease Control, 1976, Institut national de sécurité et de santé au travail, 1976)⁶
2. Les échantillons, avant et après fixation, ainsi que tous les matériaux qui y sont exposés doivent être manipulés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre une infection et éliminés avec les précautions appropriées. Ne jamais pipeter les réactifs par la bouche et éviter tout contact avec la peau et les muqueuses avec les réactifs et les échantillons. Si les réactifs ou les échantillons entrent en contact avec des zones sensibles, laver abondamment à l'eau.⁷
3. La contamination microbienne des réactifs peut entraîner une augmentation des colorations non spécifiques.
4. Des durées d'incubation ou des températures autres que celles spécifiées peuvent donner des résultats erronés. L'utilisateur doit valider une telle modification.
5. Ne pas utiliser de réactif après la date de péremption imprimée sur le flacon.
6. Le réactif anticorps prédilué est dilué de manière optimale pour être utilisé. Une dilution supplémentaire peut entraîner une perte de la coloration antigénique.
7. La dilution du réactif anticorps concentré doit être validée avant utilisation. Tout diluant utilisé qui n'est pas spécifiquement recommandé doit également être validé pour sa compatibilité et sa stabilité.
8. La FDS est disponible sur demande et se trouve sur <http://biocare.net>.

Mode d'emploi:

Protocoles de coloration recommandés pour HLA-B [BC43] :

IntelliPATH FLX et utilisation manuelle :

API3289 pour IntelliPATH FLX et utilisation manuelle, a été standardisé avec MACH 4 système de détection. Utilisez TBS pour les étapes de lavage.

Peroxide Block:	Bloquer pendant 5 minutes avec Peroxidized 1.
Pretreatment:	Effectuez la récupération de chaleur à l'aide de Reveal Decloaker. Reportez-vous à la fiche technique de Reveal Decloaker pour des instructions spécifiques.
Protein Block (Optional):	Incuber pendant 5 à 10 minutes à température ambiante avec Background Punisher.
Primary Antibody:	Incuber 30 minutes à température ambiante.
Detection:	Sonde : Incuber 10 minutes à température ambiante avec un polymère secondaire.
	Polymère : Incuber 20 minutes à température ambiante avec un polymère tertiaire.
Chromogen:	Incuber pendant 5 minutes à température ambiante avec le DAB de Biocare – OU – Incuber pendant 5 à 7 minutes à température ambiante avec Warp Red.
	Contre-colorer à l'hématoxyline. Rincer à l'eau déminéralisée. Appliquez la solution bleuissante de Tacha pendant 1 minute. Rincer à l'eau déminéralisée.

Système de coloration de lames automatisé ONCORE Pro :

OPAI3289 est destiné à être utilisé avec ONCORE Pro. Reportez-vous au manuel d'utilisation pour obtenir des instructions d'utilisation spécifiques. Les paramètres de protocole dans l'éditeur de protocole doivent être programmés comme suit :

Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Modèle Mme HRP 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, pH faible ; 101°C
Block Option:	Tampon
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 minutes, 25°C

Ventana Benchmark ULTRA :

AVI3289 est destiné à être utilisé avec le BenchMark ULTRA. Reportez-vous au manuel d'utilisation pour obtenir des instructions d'utilisation spécifiques. Les paramètres de protocole recommandés sont les suivants :

Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minutes
Peroxidase:	Inhibiteur préprimaire de la peroxydase
Primary Antibody:	8 minutes, 36°C

Série Q – Pour Leica BOND-III :

ALI3289 est destiné à être utilisé avec le Leica BOND-III. Reportez-vous au manuel d'utilisation pour obtenir des instructions d'utilisation spécifiques. Les paramètres de protocole recommandés sont les suivants :

Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	Protocole IHC F
Detection:	Affiner le polymère de liaison
HIER:	10 minutes avec ER1
Peroxide Block:	5 minutes
Marker (Primary Antibody):	15 min

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

55/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

French

BIOCARE
M E D I C A L

Post Primary:	8 minutes
Polymer:	8 minutes
Mixed Chromogen Refine:	10 minutes
Hematoxylin:	5 minutes

Contrôle de qualité:

Reportez-vous aux normes de qualité du CLSI pour la conception et la mise en œuvre de tests d'immunohistochimie ; Directives approuvées-Deuxième édition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁸

Contrôle tissulaire positif : Amygdale

Les matériaux de contrôle positif externe doivent être des échantillons frais fixés, traités et incorporés dès que possible de la même manière que les échantillons du patient. Les contrôles tissulaires positifs indiquent des tissus correctement préparés et des techniques de coloration appropriées. Un contrôle tissulaire externe positif pour chaque ensemble de conditions de test doit être inclus dans chaque série de coloration.

Les tissus utilisés pour les matériaux de contrôle positif externe doivent être sélectionnés à partir d'échantillons de patients présentant de faibles niveaux bien caractérisés d'activité cible positive qui donnent une faible coloration positive. Le faible niveau de positivité des contrôles positifs externes est conçu pour garantir la détection de changements subtils dans la sensibilité des anticorps primaires dus à une instabilité ou à des problèmes avec la méthodologie IHC. Les lames de contrôle tissulaire disponibles dans le commerce ou les échantillons traités différemment des échantillons du patient valident uniquement les performances du réactif et ne vérifient pas la préparation des tissus.

Les contrôles tissulaires positifs connus ne doivent être utilisés que pour surveiller les performances correctes des tissus traités et des réactifs de test, plutôt que pour aider à formuler un diagnostic spécifique à partir d'échantillons de patients. Si les contrôles tissulaires positifs ne parviennent pas à démontrer une coloration positive, les résultats des échantillons de test doivent être considérés comme invalides.

Contrôle tissulaire négatif :

Utilisez un contrôle tissulaire négatif (connu pour être HLA-B négatif) fixé, traité et incorporé d'une manière identique aux échantillons du patient à chaque cycle de coloration pour vérifier la spécificité de l'anticorps primaire IHC pour démonstration de l'antigène cible et fournir une indication de la coloration de fond spécifique (coloration faussement positive). En outre, la variété des différents types de cellules présents dans la plupart des coupes de tissus peut être utilisé par le laboratoire comme sites de contrôle négatif interne pour vérifier les performances de l'IHC Caractéristiques. Les types et sources d'échantillons pouvant être utilisés pour les tissus négatifs les contrôles sont répertoriés dans la section Caractéristiques de performance.

Si une coloration spécifique (fausse coloration positive) se produit dans le contrôle tissulaire négatif, les résultats obtenus avec les échantillons du patient doivent être considérés comme invalides.

Contrôle réactif négatif non spécifique :

Utiliser un contrôle réactif négatif non spécifique à la place de l'anticorps primaire avec une section de chaque échantillon de patient pour évaluer la coloration non spécifique et permettre une meilleure interprétation de la coloration spécifique au site de l'antigène. Idéalement, un contrôle réactif négatif contient un anticorps HLA-B [BC43] IgG1 Kappa produit à partir du surnageant de culture tissulaire de la même manière que l'anticorps primaire, mais ne présente aucune réactivité spécifique avec les tissus humains dans la même matrice/solution que l'anticorps primaire. Anticorps Biocare. Diluer un anticorps témoin négatif à la même concentration d'immunoglobuline ou de protéine que l'anticorps

primaire dilué. anticorps en utilisant le même diluant. Si le sérum de veau foetal est retenu dans l'anticorps pur après le traitement, le sérum de veau foetal à une concentration en protéines équivalente à celle diluée. l'anticorps primaire dans le même diluant peut également être utilisé. (Se référer au réactif fourni). Le diluant seul peut être utilisé comme alternative moins souhaitable aux contrôles réactifs négatifs décrits précédemment. La période d'incubation du contrôle réactif négatif doit correspondre à celle de l'anticorps primaire.

Lorsque des panels de plusieurs anticorps sont utilisés sur des coupes en série, les zones de coloration négative d'une lame peuvent servir de contrôle de fond de liaison négatif/non spécifique pour d'autres anticorps. Pour différencier l'activité enzymatique endogène ou la liaison non spécifique des enzymes de l'immunoréactivité spécifique, des tissus supplémentaires du patient peuvent être colorés exclusivement avec des complexes substrat-chromogène ou enzymatiques (PAP, avidine-biotine, streptavidine) et substrat-chromogène, respectivement.

Vérification des analyses :

Avant la première utilisation d'un anticorps ou d'un système de coloration dans une procédure de diagnostic, l'utilisateur doit vérifier la spécificité de l'anticorps en le testant sur une série de tissus internes présentant des caractéristiques de performance immunohistochimiques connues représentant des tissus positifs et négatifs connus. Référez-vous aux procédures de contrôle qualité précédemment décrites dans cette section de la notice du produit et aux recommandations de contrôle qualité du programme de certification CAP[®] pour l'immunohistochimie et/ou la directive NCCLS IHC[®]. Ces procédures de contrôle qualité doivent être répétées pour chaque nouveau lot d'anticorps ou chaque fois qu'il y a un changement dans les paramètres du test. Les tissus répertoriés dans la section Caractéristiques de performance conviennent à la vérification du test.

Dépannage:

Suivez les recommandations du protocole spécifique aux anticorps selon la fiche technique fournie. Si des résultats atypiques apparaissent, contactez le support technique de Biocare au 1-800-542-2002.

Interprétation de la coloration :

Contrôle tissulaire positif :

Le contrôle tissulaire positif coloré avec l'anticorps indiqué doit être examiné en premier pour s'assurer que tous les réactifs fonctionnent correctement. La coloration appropriée des cellules cibles (comme indiqué ci-dessus) indique une réactivité positive. Si les contrôles tissulaires positifs ne parviennent pas à démontrer une coloration positive, tous les résultats obtenus avec les échantillons de test doivent être considérés comme invalides. La couleur du produit de réaction peut varier en fonction des chromogènes du substrat utilisé. Reportez-vous aux notices du substrat pour connaître les réactions de couleur attendues. De plus, une métachromasie peut être observée dans les variations de la méthode de coloration.¹¹ Lorsqu'une contre-coloration est utilisée, en fonction de la durée d'incubation et de la puissance de la contre-coloration utilisée, la contre-coloration entraînera une coloration des noyaux cellulaires. Une contre-coloration excessive ou incomplète peut compromettre la bonne interprétation des résultats. Reportez-vous au(x) protocole(s) pour connaître la contre-coloration recommandée.

Contrôle tissulaire négatif:

Le contrôle tissulaire négatif doit être examiné après le contrôle tissulaire positif afin de vérifier la spécificité du marquage de l'antigène cible par l'anticorps primaire. L'absence de coloration spécifique dans le contrôle tissulaire négatif confirme l'absence de réactivité croisée des anticorps avec les cellules/composants cellulaires. Si une coloration spécifique (fausse coloration positive) se produit dans le contrôle tissulaire externe négatif, les



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

56/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

French

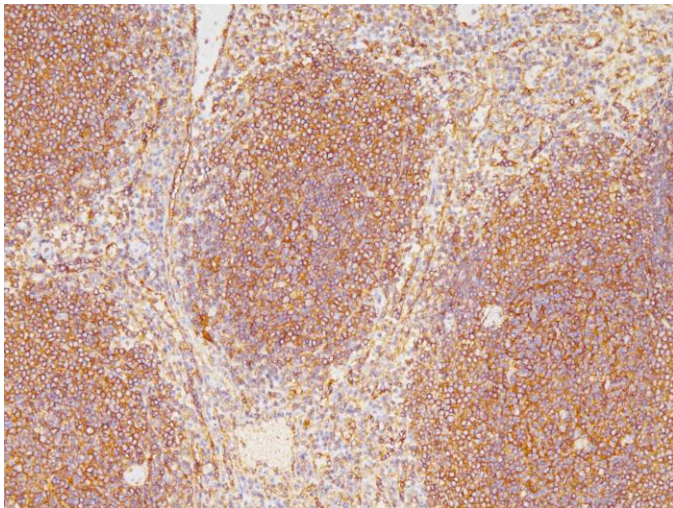
BIOCARE
M E D I C A L

résultats obtenus avec l'échantillon du patient doivent être considérés comme invalides.

La coloration non spécifique, si elle est présente, a généralement un aspect diffus. Des colorations sporadiques du tissu conjonctif peuvent également être observées dans des coupes de tissus excessivement fixés au formol. Utilisez des cellules intactes pour l'interprétation des résultats de coloration. Les cellules nécrotiques ou dégénérées se colorent souvent de manière non spécifique.

Tissu du patient :

Examiner les échantillons de patients colorés avec l'anticorps indiqué dernier. L'intensité de la coloration positive doit être évaluée dans le contexte de toute coloration de fond non spécifique du contrôle réactif négatif. Comme pour tout test immunohistochimique, un résultat négatif signifie que l'antigène n'a pas été détecté, et non que l'antigène était absent dans les cellules/tissus analysés. Si nécessaire, utilisez un panel d'anticorps pour identifier les réactions faussement négatives.



Rate colorée avec l'anticorps HLA-B [BC43]

Reportez-vous au résumé et à l'explication, aux limites et aux caractéristiques de performance pour obtenir des informations spécifiques concernant l'immunoréactivité des anticorps indiqués.

Limites:

Limites générales :

1. Pour *in vitro* Utilisation diagnostique
2. Ce produit est destiné à un usage professionnel uniquement : L'immunohistochimie est un processus de diagnostic en plusieurs étapes qui consiste en une formation spécialisée dans la sélection des réactifs appropriés ; sélection, fixation et traitement des tissus ; préparation de la lame IHC ; et interprétation des résultats de coloration.
3. La coloration des tissus dépend de la manipulation et du traitement du tissu avant la coloration. Une mauvaise fixation, congélation, décongélation, lavage, séchage, chauffage, sectionnement ou contamination par d'autres tissus ou fluides peut produire des artefacts, un piégeage d'anticorps ou des résultats faussement négatifs. Des résultats incohérents peuvent être dus à des variations dans les méthodes de fixation et d'intégration, ou à des irrégularités inhérentes au tissu.¹²

4. Une contre-coloration excessive ou incomplète peut compromettre la bonne interprétation des résultats.
5. L'interprétation clinique de toute coloration positive ou négative doit être évaluée dans le contexte de la présentation clinique, de la morphologie et d'autres critères histopathologiques. L'interprétation clinique de toute coloration positive ou négative doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles internes et externes positifs et négatifs appropriés ainsi que d'autres tests de diagnostic. Il est de la responsabilité d'un pathologiste qualifié qui connaît l'utilisation appropriée des anticorps, des réactifs et des méthodes IHC d'interpréter toutes les étapes utilisées pour préparer et interpréter la préparation IHC finale.
6. La dilution optimale des anticorps et les protocoles pour une application spécifique peuvent varier. Ceux-ci incluent, sans s'y limiter, la fixation, la méthode de récupération de chaleur, les temps d'incubation, l'épaisseur des coupes de tissus et le kit de détection utilisé. En raison de la sensibilité supérieure de ces réactifs uniques, les durées d'incubation recommandées et les titres indiqués ne s'appliquent pas à d'autres systèmes de détection, car les résultats peuvent varier. Les recommandations et protocoles de la fiche technique sont basés sur l'utilisation exclusive des produits Biocare. En fin de compte, il incombe à l'enquêteur de déterminer les conditions optimales.
7. Ce produit n'est pas destiné à être utilisé en cytométrie en flux. Les caractéristiques de performance n'ont pas été déterminées pour la cytométrie en flux.
8. Les tissus provenant de personnes infectées par le virus de l'hépatite B et contenant l'antigène de surface de l'hépatite B (AgHBs) peuvent présenter une coloration non spécifique à la peroxydase de raifort.¹³
9. Les réactifs peuvent présenter des réactions inattendues dans des tissus non testés auparavant. La possibilité de réactions inattendues, même dans les groupes de tissus testés, ne peut être complètement éliminée en raison de la variabilité biologique de l'expression de l'antigène dans les néoplasmes ou dans d'autres tissus pathologiques.¹⁴ Contactez le support technique de Biocare au 1-800-542-2002, ou via les informations de support technique fournies sur biocare.net, avec une ou plusieurs réactions inattendues documentées.
10. Les sérums normaux/non immuns provenant de la même source animale que les antisérums secondaires utilisés dans les étapes de blocage peuvent provoquer des résultats faussement négatifs ou faussement positifs en raison d'auto-anticorps ou d'anticorps naturels.
11. Des résultats faussement positifs peuvent être observés en raison d'une liaison non immunologique des protéines ou des produits de réaction du substrat. Ils peuvent également être causés par une activité pseudo-peroxydase (érythrocytes), une activité peroxydase endogène (cytochrome C) ou une biotine endogène (par exemple, foie, sein, cerveau, rein), selon le type d'immunocoloration utilisé.¹⁵

Limites spécifiques au produit :

Il n'y a aucune limitation supplémentaire connue.

Caractéristiques de performance:

La sensibilité, la spécificité et la réactivité croisée sont résumées respectivement dans les tableaux 1 et 2.

Reproductibilité :

La reproductibilité des performances des anticorps a été vérifiée en testant certains tissus normaux et tumoraux à différents jours et sur divers instruments avec plusieurs opérateurs. La coloration des tissus sélectionnés était cohérente et réalisée comme prévu.

La reproductibilité intra-analyse de la coloration a été déterminée en colorant cinq tissus contenant le même tissu sur plusieurs instruments.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

French

BIOCARE
M E D I C A L

La reproductibilité de la coloration entre les analyses a été déterminée en colorant cinq lames contenant le même tissu pendant trois jours/analyses sur le même instrument. Tous les tests ont réussi avec les mêmes scores, tels que définis par les directives de notation internes de Biocare.

Immunoréactivité :

Les immunoréactivités positives et négatives suivantes ont été démontrées dans les tableaux 1 et 2 ci-dessous.

La liste fournie ci-dessous n'est pas exhaustive mais caractérise les types d'immunoréactivités observées avec l'anticorps indiqué.

Résumé des résultats attendus :

Cet anticorps s'est révélé immunoréactif avec tous les types de tissus sur lesquels il a été testé, y compris tous les types de lymphomes et les tissus humains normaux. La coloration est principalement membraneuse mais peut également apparaître cytoplasmique dans des échantillons à forte expression. La coloration est présente principalement dans les cellules endothéliales et les lymphocytes, avec une prévalence plus faible dans les cellules épithéliales de certains tissus.

Cœur	3	3
Œsophage	3	3
Estomac	2	3
Intestin grêle	3	3
Côlon	3	3
Foie	3	3
Glande salivaire	3	3
Rein	3	3
Prostate	3	3
Utérus	3	3
Col de l'utérus	3	3
Muscle squelettique	2	3
Peau	2	2
Nerf périphérique	3	3
Cellules de revêtement	2	2
Œil	3	3
Larynx	3	3

Tableau 1: La sensibilité et la spécificité ont été déterminées en testant des tissus malades fixés au formol et inclus en paraffine.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Tableau 2: La réactivité croisée des tissus a été déterminée en testant des tissus normaux fixés au formol et inclus en paraffine.

Tissu	Cas positifs	Total des cas
Cerveau	5	6
Cervelet	3	3
Surrénal	3	3
Ovaire	2	3
Pancréas	3	3
Ganglion lymphatique	3	3
Trachée	3	3
Testicule	5	5
Thyroïde	3	3
Sein	2	2
Rate	4	4
Amygdale	3	3
Thymus	3	3
Moelle	3	3
Poumon	3	3

Dépannage:

1. Aucune coloration des lames – Vérifiez que le tissu de contrôle positif, les anticorps et les produits de détection appropriés ont été utilisés.
2. Faible coloration de toutes les lames – Vérifiez que le tissu de contrôle positif, les anticorps et les produits de détection appropriés ont été utilisés.
3. Fond excessif de toutes les lames – Il peut y avoir des niveaux élevés de biotine endogène (si vous utilisez des produits de détection à base de biotine), une activité HRP endogène convertissant le chromogène en produit final coloré (utilisez un bloc de peroxydase) ou une interaction protéique non spécifique excessive (utilisez un bloc, comme une solution de blocage à base de sérum ou de caséine).
4. Les coupes de tissus sont lavées sur les lames pendant l'incubation. Vérifiez les lames pour vous assurer qu'elles sont chargées positivement.
5. Coloration spécifique trop foncée – Vérifiez le protocole pour déterminer si le titre d'anticorps approprié a été appliqué à la lame, ainsi que les temps d'incubation appropriés pour tous les réactifs. De plus, assurez-vous que le protocole comporte suffisamment d'étapes de lavage pour éliminer les réactifs en excès une fois les étapes d'incubation terminées.

Les références:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

58/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

French

BIOCARE
M E D I C A L

10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. Curr Opin Immunol. 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. J Immunol. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Les anticorps Ultraline sont développés uniquement par Biocare Medical LLC et n'impliquent pas l'approbation ou l'approbation des anticorps Biocare par Ventana Medical Systems, Inc ou Roche. Biocare, Ventana et Roche ne sont en aucun cas affiliés, associés ou liés. Ventana®, BenchMark®, ultraView et OptiView sont des marques déposées de Roche.

Les anticorps Q Series sont développés uniquement par Biocare Medical LLC et n'impliquent pas l'approbation ou l'approbation des anticorps Biocare par Leica Biosystems. Biocare et Leica Biosystems ne sont en aucun cas affiliés, associés ou liés. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX et BOND-III sont des marques commerciales de Leica Biosystems.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

German

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Verwendungszweck:

Für *in vitro* Diagnostische Verwendung

HLA-B [BC43] ist ein monoklonaler Maus-Antikörper, der für den Laborgebrauch bestimmt ist, nachdem die Erstdiagnose eines Tumors durch konventionelle Histopathologie unter Verwendung nichtimmunologischer histochemischer Färbungen zur qualitativen Identifizierung von HLA-B gestellt wurde Protein durch Immunhistochemie (IHC) in formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten (FFPE) menschlichen Geweben. Die klinische Interpretation etwaiger Verfärbungen oder ihres Fehlens sollte durch morphologische Studien unter Verwendung geeigneter Kontrollen ergänzt und im Kontext der Krankengeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests durch einen qualifizierten Pathologen als Hilfe für andere klinische Feststellungen bewertet werden.

Zusammenfassung und Erklärung:

HLA-B ist ein hochpolymorphes Protein, das das Gen für den Haupthistokompatibilitätsklasse-I-Komplex (MHC-I) kodiert.¹⁵ MHC-Klasse-I-Moleküle werden auf der Zelloberfläche exprimiert, binden antigenische Peptide und präsentieren diese an CD8+-T-Lymphozyten, um Immunantworten gegen intrazelluläre Krankheitserreger und Krebs zu vermitteln.¹⁵

Verfahrensgrundsatz:

Dieses Antikörperprodukt kann als primärer Antikörper bei immunhistochemischen Tests von formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden. Im Allgemeinen immunhistochemische (IHC) Färbetechniken ermöglichen die Visualisierung von Antigenen durch die sequentielle Anwendung von einem spezifischen Antikörper gegen das Antigen (primärer Antikörper), einem sekundären Antikörper gegen den primären Antikörper (optionaler Link-Antikörper/Sonde), einem Enzymkomplex und einem chromogenen Substrat mit zwischengeschalteten Waschschritten. Die enzymatische Aktivierung des Chromogens führt zu einem sichtbaren Reaktionsprodukt an der Antigenstelle. Anschließend kann die Probe gegengefärbt und abgedeckt werden. Die Ergebnisse werden mithilfe eines Lichts interpretiert Mikroskop und Hilfe bei der Differentialdiagnose pathophysiologischer Prozesse, die oder ist möglicherweise nicht mit einem bestimmten Antigen verbunden.

Materialien und Methoden:

Mitgelieferte Reagenzien:

Host-Quelle: Monoklonale Maus

Speziesreaktivität: Menschlich; andere Arten nicht getestet.

Klon: BC43

Isotyp: IgG1-Kappa

Proteinkonzentration: Die chargenspezifische Konzentration finden Sie auf dem Etikett des Fläschchens.

Spezifische IgG-Konzentration: Wenden Sie sich an den technischen Support von Biocare

Besonderheit: HLA-B

Zelluläre Lokalisierung: Zellmembran

Methode: Affinitätsgereinigtes monoklonales Mausprodukt

Rekonstitution, Mischen, Verdünnung, Titration:

Vorverdünntes Antikörperreagenz ist optimal für die Verwendung mit den oben aufgeführten Färbesystemen verdünnt. Eine weitere Verdünnung kann zum Verlust der Antigenfärbung führen. Eine weitere Verdünnung kann zum Verlust der Antigenfärbung führen. Der Benutzer muss jede solche Änderung validieren. Unterschiede in der Gewebeerarbeitung und den technischen Verfahren

Im Labor des Benutzers kann es zu erheblichen Schwankungen der Ergebnisse kommen, die die regelmäßige Durchführung interner Kontrollen erforderlich machen (siehe Abschnitt „Qualitätskontrolle“).

Konzentriertes Reagenz muss wie in der Tabelle oben angegeben verdünnt werden.

Bekannte Anwendungen:

Immunhistochemie (formalinfixierte, in Paraffin eingebettete Gewebe)

Geliefert als: Gepufferte Kochsalzlösung, 5,9-7,4, Enthält einen Proteinträger und weniger als 0,1 % Natriumazid als Konservierungsmittel. Weitere Einzelheiten finden Sie im Sicherheitsdatenblatt.

Benötigte, aber nicht bereitgestellte Materialien und Reagenzien:

Objektträger positiv geladen.

Positive und negative Gewebekontrollen

Wüstenkammer (oder ähnlicher Trockenofen)

Xylol oder Xylolersatz

Ethanol oder Reagenzalkohol

Enttarnungskammer (Schnellkochtopf)

Entionisiertes oder destilliertes Wasser

Waschpuffer

Reagenzien zur Vorbehandlung

Peroxidase-Block

Proteinblock (optional)

Nachweissonde und Polymer

Negativkontrollreagenzien

Chromogene

Hämatoxylin (Gegenfärbung)

Bläuungsreagenz

Eindeckmedium

Schutzglas

Lichtmikroskop (40-400-fache Vergrößerung)

*Konfigurationen des Antikörperprodukts sind für die Verwendung auf den in der Tabelle oben angegebenen Geräten verfügbar.

Lagerung und Stabilität:

Bei 2 °C bis 8 °C lagern. Bei Lagerung unter diesen Bedingungen ist das Produkt bis zum auf dem Fläschchenetikett aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden. Die Lagerung unter anderen als den angegebenen Bedingungen muss überprüft werden. Verdünnte Reagenzien sollten umgehend verwendet werden; Lagern Sie das restliche Reagenz bei 2 °C bis 8 °C. Die Stabilität des vom Benutzer verdünnten Reagenzes wurde von Biocare nicht nachgewiesen.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

60/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

German

BIOCARE
M E D I C A L

Positiv- und Negativkontrollen sollten gleichzeitig mit allen Patientenproben durchgeführt werden. Wenn eine unerwartete Färbung beobachtet wird, die nicht durch Abweichungen in den Laborverfahren erklärt werden kann, und ein Problem mit dem Antikörper vermutet wird, wenden Sie sich an den technischen Support von Biocare unter 1-800-542-2002 oder über die technischen Supportinformationen auf biocare.net.

Probenvorbereitung:

In Formalin fixierte Gewebe eignen sich zur Verwendung vor der Paraffineinbettung. Knochengewebe sollte vor der Gewebearbeitung entkalkt werden, um das Gewebeschnneiden zu erleichtern und Schäden an den Mikrotomklingen zu verhindern.¹²

Ordnungsgemäß fixierte und eingebettete Gewebe, die das angegebene Antigen-Ziel exprimieren, sollten an einem kühlen Ort gelagert werden. Der Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) von 1988 schreibt 42 CFR vor§493.1259(b) besagt: „Das Labor muss gefärbte Objektträger mindestens zehn Jahre ab dem Datum aufbewahren Prüfung durchführen und Probenblöcke mindestens zwei Jahre ab dem Datum der Prüfung aufbewahren.“¹³

Behandlung von Geweben vor der Färbung:

Führen Sie die hitzeinduzierte Epitopgewinnung (HIER) gemäß dem unten empfohlenen Protokoll durch. Es hat sich gezeigt, dass die routinemäßige Verwendung von HIER vor der IHC Inkonsistenzen minimiert und die Färbung standardisiert.^{14,15}

Warnung und Vorsichtsmaßnahmen:

1. Dieser Antikörper enthält weniger als 0,1 % Natriumazid. Konzentrationen unter 0,1 % sind gemäß U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication und EG-Richtlinie 91/155/EG keine meldepflichtigen Gefahrstoffe. Natriumazid (NaN₃), das als Konservierungsmittel verwendet wird, ist bei Einnahme giftig. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferleitungen reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung mit großen Mengen Wasser spülen, um eine Azidbildung in den Leitungen zu verhindern. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶
2. Proben vor und nach der Fixierung sowie alle ihnen ausgesetzten Materialien sollten so behandelt werden, als ob sie Infektionen übertragen könnten, und mit den entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen entsorgt werden. Pipettieren Sie Reagenzien niemals mit dem Mund und vermeiden Sie den Kontakt der Reagenzien und Proben mit der Haut und den Schleimhäuten. Wenn Reagenzien oder Proben mit empfindlichen Bereichen in Kontakt kommen, waschen Sie diese mit reichlich Wasser ab.⁷
3. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien kann zu einer Zunahme unspezifischer Färbungen führen.
4. Andere als die angegebenen Inkubationszeiten oder Temperaturen können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Der Benutzer muss jede solche Änderung validieren.
5. Verwenden Sie das Reagenz nach dem auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfallsdatum nicht mehr.
6. Das vorverdünnte Antikörperreagenz ist für den Gebrauch optimal verdünnt. Eine weitere Verdünnung kann zum Verlust der Antigenfärbung führen.
7. Die Verdünnung des konzentrierten Antikörperreagenzes muss vor der Verwendung validiert werden. Jedes verwendete Verdünnungsmittel, das nicht ausdrücklich empfohlen wird, muss ebenfalls auf Kompatibilität und Stabilität validiert werden.
8. Das Sicherheitsdatenblatt ist auf Anfrage erhältlich und befindet sich unter <http://biocare.net>.

Gebrauchsanweisung:

Empfohlene Färbeprotokolle für HLA-B [BC43]:

IntelliPATH FLX und manuelle Verwendung:

API3289 für IntelliPATH FLX und manuelle Verwendung wurde mit MACH 4 standardisiert Erkennungssystem. Verwenden Sie TBS für die Waschschriffe.	
Peroxide Block:	5 Minuten lang mit Peroxidazed 1 blockieren.
Pretreatment:	Führen Sie eine Wärmerückgewinnung mit Reveal Decloaker durch. Spezifische Anweisungen finden Sie im Reveal Decloaker-Datenblatt.
Protein Block (Optional):	5–10 Minuten bei RT mit Background Punisher inkubieren.
Primary Antibody:	30 Minuten bei RT inkubieren.
Detection:	Sonde: 10 Minuten bei RT mit einem sekundären Polymer inkubieren.
	Polymer: 20 Minuten bei RT mit einem Tertiärpolymer inkubieren.
Chromogen:	5 Minuten bei RT mit Biocare DAB inkubieren – ODER – 5–7 Minuten bei RT mit Warp Red inkubieren.
Counterstain:	Gegenfärbung mit Hämatoxylin. Mit entionisiertem Wasser spülen. Tragen Sie Tacha's Blueing Solution 1 Minute lang auf. Mit entionisiertem Wasser spülen.

ONCORE Pro Automatisiertes Objektträgerfärbesystem:

OPI3289 ist für die Verwendung mit dem ONCORE Pro vorgesehen. Spezifische Anweisungen zur Verwendung finden Sie im Benutzerhandbuch. Protokollparameter im Protokolleditor sollten wie folgt programmiert werden:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Frau HRP-Vorlage 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, niedriger pH-Wert; 101C
Block Option:	Puffer
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 Min., 25°C

Ventana Benchmark ULTRA:

AVI3289 ist für die Verwendung mit dem BenchMark ULTRA vorgesehen. Spezifische Anweisungen zur Verwendung finden Sie im Benutzerhandbuch. Die empfohlenen Protokollparameter sind wie folgt:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 Minuten
Peroxidase:	Präprimärer Peroxidase-Inhibitor
Primary Antibody:	8 Minuten, 36°C

Q-Serie – Für Leica BOND-III:

ALI3289 ist für die Verwendung mit dem Leica BOND-III vorgesehen. Spezifische Anweisungen zur Verwendung finden Sie im Benutzerhandbuch. Die empfohlenen Protokollparameter sind wie folgt:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	IHC-Protokoll F
Detection:	Bond Polymer Refine

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

German

BIOCARE
M E D I C A L

HIER:	10 Min. mit ER1
Peroxide Block:	5 Minuten
Marker (Primary Antibody):	15 Minuten
Post Primary:	8 Min
Polymer:	8 Min
Mixed Chromogen Refine:	10 Minuten
Hematoxylin:	5 Minuten

Qualitätskontrolle:

Siehe CLSI-Qualitätsstandards für Design und Implementierung von Immunhistochemie-Assays; Genehmigte Richtlinie – Zweite Auflage (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011³

Positive Gewebekontrolle: Mandel

Externe positive Kontrollmaterialien sollten frische Proben sein, die so schnell wie möglich auf die gleiche Weise wie die Patientenprobe(n) fixiert, verarbeitet und eingebettet werden. Positive Gewebekontrollen weisen auf korrekt vorbereitetes Gewebe und geeignete Färbetechniken hin. In jedem Färbedurchlauf sollte eine positive externe Gewebekontrolle für jeden Satz Testbedingungen enthalten sein.

Die für die externen Positivkontrollmaterialien verwendeten Gewebe sollten aus Patientenproben mit gut charakterisierten niedrigen Konzentrationen der positiven Zielaktivität ausgewählt werden, die eine schwach positive Färbung ergeben. Der niedrige Positivitätsgrad für externe Positivkontrollen soll die Erkennung geringfügiger Veränderungen der primären Antikörperempfindlichkeit aufgrund von Instabilität oder Problemen mit der IHC-Methodik gewährleisten. Im Handel erhältliche Gewebekontrollobjektträger oder Proben, die anders als die Patientenprobe(n) verarbeitet wurden, validieren nur die Leistung der Reagenzien und nicht die Gewebepreparation.

Bekannt positive Gewebekontrollen sollten nur zur Überwachung der korrekten Leistung verarbeiteter Gewebe und Testreagenzien verwendet werden und nicht als Hilfe bei der Formulierung einer spezifischen Diagnose von Patientenproben. Wenn die positiven Gewebekontrollen keine positive Färbung zeigen, sollten die Ergebnisse mit den Testproben als ungültig betrachtet werden.

Negative Gewebekontrolle:

Verwenden Sie bei jedem Färbedurchlauf eine negative Gewebekontrolle (bekanntermaßen HLA-B-negativ), die auf die gleiche Weise wie die Patientenprobe(n) fixiert, verarbeitet und eingebettet wird, um die Spezifität des IHC-Primäntikörpers zu überprüfen. Nachweis des Zielantigens und um einen Hinweis auf eine spezifische Hintergrundfärbung zu liefern (falsch positive Färbung). Auch die Vielfalt der verschiedenen Zelltypen, die in den meisten Gewebeschnitten vorhanden sind, kann dazu beitragen können vom Laboratorium als interne Negativkontrollstellen zur Überprüfung der Leistung des IHC verwendet werden. Spezifikationen. Die Arten und Quellen der Proben, die für negatives Gewebe verwendet werden können. Die Steuerelemente sind im Abschnitt „Leistungsmerkmale“ aufgeführt.

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

Unspezifische Negativreagenzkontrolle:

Verwenden Sie anstelle des Primäntikörpers eine unspezifische Negativreagenzkontrolle mit einem Abschnitt jeder Patientenprobe, um die unspezifische Färbung zu bewerten und ermöglichen eine bessere Interpretation der spezifischen Färbung an der Antigenstelle. Idealerweise enthält eine negative Reagenzkontrolle einen HLA-B [BC43] IgG1 Kappa-Antikörper, der auf die gleiche Weise wie der

Primäntikörper aus Gewebekulturüberstand hergestellt wird, zeigt jedoch keine spezifische Reaktivität mit menschlichen Geweben in derselben Matrix/Lösung wie der Biocare-Antikörper. Verdünnen Sie einen negativen Kontrollantikörper auf die gleiche Immunglobulin- oder Proteinkonzentration wie der verdünnte Primäntikörper. Antikörper unter Verwendung des identischen Verdünnungsmittels. Wenn fötales Kälberserum nach der Verarbeitung im unverdünnten Antikörper zurückbleibt, fötales Kälberserum in einer Proteinkonzentration, die der verdünnten entspricht Primäntikörper im gleichen Verdünnungsmittel sind ebenfalls zur Verwendung geeignet. (Siehe mitgeliefertes Reagenz). Die Verwendung von Verdünnungsmittel allein kann eine weniger wünschenswerte Alternative zu den zuvor beschriebenen negativen Reagenzienkontrollen sein. Die Inkubationszeit der Negativreagenzkontrolle sollte der des Primäntikörpers entsprechen.

Wenn Panels mit mehreren Antikörpern auf Serienschritten verwendet werden, können die negativ gefärbten Bereiche eines Objektträgers als negative/unspezifische Bindungshintergrundkontrolle für andere Antikörper dienen. Um endogene Enzymaktivität oder unspezifische Bindung von Enzymen von spezifischer Immunreaktivität zu unterscheiden, können zusätzliche Patientengewebe ausschließlich mit Substrat-Chromogen oder Enzymkomplexen (PAP, Avidin-Biotin, Streptavidin) bzw. Substrat-Chromogen gefärbt werden.

Assay-Verifizierung:

Vor der erstmaligen Verwendung eines Antikörpers oder Färbesystems in einem diagnostischen Verfahren sollte der Benutzer die Spezifität des Antikörpers überprüfen, indem er ihn an einer Reihe interner Gewebe mit bekannten immunhistochemischen Leistungsmerkmalen testet, die bekanntermaßen positive und negative Gewebe darstellen. Beachten Sie die zuvor in diesem Abschnitt der Produktbeilage beschriebenen Qualitätskontrollverfahren und die Qualitätskontrollempfehlungen des CAP-Zertifizierungsprogramms³ für Immunhistochemie und/oder die NCCLS IHC-Leitlinie¹⁰). Diese Qualitätskontrollverfahren sollten für jede neue Antikörpercharge oder bei jeder Änderung der Testparameter wiederholt werden. Die im Abschnitt „Leistungsmerkmale“ aufgeführten Gewebe sind für die Testverifizierung geeignet.

Fehlerbehebung:

Befolgen Sie die Antikörper-spezifischen Protokollempfehlungen gemäß dem bereitgestellten Datenblatt. Wenn atypische Ergebnisse auftreten, wenden Sie sich unter 1-800-542-2002 an den technischen Support von Biocare.

Interpretation der Färbung:

Positive Gewebekontrolle:

Die mit dem angegebenen Antikörper gefärbte positive Gewebekontrolle sollte zunächst untersucht werden, um sicherzustellen, dass alle Reagenzien ordnungsgemäß funktionieren. Die entsprechende Färbung der Zielzellen (wie oben angegeben) weist auf eine positive Reaktivität hin. Wenn die positiven Gewebekontrollen keine positive Färbung zeigen, sollten alle Ergebnisse mit den Testproben als ungültig betrachtet werden. Die Farbe des Reaktionsprodukts kann abhängig von den verwendeten Substratchromogenen variieren. Informationen zu den erwarteten Farbreaktionen finden Sie in den Packungsbeilagen des Substrats. Darüber hinaus kann bei Variationen der Färbemethode Metachromasie beobachtet werden.¹¹

Wenn eine Gegenfärbung verwendet wird, führt die Gegenfärbung je nach Inkubationsdauer und Wirksamkeit der verwendeten Gegenfärbung zu einer Färbung der Zellkerne. Übermäßiges oder unvollständiges Gegenfärben kann die korrekte Interpretation der Ergebnisse beeinträchtigen. Die empfohlene Gegenfärbung finden Sie im/in den Protokollen.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

62/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

German

BIOCARE
M E D I C A L

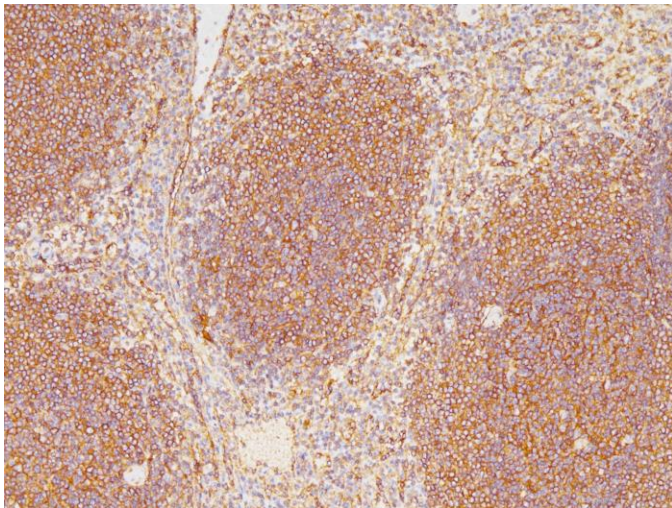
Negative Gewebekontrolle:

Die negative Gewebekontrolle sollte nach der positiven Gewebekontrolle untersucht werden, um die Spezifität der Markierung des Zielantigens durch den Primärantikörper zu überprüfen. Das Fehlen einer spezifischen Färbung in der negativen Gewebekontrolle bestätigt das Fehlen einer Antikörper-Kreuzreaktivität mit Zellen/Zellkomponenten. Wenn bei der negativen externen Gewebekontrolle eine spezifische Färbung (falsch positive Färbung) auftritt, sollten die Ergebnisse mit der Patientenprobe als ungültig betrachtet werden.

Wenn eine unspezifische Färbung vorliegt, wirkt sie normalerweise diffus. In Schnitten aus übermäßig formalinfixiertem Gewebe kann es auch zu sporadischen Verfärbungen des Bindegewebes kommen. Verwenden Sie intakte Zellen zur Interpretation der Färberegebnisse. Nekrotische oder degenerierte Zellen verfärben sich häufig unspezifisch.

Patientengewebe:

Untersuchen Sie Patientenproben, die mit dem angegebenen Antikörper gefärbt sind zuletzt. Die Intensität der positiven Färbung sollte im Zusammenhang mit einer unspezifischen Hintergrundfärbung der negativen Reagenzkontrolle beurteilt werden. Wie bei jedem immunhistochemischen Test bedeutet ein negatives Ergebnis, dass das Antigen nicht nachgewiesen wurde und nicht, dass das Antigen in den untersuchten Zellen/Geweben fehlte. Verwenden Sie bei Bedarf ein Antikörper-Panel, um falsch-negative Reaktionen zu identifizieren.



Mit HLA-B [BC43]-Antikörper gefärbte Milz

Spezifische Informationen zur angegebenen Antikörper-Immunreaktivität finden Sie unter „Zusammenfassung und Erläuterung, Einschränkungen und Leistungsmerkmale“.

Einschränkungen:

Allgemeine Einschränkungen:

1. Für *in vitro* diagnostische Verwendung
2. Dieses Produkt ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt: Die Immunhistochemie ist ein mehrstufiger diagnostischer Prozess, der aus einer speziellen Schulung zur Auswahl der geeigneten Reagenzien besteht; Gewebeauswahl, -fixierung und -verarbeitung; Vorbereitung der IHC-Folie; und Interpretation der Färberegebnisse.
3. Die Gewebefärbung hängt von der Handhabung und Verarbeitung des Gewebes vor der Färbung ab. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren,

Auftauen, Waschen, Trocknen, Erhitzen, Schneiden oder Kontamination mit anderen Geweben oder Flüssigkeiten kann zu Artefakten, Antikörper einschließen oder falsch negativen Ergebnissen führen. Inkonsistente Ergebnisse können auf unterschiedliche Fixierungs- und Einbettungsmethoden oder auf inhärente Unregelmäßigkeiten im Gewebe zurückzuführen sein.¹²

4. Übermäßiges oder unvollständiges Gegenfärben kann die korrekte Interpretation der Ergebnisse beeinträchtigen.
5. Die klinische Interpretation jeder positiven oder negativen Färbung sollte im Kontext des klinischen Erscheinungsbilds, der Morphologie und anderer histopathologischer Kriterien bewertet werden. Die klinische Interpretation jeder positiven oder negativen Färbung sollte durch morphologische Studien unter Verwendung geeigneter positiver und negativer interner und externer Kontrollen sowie anderer diagnostischer Tests ergänzt werden. Es liegt in der Verantwortung eines qualifizierten Pathologen, der mit der ordnungsgemäßen Verwendung von IHC-Antikörpern, Reagenzien und Methoden vertraut ist, alle Schritte zur Vorbereitung und Interpretation der endgültigen IHC-Präparation zu interpretieren.
6. Die optimale Antikörperverdünnung und die Protokolle für eine bestimmte Anwendung können variieren. Dazu gehören unter anderem die Fixierung, die Wärmerückgewinnungsmethode, die Inkubationszeiten, die Dicke des Gewebeschnitts und das verwendete Nachweisskit. Aufgrund der überlegenen Empfindlichkeit dieser einzigartigen Reagenzien gelten die aufgeführten empfohlenen Inkubationszeiten und Titer nicht für andere Nachweissysteme, da die Ergebnisse variieren können. Die Empfehlungen und Protokolle im Datenblatt basieren auf der ausschließlichen Verwendung von Biocare-Produkten. Letztendlich liegt es in der Verantwortung des Forschers, optimale Bedingungen zu ermitteln.
7. Dieses Produkt ist nicht für die Verwendung in der Durchflusszytometrie bestimmt. Für die Durchflusszytometrie wurden keine Leistungsmerkmale ermittelt.
8. Gewebe von Personen, die mit dem Hepatitis-B-Virus infiziert sind und Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAg) enthalten, können eine unspezifische Färbung mit Meerrettichperoxidase aufweisen.¹³
9. Reagenzien können in zuvor nicht getesteten Geweben unerwartete Reaktionen hervorrufen. Die Möglichkeit unerwarteter Reaktionen selbst in getesteten Gewebegruppen kann aufgrund der biologischen Variabilität der Antigenexpression in Neoplasmen oder anderen pathologischen Geweben nicht vollständig ausgeschlossen werden.¹⁴ Kontaktieren Sie den technischen Support von Biocare unter 1-800-542-2002 oder über die technischen Supportinformationen auf biocare.net mit dokumentierten unerwarteten Reaktionen.
10. Normale/nichtimmune Seren aus derselben tierischen Quelle wie sekundäre Antiseren, die in Blockierungsschritten verwendet werden, können aufgrund von Autoantikörpern oder natürlichen Antikörpern zu falsch negativen oder falsch positiven Ergebnissen führen.
11. Falsch positive Ergebnisse können aufgrund einer nicht immunologischen Bindung von Proteinen oder Substratreaktionsprodukten auftreten. Abhängig von der Art der verwendeten Immunfärbung können sie auch durch Pseudoperoxidaseaktivität (Erythrozyten), endogene Peroxidaseaktivität (Cytochrom C) oder endogenes Biotin (z. B. Leber, Brust, Gehirn, Niere) verursacht werden.¹²

Produktspezifische Einschränkungen:

Es sind keine weiteren Einschränkungen bekannt.

Leistungsmerkmale:

Sensitivität, Spezifität und Kreuzreaktivität sind in den Tabellen 1 bzw. 2 zusammengefasst.

Reproduzierbarkeit:

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

63/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

German

BIOCARE
M E D I C A L

Die Reproduzierbarkeit der Antikörperleistung wurde überprüft, indem ausgewähltes Normal- und Tumorgewebe an verschiedenen Tagen und mit verschiedenen Instrumenten von mehreren Bedienern getestet wurde. Die Färbung der ausgewählten Gewebe verlief konsistent und verlief wie erwartet.

Die Reproduzierbarkeit der Färbung innerhalb eines Laufs wurde durch Färben von fünf Geweben, die dasselbe Gewebe enthielten, auf mehreren Instrumenten bestimmt.

Die Reproduzierbarkeit der Färbung zwischen Durchläufen wurde bestimmt, indem fünf Objektträger, die das gleiche Gewebe enthielten, an drei Tagen/Durchläufen auf demselben Gerät gefärbt wurden. Alle Tests wurden mit denselben Ergebnissen gemäß den internen Bewertungsrichtlinien von Biocare bestanden.

Immunreaktivität:

Die folgenden positiven und negativen Immunreaktivitäten wurden in den Tabellen 1 und 2 unten gezeigt.

Die nachstehende Liste erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit, sondern charakterisiert die Arten von Immunreaktivitäten, die mit dem angegebenen Antikörper beobachtet werden.

Zusammenfassung der erwarteten Ergebnisse:

Es wurde festgestellt, dass dieser Antikörper mit allen Arten von Geweben, an denen er getestet wurde, immunreaktiv ist, einschließlich aller Arten von Lymphomen und normalem menschlichem Gewebe. Die Färbung ist überwiegend membranös, kann aber in Proben mit hoher Expression auch zytoplasmatisch erscheinen. Die Färbung ist überwiegend in Endothelzellen und Lymphozyten vorhanden, wobei die Prävalenz in Epithelzellen in einigen Geweben geringer ist.

Hoden	5	5
Schilddrüse	3	3
Brust	2	2
Milz	4	4
Mandel	3	3
Thymusdrüse	3	3
Knochenmark	3	3
Lunge	3	3
Herz	3	3
Speiseröhre	3	3
Magen	2	3
Dünndarm	3	3
Doppelpunkt	3	3
Leber	3	3
Speicheldrüse	3	3
Niere	3	3
Prostata	3	3
Gebärmutter	3	3
Gebärmutterhals	3	3
Skelettmuskulatur	2	3
Haut	2	2
Peripherer Nerv	3	3
Auskleidung von Zellen	2	2
Auge	3	3
Larynx	3	3

Tabelle 1: Sensitivität und Spezifität wurden durch Testen von formalinfixiertem, in Paraffin eingebettetem erkranktem Gewebe bestimmt.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Tabelle 2: Die Kreuzreaktivität des Gewebes wurde durch Testen formalinfixierter, in Paraffin eingebetteter normaler Gewebe bestimmt.

Gewebe	Positive Fälle	Gesamtzahl der Fälle
Großhirn	5	6
Kleinhirn	3	3
Adrenalin	3	3
Eierstock	2	3
Pankreas	3	3
Lymphknoten	3	3
Luftröhre	3	3

Fehlerbehebung:

- Keine Färbung der Objektträger – Überprüfen Sie, ob geeignetes positives Kontrollgewebe, Antikörper und Nachweisprodukte verwendet wurden.
- Schwache Färbung aller Objektträger – Überprüfen Sie, ob geeignetes positives Kontrollgewebe, Antikörper und Nachweisprodukte verwendet wurden.
- Übermäßiger Hintergrund auf allen Objektträgern – Es können hohe Mengen an endogenem Biotin (bei Verwendung biotinbasierter Nachweisprodukte), endogene HRP-Aktivität, die Chromogen in ein farbiges Endprodukt umwandelt (Peroxidase-Block verwenden), oder übermäßige unspezifische Proteininteraktion (Verwendung eines Proteins) vorhanden sein (z. B. eine Serum- oder Casein-basierte Blockierungslösung).
- Gewebeschnitte werden während der Inkubation von den Objektträgern abgewaschen – Überprüfen Sie die Objektträger, um sicherzustellen, dass sie positiv geladen sind.
- Spezifische Färbung zu dunkel – Überprüfen Sie das Protokoll, um festzustellen, ob der richtige Antikörpertiter auf den Objektträger aufgetragen wurde und ob die Inkubationszeiten für alle Reagenzien korrekt sind. Stellen Sie außerdem sicher, dass das Protokoll genügend Waschschriffe enthält, um überschüssige Reagenzien nach Abschluss der Inkubationsschritte zu entfernen.

Verweise:

- Kiernan JA. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*. New York: Pergamon Press 1981.
- Sheehan DC and Hrapchak BB. *Theory and Practice of Histotechnology*. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
- Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

64/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

German

BIOCARE
M E D I C A L

4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. Curr Opin Immunol. 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. J Immunol. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Ultraline-Antikörper werden ausschließlich von Biocare Medical LLC entwickelt und bedeuten nicht die Genehmigung oder Empfehlung von Biocare-Antikörpern durch Ventana Medical Systems, Inc oder Roche. Biocare, Ventana und Roche sind in keiner Weise verbunden, verbunden oder verbunden. Ventana®, BenchMark®, ultraView und OptiView sind Marken von Roche.

Antikörper der Q-Serie werden ausschließlich von Biocare Medical LLC entwickelt und bedeuten keine Genehmigung oder Empfehlung von Biocare-Antikörpern durch Leica Biosystems. Biocare und Leica Biosystems sind in keiner Weise verbunden oder verbunden. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX und BOND-III sind Marken von Leica Biosystems.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Greek

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Προβλεπόμενη χρήση:

Gain *in vitro* Διαγνωστική χρήση

Το HLA-B [BC43] είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού που προορίζεται για εργαστηριακή χρήση αφού έχει γίνει η αρχική διάγνωση του όγκου με συμβατική ιστοπαθολογία χρησιμοποιώντας μη ανοσολογικές ιστοχημικές κηλίδες, για την ποιοτική ανανώριση του HLA-B πρωτεΐνης με ανοσοϊστοχημεία (IHC) σε ανθρώπινους ιστούς με φορμαλίνη ενσωματωμένους σε παραφίνη (FFPE). Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες με χρήση κατάλληλων ελέγχων και θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολόγο ως βοήθημα στη λήψη τυχόν άλλων κλινικών προσδιορισμών.

Περίληψη και Επεξήγηση:

Το HLA-B είναι ένα εξαιρετικά πολυμορφικό πρωτεϊνικό γονίδιο που κωδικοποιεί το κύριο σύμπλεγμα κατηγορίας I ιστοσυμβατότητας (MHC-I).¹⁵ Τα μόρια MHC τάξης I εκφράζονται στην κυτταρική επιφάνεια, δεσμεύοντας και παρουσιάζοντας αντιγονικά πεπτιδία στα CD8+ T λεμφοκύτταρα για να μεσολαβήσουν στις ανοσολογικές αποκρίσεις έναντι των ενδοκυτταρικών παθογόνων και των καρκίνων.¹⁶

Αρχή Διαδικασίας:

Αυτό το προϊόν αντισώματος μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως το πρωτεύον αντίσωμα σε δοκιμές ανοσοϊστοχημείας τμημάτων ιστού μονιμοποιημένων με φορμαλίνη, ενσωματωμένων σε παραφίνη. Γενικά, η ανοσοϊστοχημική (IHC) οι τεχνικές χρώσης επιτρέπουν την οπτικοποίηση των αντιγόνων μέσω της διαδοχικής εφαρμογής του ειδικού αντισώματος στο αντιγόνο (πρωτεύον αντίσωμα), ένα δευτερεύον αντίσωμα στο πρωτεύον αντίσωμα (προαιρετικό αντίσωμα σύνδεσης/ανιχνευτής), ένα σύμπλεγμα ενζύμων και ένα χρωμογόνο υπόστρωμα με παρεμβαλλόμενα στάδια έκπλυσης. Η ενζυματική ενεργοποίηση του χρωμογόνου έχει ως αποτέλεσμα ένα ορατό προϊόν αντίδρασης στη θέση του αντιγόνου. Στη συνέχεια, το δείγμα μπορεί να αντιχρωματιστεί και να γλιστρήσει το κάλυμμα. Τα αποτελέσματα ερμηνεύονται χρησιμοποιώντας ένα φως μικροσκόπιο και βοήθεια στη διαφορική διάγνωση παθοφυσιολογικών διεργασιών, που μπορεί ή μπορεί να μην σχετίζεται με ένα συγκεκριμένο αντιγόνο.

Υλικά και μέθοδοι:

Παρεχόμενα αντιδραστήρια:

Πηγή οικοδεσπότη: Ποντίκι μονοκλωνικό

Αντιδραστικότητα είδους: Ο άνθρωπος; άλλα είδη που δεν έχουν δοκιμαστεί.

Κλωνοποίηση: π.Χ.43

Ισότυπος: IgG1 κάπα

Συγκέντρωση πρωτεΐνης: Ανατρέξτε στην ετικέτα του φιαλιδίου για συγκεκριμένη συγκέντρωση.

Ειδική συγκέντρωση IgG: Επικοινωνήστε με την τεχνική υποστήριξη της Biocare

Ειδικότητα: HLA-B

Εντοπισμός κινητής τηλεφωνίας: Κυτταρική μεμβράνη

Μέθοδος: Μονόκλωνο ποντικού καθαρισμένο με συγγένεια

Ανασύσταση, ανάμειξη, αραιώση, τιτλοδότηση:

Το προαραιωμένο αντιδραστήριο αντισώματος αραιώνεται βέλτιστα για χρήση με τα παραπάνω αναφερόμενα συστήματα χρώσης. Περαιτέρω αραιώση μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια χρώσης αντιγόνου. Περαιτέρω αραιώση μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια χρώσης αντιγόνου. Ο χρήστης πρέπει να επικυρώσει οποιαδήποτε τέτοια αλλαγή. Διαφορές στην επεξεργασία ιστών και στις τεχνικές διαδικασίες στο εργαστήριο του χρήστη μπορεί να προκαλέσει σημαντική διακύμανση στα αποτελέσματα που απαιτούν την τακτική εκτέλεση εσωτερικών ελέγχων (βλ. ενότητα Ποιοτικός έλεγχος).

Το συμπυκνωμένο αντιδραστήριο απαιτεί αραιώση όπως υποδεικνύεται στον παραπάνω πίνακα.

Γνωστές εφαρμογές:

Ανοσοϊστοχημεία (ιστοί ενσωματωμένοι σε παραφίνη σταθεροποιημένοι με φορμαλίνη)

Παρέχεται ως: Ρυθμισμένο αλατούχο διάλυμα, 5.9-7.4, που περιέχει έναν φορέα πρωτεΐνης και λιγότερο από 0,1% συντηρητικό αζίδου του νατρίου. Δείτε το Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας για πρόσθετες λεπτομέρειες.

Υλικά και αντιδραστήρια που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται:

Το μικροσκόπιο ολισθαίνει θετικά φορτισμένο.

Θετικοί και αρνητικοί έλεγχοι ιστών

Desert Chamber (ή παρόμοιος φούρνος στεγνώματος)

Ξυλόλιο ή υποκατάστατο Ξυλόλιου

Αιθανόλη ή αλκοόλη αντιδραστήριου

Θάλαμος αποκάλυψης (χύτερα ταχύτητας)

Απιονισμένο ή απεσταγμένο νερό

Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης

Αντιδραστήρια προεπεξεργασίας

Μπλοκ υπεροξειδάσης

Μπλοκ πρωτεΐνης (προαιρετικό)

Ανιχνευτής ανίχνευσης και πολυμερές

Αντιδραστήρια αρνητικού ελέγχου

Χρωμόνονα

Αιματοξυλίνη (αντίχρηση)

Μπλε αντιδραστήριο

Μέσο τοποθέτησης

Κάλυμμα

Μικροσκόπιο φωτός (μεγέθυνση 40-400X)

*Διαμορφώσεις του προϊόντος αντισώματος είναι διαθέσιμες για χρήση στα όργανα που υποδεικνύονται στον παραπάνω πίνακα.

Αποθήκευση και σταθερότητα:

Φυλάσσεται στους 2°C έως 8°C. Το προϊόν είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του φιαλιδίου, όταν φυλάσσεται υπό αυτές τις συνθήκες. Να μη χρησιμοποιείται μετά την ημερομηνία λήξης. Η αποθήκευση υπό οποιοσδήποτε συνθήκες εκτός από αυτές που καθορίζονται πρέπει να επαληθεύεται. Τα αραιωμένα αντιδραστήρια θα πρέπει να χρησιμοποιούνται αμέσως. φυλάξτε τυχόν υπολειπόμενο αντιδραστήριο στους 2°C έως 8°C. Η σταθερότητα του αντιδραστήριου αραιωμένου χρήστη δεν έχει τεκμηριωθεί από τη Biocare.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

66/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Greek

BIOCARE
M E D I C A L

Οι θετικοί και οι αρνητικοί μάρτυρες θα πρέπει να εκτελούνται ταυτόχρονα με όλα τα δείγματα ασθενών. Εάν παρατηρηθεί απροσδόκητη χρώση που δεν μπορεί να εξηγηθεί από διαφορές στις εργαστηριακές διαδικασίες και υπάρχει υποψία για πρόβλημα με το αντίσωμα, επικοινωνήστε με την Τεχνική Υποστήριξη της Biocare στο 1-800-542-2002 ή μέσω των πληροφοριών τεχνικής υποστήριξης που παρέχονται στο biocare.net.

Προετοιμασία δείγματος:

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

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

Θεραπεία ιστών πριν από τη χρώση:

Εκτελέστε Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) σύμφωνα με το προτεινόμενο πρωτόκολλο παρακάτω. Η τακτική χρήση του HIER πριν από την IHC έχει αποδειχθεί ότι ελαχιστοποιεί την ασυνέπεια και τυποποιεί τη χρώση.^{4,5}

Προειδοποίηση και προφυλάξεις:

1. Αυτό το αντίσωμα περιέχει λιγότερο από 0,1% αζίδιο του νατρίου. Οι συγκεντρώσεις μικρότερες από 0,1% δεν είναι επικίνδυνα υλικά που μπορούν να αναφερθούν σύμφωνα με το 29 CFR 1910.1200 των ΗΠΑ, την ανακοίνωση κινδύνου OSHA και την Οδηγία 91/155/EK της ΕΚ. Αζίδιο του νατρίου (NaN₃) χρησιμοποιείται ως συντηρητικό είναι τοξικό εάν καταποθεί. Το αζίδιο του νατρίου μπορεί να αντιδράσει με τις υδραυλικές εγκαταστάσεις μολύβδου και χαλκού για να σχηματίσει εξαιρετικά εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Μετά την απόρριψη, ξεπλύνετε με μεγάλες ποσότητες νερού για να αποτρέψετε τη συσσώρευση αζιδίων στις υδραυλικές εγκαταστάσεις. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶
2. Τα δείγματα, πριν και μετά τη στερέωση, και όλα τα υλικά που εκτίθενται σε αυτά θα πρέπει να αντιμετωπίζονται σαν να είναι ικανά να μεταδώσουν μόλυνση και να απορρίπτονται με τις κατάλληλες προφυλάξεις. Ποτέ μην μεταφέρετε τα αντιδραστήρια με πιπέτα από το στόμα και αποφύγετε την επαφή του δέρματος και των βλεννογόνων με αντιδραστήρια και δείγματα. Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έρθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφθονη ποσότητα νερού.⁷
3. Η μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της μη ειδικής χρώσης.
4. Χρόνοι επώασης ή θερμοκρασίες διαφορετικές από αυτές που καθορίζονται μπορεί να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Ο χρήστης πρέπει να επικυρώσει οποιαδήποτε τέτοια αλλαγή.
5. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο φιαλίδιο.
6. Το προαραιωμένο αντιδραστήριο αντισώματος αραιώνεται βέλτιστα για χρήση. Περαιτέρω αραιώση μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια χρώσης αντιγόνου.
7. Η αραιώση του συμπυκνωμένου αντιδραστηρίου αντισώματος πρέπει να επικυρωθεί πριν από τη χρήση. Κάθε χρησιμοποιούμενο αραιωτικό που δεν συνιστάται ειδικά πρέπει επίσης να επικυρώνεται για συμβατότητα και σταθερότητα.
8. Το SDS είναι διαθέσιμο κατόπιν αιτήματος και βρίσκεται στη διεύθυνση <http://biocare.net>.

Οδηγίες χρήσης:

Συνιστώμενα πρωτόκολλα χρώσης για HLA-B [BC43]:

IntelliPATH FLX και χειροκίνητη χρήση:

Το API3289 για IntelliPATH FLX και χειροκίνητη χρήση, έχει τυποποιηθεί με MACH 4 σύστημα ανίχνευσης. Χρησιμοποιήστε TBS για τα βήματα πλυσίματος.	
Peroxide Block:	Αποκλείστε για 5 λεπτά με Peroxidized 1.
Pretreatment:	Εκτελέστε ανάκτηση θερμότητας χρησιμοποιώντας το Reveal Decloaker. Ανατρέξτε στο φύλλο δεδομένων Reveal Decloaker για συγκεκριμένες οδηγίες.
Protein Block (Optional):	Επώαση για 5-10 λεπτά σε RT με Background Punisher.
Primary Antibody:	Επώαση για 30 λεπτά σε ΘΔ.
Detection:	Ανιχνευτής: Επώαση για 10 λεπτά σε ΘΔ με ένα δευτερεύον πολυμερές. Πολυμερές: Επώαση για 20 λεπτά σε ΘΔ με τριτοταγές πολυμερές.
Chromogen:	Επώαση για 5 λεπτά σε RT με το DAB της Biocare – 'H – Επώαση για 5-7 λεπτά σε RT με Warp Red.
Counterstain:	Αντίχρωση με αιματοξυλίνη. Ξεπλύνετε με απιονισμένο νερό. Εφαρμόστε Tacha's Blueing Solution για 1 λεπτό. Ξεπλύνετε με απιονισμένο νερό.

Αυτοματοποιημένο σύστημα χρώσης διαφανειών ONCORE Pro:

Το OPAI3289 προορίζεται για χρήση με το ONCORE Pro. Ανατρέξτε στο Εγχειρίδιο χρήστη για συγκεκριμένες οδηγίες χρήσης. Οι παράμετροι πρωτοκόλλου στον Επεξεργαστή Πρωτοκόλλου θα πρέπει να προγραμματιστούν ως εξής:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Πρότυπο Ms HRP 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, χαμηλό pH; 101NTO
Block Option:	Ρυθμιστής
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 λεπτά, 25°C

Ventana BenchMark ULTRA:

Το AVI3289 προορίζεται για χρήση με το BenchMark ULTRA. Ανατρέξτε στο Εγχειρίδιο χρήστη για συγκεκριμένες οδηγίες χρήσης. Οι συνιστώμενες παράμετροι πρωτοκόλλου είναι οι εξής:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 λεπτά
Peroxidase:	Προ-πρωτογενής αναστολέας υπεροξειδάσης
Primary Antibody:	8 λεπτά, 36°C

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Greek

BIOCARE
M E D I C A L

Σειρά Q – Για Leica BOND-III:

Το ALI3289 προορίζεται για χρήση με το Leica BOND-III. Ανατρέξτε στο Εγχειρίδιο χρήστη για συγκεκριμένες οδηγίες χρήσης. Οι συνιστώμενες παράμετροι πρωτοκόλλου είναι οι εξής:

Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	Πρωτόκολλο IHC F
Detection:	Bond Polymer Refine
HIER:	10 λεπτά με ER1
Peroxide Block:	5 λεπτά
Marker (Primary Antibody):	15 λεπτά
Post Primary:	8 λεπτά
Polymer:	8 λεπτά
Mixed Chromogen Refine:	10 λεπτά
Hematoxylin:	5 λεπτά

Ελεγχος ποιότητας:

Ανατρέξτε στα πρότυπα ποιότητας του CLSI για τον σχεδιασμό και την εφαρμογή αναλύσεων ανοσοϊστοχημείας. Εγκεκριμένη Οδηγία-Δεύτερη έκδοση (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA ΗΠΑ (www.clsi.org). 2011*

Θετικός έλεγχος ιστού: Παρωτίδα

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

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

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

Αρνητικός έλεγχος ιστού:

Χρησιμοποιήστε έναν αρνητικό μάρτυρα ιστού (γνωστό ότι είναι αρνητικός HLA-B) σταθεροποιημένος, επεξεργασμένος και ενσωματωμένος με τρόπο πανομοιότυπο με το(α) δείγμα(α) ασθενούς με κάθε διαδικασία χρώσης για να επαληθεύσετε την ειδικότητα του πρωτογενούς αντισώματος IHC για επίδειξη του αντιγόνου στόχου και για παροχή ένδειξης ειδικής χρώσης υποβάθρου (ψευδώς θετική χρώση). Επίσης, η ποικιλία διαφορετικών τύπων κυττάρων που υπάρχουν στα περισσότερα τμήματα ιστού μπορεί να χρησιμοποιηθούν από τον εργαστήριο ως εσωτερικές θέσεις αρνητικού ελέγχου για την επαλήθευση της απόδοσης του IHC Προδιαγραφές. Οι τύποι και οι πηγές των δειγμάτων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για αρνητικό ιστό Τα στοιχεία ελέγχου παρατίθενται στην ενότητα Χαρακτηριστικά απόδοσης.

Εάν εμφανιστεί ειδική χρώση (ψευδώς θετική χρώση) στον αρνητικό μάρτυρα ιστού, τα αποτελέσματα με τα δείγματα ασθενών θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

Μη ειδικός αρνητικός έλεγχος αντιδραστήριου:

Χρησιμοποιήστε έναν μη ειδικό μάρτυρα αρνητικού αντιδραστήριου στη θέση του πρωτογενούς αντισώματος με μια τομή από κάθε δείγμα ασθενούς για να αξιολογήσετε τη μη ειδική χρώση και επιτρέψουν την καλύτερη ερμηνεία της ειδικής χρώσης στη θέση του αντιγόνου. Στην ιδανική περίπτωση, ένας αρνητικός μάρτυρας αντιδραστήριου περιέχει ένα αντισώμα HLA-B [BC43] IgG1 Kappa που παράγεται από υπερκείμενο υγρό καλλιέργειας ιστών με τον ίδιο τρόπο όπως το πρωτεύον αντισώμα, αλλά δεν παρουσιάζει ειδική αντιδραστικότητα με ανθρώπινους ιστούς στην ίδια μήτρα/διάλυμα με το Biocare αντισώμα. Αραιώστε ένα αντισώμα αρνητικού μάρτυρα στην ίδια συγκέντρωση ανοσοσφαιρίνης ή πρωτεΐνης με το αραιωμένο πρωτογενές αντισώμα χρησιμοποιώντας το ίδιο αραιωτικό. Εάν ο εμβρυϊκός ορός μόσχου διατηρείται στο καθαρό αντισώμα μετά την επεξεργασία, ο ορός εμβρύου μόσχου σε συγκέντρωση πρωτεΐνης ισοδύναμη με την αραιωμένη Το πρωτογενές αντισώμα στο ίδιο αραιωτικό είναι επίσης κατάλληλο για χρήση. (Ανατρέξτε στο παρεχόμενο αντιδραστήριο). Το αραιωτικό μόνο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως λιγότερο επιθυμητή εναλλακτική λύση στα προηγούμενα περιγραφέντα αρνητικά αντιδραστήρια ελέγχου. Η περίοδος επώασης για τον αρνητικό μάρτυρα αντιδραστήριου πρέπει να αντιστοιχεί σε αυτή του πρωτογενούς αντισώματος.

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

Επαλήθευση δοκιμασίας:

Πριν από την αρχική χρήση ενός αντισώματος ή συστήματος χρώσης σε μια διαγνωστική διαδικασία, ο χρήστης θα πρέπει να επαληθεύσει την ειδικότητα του αντισώματος δοκιμάζοντας το σε μια σειρά εσωτερικών ιστών με γνωστά ανοσοϊστοχημικά χαρακτηριστικά απόδοσης που αντιπροσωπεύουν γνωστούς θετικούς και αρνητικούς ιστούς. Ανατρέξτε στις διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου που περιγράφηκαν προηγουμένως σε αυτήν την ενότητα του ένθετου προϊόντος και στις συστάσεις ποιοτικού ελέγχου του προγράμματος πιστοποίησης CAP® για την ανοσοϊστοχημεία και/ή την κατευθυντήρια γραμμή NCCLS IHC®). Αυτές οι διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου θα πρέπει να επαναλαμβάνονται για κάθε νέα παρτίδα αντισωμάτων ή όποτε υπάρχει αλλαγή στις παραμέτρους της ανάλυσης. Οι ιστοί που αναφέρονται στην Ενότητα Χαρακτηριστικά Απόδοσης είναι κατάλληλοι για επαλήθευση της ανάλυσης.

Αντιμετώπιση προβλημάτων:

Ακολουθήστε τις συστάσεις του ειδικού πρωτοκόλλου για τα αντισώματα σύμφωνα με το παρεχόμενο φύλλο δεδομένων. Εάν προκύψουν άτυπα αποτελέσματα, επικοινωνήστε με την Τεχνική Υποστήριξη της Biocare στο 1-800-542-2002.

Ερμηνεία της χρώσης:

Θετικός έλεγχος ιστού:

Ο θετικός μάρτυρας ιστού που έχει χρωματιστεί με ενδεικνυόμενο αντισώμα θα πρέπει να εξεταστεί πρώτα για να διαπιστωθεί ότι όλα τα αντιδραστήρια λειτουργούν σωστά. Η κατάλληλη χρώση των κυττάρων-στόχων (όπως υποδεικνύεται παραπάνω) είναι ενδεικτική της θετικής αντιδραστικότητας. Εάν οι θετικοί μάρτυρες ιστού αποτύχουν να επιδείξουν θετική χρώση, τυχόν

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Greek

BIOCARE
M E D I C A L

αποτελέσματα με τα δείγματα δοκιμής θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα. Το χρώμα του προϊόντος αντίδρασης μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με τα χρωμογόνα του υποστρώματος που χρησιμοποιούνται. Ανατρέξτε στα ένθετα συσκευασίας του υποστρώματος για τις αναμενόμενες χρωματικές αντιδράσεις. Περαιτέρω, μεταχρωμασία μπορεί να παρατηρηθεί σε παραλλαγές της μεθόδου χρώσης.¹¹

Όταν χρησιμοποιείται αντιχρώση, ανάλογα με το μήκος επώασης και την ισχύ της αντιχρώσης που χρησιμοποιείται, η αντιχρώση θα οδηγήσει σε χρωματισμό των κυτταρικών πυρήνων. Η υπερβολική ή ατελής αντιχρώση μπορεί να θέσει σε κίνδυνο τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Ανατρέξτε στο(α) πρωτόκολλο(α) για προτεινόμενη αντιχρώση.

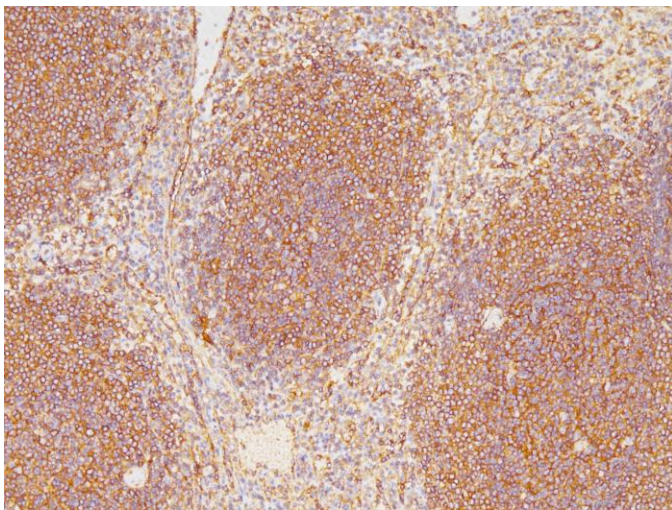
Αρνητικός έλεγχος ιστού:

Ο αρνητικός μάρτυρας ιστού θα πρέπει να εξετάζεται μετά τον θετικό μάρτυρα ιστού για να επαληθευτεί η ειδικότητα της επισήμανσης του αντιγόνου στόχου από το πρωτεΐον αντίσωμα. Η απουσία ειδικής χρώσης στον αρνητικό έλεγχο ιστού επιβεβαιώνει την έλλειψη διασταυρούμενης αντιδραστικότητας αντισώματος σε κύτταρα/κυτταρικά συστατικά. Εάν εμφανιστεί ειδική χρώση (ψευδώς θετική χρώση) στον αρνητικό εξωτερικό μάρτυρα ιστού, τα αποτελέσματα με το δείγμα ασθενούς θα πρέπει να θεωρηθούν άκυρα.

Η μη ειδική χρώση, εάν υπάρχει, έχει συνήθως διάχυτη εμφάνιση. Σποραδική χρώση του συνδέσμου ιστού μπορεί επίσης να παρατηρηθεί σε τομές από υπερβολικά στερεωμένους με φορμαλίνη ιστούς. Χρησιμοποιήστε άθικτα κύτταρα για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων χρώσης. Τα νεκρωτικά ή εκφυλισμένα κύτταρα συχνά χρωματίζονται μη ειδικά.

Ιστός ασθενούς:

Εξετάστε δείγματα ασθενών που έχουν χρωματιστεί με ενδεικνυόμενο αντίσωμα τελευταίος. Η θετική ένταση χρώσης θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο οποιασδήποτε μη ειδικής χρώσης υποβάθρου του αρνητικού αντιδραστήριου ελέγχου. Όπως με κάθε ανοσοϊστοχημική δοκιμή, ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το αντιγόνο δεν ανιχνεύθηκε, όχι ότι το αντιγόνο απουσίαζε στα κύτταρα/ιστό που προσδιορίστηκαν. Εάν είναι απαραίτητο, χρησιμοποιήστε μια ομάδα αντισωμάτων για τον εντοπισμό ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων.



Σπλήνας χρωματισμένος με αντίσωμα HLA-B [BC43]

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

Περιορισμοί:

Γενικοί περιορισμοί:

1. Για *in vitro* διαγνωστική χρήση
2. Αυτό το προϊόν προορίζεται μόνο για επαγγελματική χρήση: Η ανοσοϊστοχημεία είναι μια διαγνωστική διαδικασία πολλαπλών σταδίων που αποτελείται από εξειδικευμένη εκπαίδευση στην επιλογή των κατάλληλων αντιδραστηρίων. επιλογή, στερέωση και επεξεργασία ιστού. προετοιμασία της διαφάνειας IHC. και ερμηνεία των αποτελεσμάτων χρώσης.
3. Η χρώση του ιστού εξαρτάται από τον χειρισμό και την επεξεργασία του ιστού πριν από τη χρώση. Η ακατάλληλη στερέωση, κατάψυξη, απόψυξη, πλύσιμο, στέγνωμα, θέρμανση, κοπή ή μόλυνση με άλλους ιστούς ή υγρά μπορεί να προκαλέσει τεχνουργήματα, παγίδευση αντισωμάτων ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Τα ασυνεπή αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται σε παραλλαγές στις μεθόδους στερέωσης και ενσωμάτωσης ή σε εγγενείς ανωμαλίες εντός του ιστού.¹²
4. Η υπερβολική ή ατελής αντιχρώση μπορεί να θέσει σε κίνδυνο τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων.
5. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε θετικής ή αρνητικής χρώσης θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο της κλινικής εικόνας, της μορφολογίας και άλλων ιστοπαθολογικών κριτηρίων. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε θετικής ή αρνητικής χρώσης θα πρέπει να συμπληρώνεται από μορφολογικές μελέτες με χρήση κατάλληλων θετικών και αρνητικών εσωτερικών και εξωτερικών μαρτύρων καθώς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων. Η ερμηνεία όλων των βημάτων που χρησιμοποιούνται για την προετοιμασία και την ερμηνεία του τελικού παρασκευάσματος IHC είναι ευθύνη ενός ειδικευμένου παθολόγου που είναι εξοικειωμένος με τη σωστή χρήση των αντισωμάτων, των αντιδραστηρίων και των μεθόδων IHC.
6. Η βέλτιστη αραίωση αντισωμάτων και τα πρωτόκολλα για μια συγκεκριμένη εφαρμογή μπορεί να διαφέρουν. Αυτά περιλαμβάνουν, ενδεικτικά τη στερέωση, τη μέθοδο ανάκτησης θερμότητας, τους χρόνους επώασης, το πάχος του τμήματος ιστού και το kit ανίχνευσης που χρησιμοποιείται. Λόγω της ανώτερης ευαισθησίας αυτών των μοναδικών αντιδραστηρίων, οι συνιστώμενοι χρόνοι επώασης και οι τίτλοι που αναφέρονται δεν ισχύουν για άλλα συστήματα ανίχνευσης, καθώς τα αποτελέσματα ενδέχεται να διαφέρουν. Οι συστάσεις και τα πρωτόκολλα του δελτίου δεδομένων βασίζονται στην αποκλειστική χρήση των προϊόντων Biocare. Τελικά, είναι ευθύνη του ερευνητή να καθορίσει τις βέλτιστες συνθήκες.
7. Αυτό το προϊόν δεν προορίζεται για χρήση στην κυτταρομετρία ροής. Τα χαρακτηριστικά απόδοσης δεν έχουν προσδιοριστεί για την κυτταρομετρία ροής.
8. Οι ιστοί από άτομα μολυσμένα με τον ιό της ηπατίτιδας Β και που περιέχουν επιφανειακό αντιγόνο ηπατίτιδας Β (HBsAg) μπορεί να εμφανίσουν μη ειδική χρώση με υπεροξειδάση χρένου.¹³
9. Τα αντιδραστήρια μπορεί να παρουσιάσουν απροσδόκητες αντιδράσεις σε ιστούς που δεν είχαν δοκιμαστεί προηγουμένως. Η πιθανότητα απροσδόκητων αντιδράσεων ακόμη και σε δοκιμασμένες ομάδες ιστών δεν μπορεί να εξαλειφθεί πλήρως λόγω της βιολογικής μεταβλητότητας της έκφρασης αντιγόνου σε νεοπλάσματα ή άλλους παθολογικούς ιστούς.¹⁴ Επικοινωνήστε με την τεχνική υποστήριξη της Biocare στο 1-800-542-2002 ή μέσω των πληροφοριών τεχνικής υποστήριξης που παρέχονται στο biocare.net, με τεκμηριωμένες απροσδόκητες αντιδράσεις.
10. Φυσιολογικοί/μη-άνοσοι οροί από την ίδια ζωική πηγή με τους δευτερογενείς αντιορούς που χρησιμοποιούνται στα βήματα αποκλεισμού μπορεί να προκαλέσουν ψευδώς αρνητικά ή ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω αυτοαντισωμάτων ή φυσικών αντισωμάτων.
11. Εσφαλμένα θετικά αποτελέσματα μπορεί να παρατηρηθούν λόγω μη ανοσολογικής δέσμησης πρωτεϊνών ή προϊόντων αντίδρασης υποστρώματος. Μπορεί επίσης να προκληθούν από δραστηριότητα ψευδο-υπεροξειδάσης (ερυθροκύτταρα), ενδογενή δραστηριότητα υπεροξειδάσης (κυτόχρωμα C) ή ενδογενή βιοτίνη (π.χ. ήπαρ, μαστός,

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Greek

BIOCARE
M E D I C A L

εγκέφαλος, νεφρός) ανάλογα με τον τύπο της ανοσοχρήσης που χρησιμοποιείται.¹²

Ειδικό περιορισμό προϊόντος:

Δεν υπάρχουν γνωστοί πρόσθετοι περιορισμοί.

Χαρακτηριστικά απόδοσης:

Η ευαισθησία, η ειδικότητα και η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα συνοψίζονται στους Πίνακες 1 και 2, αντίστοιχα.

Αναπαραγωγιμότητα:

Η αναπαραγωγιμότητα της απόδοσης των αντισωμάτων επαληθεύτηκε με δοκιμή επιλεγμένου φυσιολογικού και όγκου ιστού σε διάφορες ημέρες και σε διάφορα όργανα με πολλούς χειριστές. Η χρώση των επιλεγμένων ιστών ήταν συνεπής και πραγματοποιήθηκε όπως αναμενόταν.

Η αναπαραγωγιμότητα της χρώσης εντός της διαδικασίας προσδιορίστηκε με χρώση πέντε ιστών που περιέχουν τον ίδιο ιστό σε πολλαπλά όργανα.

Η αναπαραγωγιμότητα της χρώσης κατά τη διάρκεια της διαδικασίας προσδιορίστηκε με χρώση πέντε πλακών που περιείχαν τον ίδιο ιστό σε τρεις ημέρες/διαδρομές στο ίδιο όργανο. Όλες οι δοκιμές πέρασαν με τις ίδιες βαθμολογίες, όπως ορίζονται από τις εσωτερικές οδηγίες βαθμολόγησης της Biocare.

Ανοσοαντιδραστικότητα:

Οι ακόλουθες θετικές και αρνητικές ανοσοαντιδρασότητες έχουν καταδειχθεί στους Πίνακες 1 και 2 παρακάτω.

Ο κατάλογος που παρέχεται παρακάτω δεν είναι εξαντλητικός αλλά χαρακτηρίζει τους τύπους ανοσοαντιδραστικότητας που παρατηρούνται με το υποδεικνυόμενο αντισώμα.

Σύνοψη των αναμενόμενων αποτελεσμάτων:

Αυτό το αντίσωμα βρέθηκε ότι είναι ανοσοαντιδραστικό με όλους τους τύπους ιστών στους οποίους δοκιμάστηκε, συμπεριλαμβανομένων όλων των τύπων λεμφωμάτων και φυσιολογικού ανθρώπινου ιστού. Η χρώση είναι κυρίως μεμβρανώδης αλλά μπορεί επίσης να εμφανιστεί κυτταροπλασματική όταν βρίσκεται σε δείγματα υψηλής έκφρασης. Η χρώση είναι παρούσα κυρίως σε ενδοθηλιακά κύτταρα και λεμφοκύτταρα με χαμηλότερο επιπολασμό στα επιθηλιακά κύτταρα σε ορισμένους ιστούς.

Τραπέζι 1: Η ευαισθησία και η εξειδίκευση προσδιορίστηκαν με έλεγχο μονιμοποιημένων με φορμαλίνη, ενσωματωμένων σε παραφίνη ασθενών ιστών.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Πίνακας 2: Η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα του ιστού προσδιορίστηκε με δοκιμή φυσιολογικών ιστών μονιμοποιημένων με φορμαλίνη, ενσωματωμένων σε παραφίνη.

Ιστός	Θετικές περιπτώσεις	Σύνολο υποθέσεων
Εγκέφαλος	5	6
Παρεγκεφαλίτιδα	3	3
Επινεφρίδιος	3	3
Ωοθήκη	2	3
Παγκρέας	3	3
Λεμφαδένας	3	3
Τραχεία	3	3
Ορχις	5	5
Θυροειδής	3	3
Στήθος	2	2
Σπλήνα	4	4
Παρωτίδα	3	3
Θύμος	3	3
Μυελός των οστών	3	3
Πνεύμονας	3	3
Καρδιά	3	3
Οισοφάγος	3	3
Στομάχι	2	3
Το λεπτό έντερο	3	3
Ανω κάτω τελεία	3	3
Συκώτι	3	3
Σιελογόνος Αδένας	3	3
Νεφρό	3	3
Προστάτης	3	3
Μήτρα	3	3
Τράχηλος της μήτρας	3	3
Σκελετικός μυς	2	3
Δέρμα	2	2
Περιφερικό νεύρο	3	3
Επενδυτικά κύτταρα	2	2
Μάτι	3	3
Λάρυγγας	3	3

Αντιμετώπιση προβλημάτων:

- Δεν υπάρχει χρώση οποιωνδήποτε πλακών – Ελέγξτε για να προσδιορίσετε ότι έχουν χρησιμοποιηθεί κατάλληλος ιστός θετικού μάρτυρα, αντίσωμα και προϊόντα ανίχνευσης.
- Αδύναμη χρώση όλων των πλακών – Ελέγξτε για να προσδιορίσετε ότι έχουν χρησιμοποιηθεί κατάλληλοι ιστοί θετικού ελέγχου, αντισώματα και προϊόντα ανίχνευσης.
- Υπερβολικό υπόβαθρο όλων των διαφανειών – Μπορεί να υπάρχουν υψηλά επίπεδα ενδογενούς βιοτίνης (εάν χρησιμοποιούνται προϊόντα ανίχνευσης με βάση τη βιοτίνη), ενδογενής δραστηριότητα HRP που μετατρέπει το χρωμογόνο σε έγχρωμο τελικό προϊόν (χρήση μπλοκ υπεροξειδάσης) ή υπερβολική αλληλεπίδραση μη ειδικής πρωτεΐνης (χρησιμοποιήστε πρωτεΐνη μπλοκ, όπως ανασταλτικό διάλυμα με βάση τον ορό ή την καζεΐνη).

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody

901-3289-090623

Greek

BIOCARE
M E D I C A L

4. Τα τμήματα ιστού ξεπλένουν τις αντικειμενοφόρες πλάκες κατά τη διάρκεια της επώασης – Ελέγξτε τις αντικειμενοφόρες πλάκες για να βεβαιωθείτε ότι είναι θετικά φορτισμένες.
5. Ειδική χρώση πολύ σκούρα – Ελέγξτε το πρωτόκολλο για να προσδιορίσετε εάν εφαρμόστηκε ο κατάλληλος τίτλος αντισωμάτων στην αντικειμενοφόρο πλάκα, καθώς και οι κατάλληλοι χρόνοι επώασης για όλα τα αντιδραστήρια. Επιπλέον, βεβαιωθείτε ότι το πρωτόκολλο έχει αρκετά βήματα πλύσης για την αφαίρεση της περίσσειας αντιδραστηρίων μετά την ολοκλήρωση των βημάτων επώασης.

Βιβλιογραφικές αναφορές:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. Curr Opin Immunol. 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. J Immunol. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Τα αντισώματα Ultraline αναπτύσσονται αποκλειστικά από την Biocare Medical LLC και δεν συνεπάγονται έγκριση ή έγκριση των αντισωμάτων Biocare από την Ventana Medical Systems, Inc ή τη Roche. Η Biocare, η Ventana και η Roche δεν συνδέονται, δεν συνδέονται ή σχετίζονται με οποιονδήποτε τρόπο. Τα Ventana®, BenchMark®, ultraView και OptiView είναι εμπορικά σήματα της Roche.

Τα αντισώματα της σειράς Q αναπτύσσονται αποκλειστικά από την Biocare Medical LLC και δεν συνεπάγονται έγκριση ή έγκριση των αντισωμάτων Biocare από τη Leica Biosystems. Η Biocare και η Leica Biosystems δεν συνδέονται, δεν σχετίζονται ή σχετίζονται με κανέναν τρόπο. Τα Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX και BOND-III είναι εμπορικά σήματα της Leica Biosystems.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

71/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Hungarian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Rendeltetésszerű használat:

Mert *in vitro* Diagnosztikai felhasználás

A HLA-B [BC43] egy egér monoklonális antitest, amelyet laboratóriumi használatra szántak, miután a daganat kezdeti diagnózisát hagyományos hisztopatológiai módszerrel, nem immunológiai hisztokémiai festéssel, a HLA-B kvalitatív azonosítása során állapították meg. Fehérje immunhisztokémiával (IHC) formalin-fixált paraffinba ágyazott (FFPE) emberi szövetekben. Bármely festődés vagy hiánya klinikai értelmezését megfelelő kontrollokat alkalmazó morfológiai vizsgálatokkal kell kiegészíteni, és a beteg klinikai anamnézisének és egyéb diagnosztikai vizsgálatainak összefüggésében kell értékelnie egy szakképzett patológusnak, hogy segítsen bármilyen más klinikai meghatározásban.

Összegzés és magyarázat:

A HLA-B egy erősen polimorf fehérjét kódoló gén, amely a fő hisztokompatibilitási osztály I (MHC-I) komplexét kódolja.¹⁵ Az MHC I. osztályú molekulák a sejt felszínén expresszálódnak, antigén peptidkeket kötve és bemutatva a CD8+ T limfocitákhoz, hogy közvetítsék az intracelluláris patogének és rákos megbetegedések elleni immunválaszt.¹⁶

Eljárás elve:

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

Anyagok és módszerek:

Mellékelt reagens:

Gazda forrása: Monoklonális egér

A fajok reakciókészsége: Emberi; más fajokat nem vizsgáltak.

Klón: BC43

Izotípus: IgG1 kappa

Fehérje koncentráció: Lásd az injekciós üveg címkéjén a tételspecifikus koncentrációt.

Specifikus IgG-koncentráció: Lépjön kapcsolatba a Biocare műszaki támogatásával

Specifikusság: HLA-B

Mobil lokalizáció: Sejt membrán

Módszer: Affinitástiszított egér monoklonális

Feloldás, keverés, hígítás, titrálás:

Az előhígított antitest reagens optimálisan hígított a fent felsorolt festőrendszerekhez. A további hígítás az antigénfestés elvesztését

eredményezheti. A további hígítás az antigénfestés elvesztését eredményezheti. A felhasználónak minden ilyen változtatást érvényesítenie kell. A szövetfeldolgozás és a technikai eljárások különbségei a felhasználó laboratóriumában jelentős eltérések lehetnek az eredményekben, ami rendszeres házon belüli ellenőrzést tesz szükségessé (lásd a Minőségellenőrzés részt).

A koncentrált reagenst a fenti táblázat szerint hígítani kell.

Ismert alkalmazások:

Immunhisztokémia (formalinnal rögzített paraffinba ágyazott szövetek)

Így szállítva: Pufferolt sóoldat, 5,9–7,4, fehérjehordozót és 0,1%-nál kevesebb nátrium-azid tartósítószer tartalmaz. További részletekért lásd a biztonsági adatlapot.

Szükséges, de nem mellékelt anyagok és reagens:

A mikroszkóp tárgylemezei pozitív töltésűek.

Pozitív és negatív szövetkontrollok

Desert Chamber (vagy hasonló szárító sütő)

Xilol vagy xilol helyettesítő

Etanol vagy reagens alkohol

Elzáró kamra (nagy nyomású tűzhely)

Ionmentesített vagy desztillált víz

Mosó puffer

Előkezelő reagens

Peroxidáz blokk

Fehérje blokk (opcionális)

Érzékelő szonda és polimer

Negatív kontroll reagens

Kromogének

Hematoxilin (ellenfestés)

Kékítő reagens

Szerelési közeg

Fedőüveg

Fénymikroszkóp (40-400X nagyítás)

*Az antitest termék konfigurációi elérhetőek a fenti táblázatban feltüntetett eszközökön való használatra.

Tárolás és stabilitás:

2°C és 8°C között tárolandó. A termék az injekciós üveg címkéjén feltüntetett lejárati időig stabil, ha ilyen körülmények között tárolják. Ne használja a lejárati idő után. A meghatározottaktól eltérő körülmények közötti tárolást ellenőrizni kell. A hígított reagenset azonnal fel kell használni; a maradék reagenst 2°C és 8°C között tárolja. A felhasználó által hígított reagens stabilitását a Biocare nem állapította meg.

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

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

72/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Hungarian

BIOCARE
M E D I C A L

Minta előkészítés:

Formalinál rögzített szövetek alkalmasak paraffin beágyazás előtti használatra. A csontszöveteket a szövetfeldolgozás előtt vízköteníteni kell a szövetvágás megkönnyítése és a mikrotom pengéi károsodásának elkerülése érdekében.^{1,2}

A megfelelően rögzített és beágyazott, a meghatározott antigén célpontot expresszáló szöveteket hűvös helyen kell tárolni. Az 1988-as Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) 42 CFR-t ír elő 493.1259(b) pont, amely szerint „A laboratóriumnak legalább tíz évig meg kell őriznie a megfestett tárgylemezeket megvizsgálja és megőrzi a mintatömböket a vizsgálat időpontjától számított legalább két évig.”³

A szövetek kezelése festés előtt:

Hajtsa végre a hőindukált epitóp-visszakeresést (HIER) az alábbi javasolt protokoll szerint. Kimutatták, hogy a HIER rutinszerű használata az IHC előtt minimálisra csökkenti az inkonzisztenciát és szabványosítja a festődést.^{4,5}

Figyelmeztetés és óvintézkedések:

- Ez az antitest kevesebb, mint 0,1% nátrium-azidot tartalmaz. A 0,1%-nál kisebb koncentrációk nem jelentendő veszélyes anyagok az US 29 CFR 1910.1200, az OSHA Hazard communication és az EK 91/155/EC irányelve szerint. Nátrium-azid (NaN₃) tartósítószerként használva lenyelve mérgező. A nátrium-azid reakcióba léphet az ólom- és rézvezetékekkel, és erősen robbanásveszélyes fém-azidokat képezhet. Ártalmatlanításkor öblítse le nagy mennyiségű vízzel, hogy megakadályozza az azidok felhalmozódását a vízvezetékben. (Betegségvédelmi Központ, 1976, Országos Munkahelyi Biztonsági és Egészségügyi Intézet, 1976)⁶
- A mintákat a rögzítés előtt és után, valamint az ezeknek kitétt anyagokat úgy kell kezelni, mintha képesek lennének fertőzést továbbítani, és megfelelő óvintézkedésekkel kell ártalmatlanítani. Soha ne pipettázzon reagenseket szájon át, és kerülje a bőrrel és a nyálkahártyákkal való érintkezést a reagensekkel és a mintákkal. Ha a reagensek vagy a minták érzékeny területekkel érintkeznek, mossa le bő vízzel.⁷
- A reagensek mikrobiális szennyeződése a nem specifikus festődés növekedését eredményezheti.
- A megadottól eltérő inkubációs idők vagy hőmérsékletek hibás eredményeket adhatnak. A felhasználónak minden ilyen változtatást érvényesítenie kell.
- Ne használja fel a reagenst az injekciós üvegre nyomtatott lejáratú idő után.
- Az előhígított antitest reagens a felhasználáshoz optimálisan hígított. A további hígítás az antigénfestés elvesztését eredményezheti.
- A koncentrált antitest-reagens hígítását használat előtt validálni kell. Minden olyan hígítót, amely nem kifejezetten ajánlott, szintén ellenőrizni kell a kompatibilitás és a stabilitás szempontjából.
- Az SDS kérésre elérhető, és a <http://biocare.net> címen található.

Használati útmutató:

A HLA-B [BC43] ajánlott festési protokolljai:

IntelliPATH FLX és kézi használat:

Az API3289 az IntelliPATH FLX és a kézi használatához szabványosított lett a MACH 4-gyel észlelő rendszer. Használjon TBS-t a mosási lépésekhez.	
Peroxide Block:	Blokkolja 5 percig Peroxidáz 1-gyel.
Pretreatment:	Hajtsa végre a hővisszanyerést a Reveal Decloaker segítségével. A konkrét utasításokat a Reveal Decloaker adatlapján találja.
Protein Block (Optional):	Inkubálja 5-10 percig szobahőmérsékleten a Background Punisher segítségével.
Primary Antibody:	Inkubáljuk 30 percig szobahőmérsékleten.

Detection:	Próba: Inkubáljuk 10 percig szobahőmérsékleten egy másodlagos polimerrel. Polimer: Inkubáljuk 20 percig szobahőmérsékleten egy tercier polimerrel.
Chromogen:	Inkubálja 5 percig szobahőmérsékleten a Biocare DAB-jával – VAGY – Inkubálja 5-7 percig szobahőmérsékleten Warp Red segítségével.
Counterstain:	Ellenfestés hematoxilinnel. Öblítse le ioncserélt vízzel. Alkalmazza a Tacha's Blueing Solution-t 1 percig. Öblítse le ioncserélt vízzel.

ONCORE Pro automatizált tárgylemezfestő rendszer:

Az OPAI3289 az ONCORE Pro-val való használatra készült. Tekintse meg a Felhasználói kézikönyvet a konkrét használati utasításokért. A protokollparamétereket a Protokollszerkesztőben a következőképpen kell programozni:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Ms HRP 1. sablon
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, alacsony pH; 101 °C
Block Option:	Puffer
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 perc, 25 °C

Ventana BenchMark ULTRA:

Az AVI3289 a BenchMark ULTRA-val való használatra készült. Tekintse meg a Felhasználói kézikönyvet a konkrét használati utasításokért. Az ajánlott protokollparaméterek a következők:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 perc
Peroxidase:	Pre-primer peroxidáz gátló
Primary Antibody:	8 perc, 36°C

Q sorozat – Leica BOND-III-hoz:

Az ALI3289 a Leica BOND-III-mal való használatra készült. Tekintse meg a Felhasználói kézikönyvet a konkrét használati utasításokért. Az ajánlott protokollparaméterek a következők:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	IHC F protokoll
Detection:	Bond Polymer Refine
HIER:	10 perc ER1-el
Peroxide Block:	5 perc
Marker (Primary Antibody):	15 perc
Post Primary:	8 perc
Polymer:	8 perc
Mixed Chromogen Refine:	10 perc
Hematoxylin:	5 perc

Minőség ellenőrzés:

Lásd: CLSI minőségi szabványok az immunhisztokémiai vizsgálatok tervezésére és végrehajtására vonatkozóan; Jóváhagyott útmutató – Második kiadás (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011*

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Hungarian

BIOCARE
M E D I C A L

Pozitív szövetkontroll: Mandula

A külső pozitív kontrollanyagoknak friss mintáknak kell lenniük, rögzítve, feldolgozva és a lehető leghamarabb beágyazva, ugyanúgy, mint a betegminta(ka)t. A pozitív szövetkontroll a megfelelően előkészített szöveteket és a megfelelő festési technikákat jelzi. Minden egyes vizsgálati körülményhez egy pozitív külső szövetkontrollt kell bevonnai minden festési futtatásba.

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

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

Negatív szövetek kontrollja:

Használjon negatív szövetkontrollt (ismerten HLA-B negatív), amely a beteg mintáival azonos módon van rögzítve, feldolgozva és beágyazva minden festési futtatásnál, hogy ellenőrizze az IHC elsődleges antitest specifikitását a célantigén kimutatása, valamint a specifikus háttérfestődés jelzése (téves pozitív festés). Ezenkívül a legtöbb szövetmetszetben jelenlévő különféle sejttípusok sokfélesége képes a laboratórium belső negatív kontrollhelyként használni az IHC teljesítményének ellenőrzésére specifikációk. A negatív szövetekhez használható minták típusai és forrásai A vezérlőelemek a Teljesítményjellemzők részben találhatóak.

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

Nem specifikus negatív reagens kontroll:

Használjon nem specifikus negatív reagens kontrollt az elsődleges antitest helyett minden egyes betegminta egy metszetével, hogy értékelje a nem specifikus festődést és lehetővé teszi a specifikus festődés jobb értelmezését az antigén helyén. Ideális esetben a negatív reagens kontroll egy HLA-B [BC43] IgG1 Kappa antitestet tartalmaz, amelyet szövettenyészet felülszójából állítanak elő, ugyanúgy, mint az elsődleges antitest, de nem mutat specifikus reaktivitást az emberi szövetekkel ugyanabban a mátrixban/oldatban, mint a Biocare antitest. Hígítsa a negatív kontroll antitestet ugyanarra az immunglobulin-vagy fehérjekoncentrációra, mint a hígított primer antitest ellenanyagot azonos hígítóval. Ha a feldolgozás után a borjúmagzati szérum megmarad a tiszta antitestben, a hígított fehérjekoncentrációval egyenértékű borjúmagzatszérum primer antitest ugyanabban a hígítószerben is használható. (Lásd a mellékelt reagenst). A korábban leírt negatív reagens kontrollok kevésbé kívánatos alternatívájaként a hígító önmagában is használható. A negatív reagens kontroll inkubációs időszakánál meg kell egyeznie az elsődleges antitest inkubációs időszakával.

Ha több antitestből álló paneleket használnak a sorozatmetszeteken, akkor az egyik tárgylemez negatívan festő területei negatív/nem specifikus kötődési háttérkontrollként szolgálhatnak más antitestekhez. Az endogén enzimaktivitás vagy az enzimek nem specifikus kötődésének megkülönböztetésére a specifikus immunreaktivitástól további betegszövetek festhetők kizárólag szubsztrát-kromogén vagy enzimkomplexekkel (PAP, avidin-biotin, streptavidin), illetve szubsztrát-kromogénnel.

A vizsgálat ellenőrzése:

Az antitest vagy festőrendszer diagnosztikai eljárásban történő első használata előtt a felhasználónak ellenőriznie kell az antitest specifikitását úgy, hogy egy sor házon belüli szöveten teszteli, amelyek ismert immunhisztokémiai teljesítményjellemzői ismertek, amelyek ismert pozitív és negatív szöveteket képviselnek. Tekintse meg a termékismertető ezen részében korábban ismertetett minőség-ellenőrzési eljárásokat és a CAP tanúsítási program minőség-ellenőrzési ajánlásait.⁹ az immunhisztokémiához és/vagy az NCCLS IHC-irányelvéhez¹⁰). Ezeket a minőség-ellenőrzési eljárásokat meg kell ismételni minden új antitest-tételnél, vagy amikor a vizsgálati paraméterek megváltoznak. A Teljesítményjellemzők részben felsorolt szövetek alkalmasak a teszt ellenőrzésére.

Hibaelhárítás:

Kövesse az antitestspecifikus protokoll ajánlásait a mellékelt adatlap szerint. Ha atipikus eredményeket észlel, forduljon a Biocare műszaki támogatásához az 1-800-542-2002 telefonszámon.

A festés értelmezése:

Pozitív szövetkontroll:

A jelzett antitesttel megfestett pozitív szöveti kontrollt először meg kell vizsgálni, hogy megbizonyosodjunk arról, hogy minden reagens megfelelően működik. A célsejtek megfelelő festése (amint azt fentebb jeleztük) pozitív reaktivitást jelez. Ha a pozitív szöveti kontrollok nem mutatnak pozitív festést, a vizsgálati minták minden eredményét érvénytelennek kell tekinteni. A reakciótermék színe az alkalmazott szubsztrát kromogénektől függően változhat. A várható színreakcióért lásd az aljzat csomagolását. Ezenkívül a festési módszer változataiban metakromázia figyelhető meg.¹¹ Ha ellenfestést használunk, az alkalmazott ellenfestés inkubációs hosszától és hatásosságától függően az ellenfestés a sejtmagok elszíneződését eredményezi. A túlzott vagy hiányos ellenfestés veszélyeztetheti az eredmények megfelelő értelmezését. Az ajánlott ellenfestéshez lásd a protokoll(oka)t.

Negatív szövetkontroll:

A negatív szöveti kontrollt a pozitív szöveti kontroll után meg kell vizsgálni, hogy ellenőrizzük a célantigén elsődleges antitest általi jelölésének specifikitását. A specifikus festődés hiánya a negatív szöveti kontrollban megerősíti az antitest sejtekkel/sejtkomponensekkel szembeni keresztreaktivitásának hiányát. Ha specifikus festődés (álpozitív festődés) fordul elő a negatív külső szövetkontrollban, a betegminta eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

A nem specifikus festődés, ha van, általában diffúz megjelenésű. A túlzottan formalinban rögzített szövetekből származó metszeteken a kötőszövet szórványos festődése is megfigyelhető. Használjon ép sejteket a festési eredmények értelmezéséhez. A nekrotikus vagy degenerált sejtek gyakran nem specifikusan festődnek.

Betegszövet:

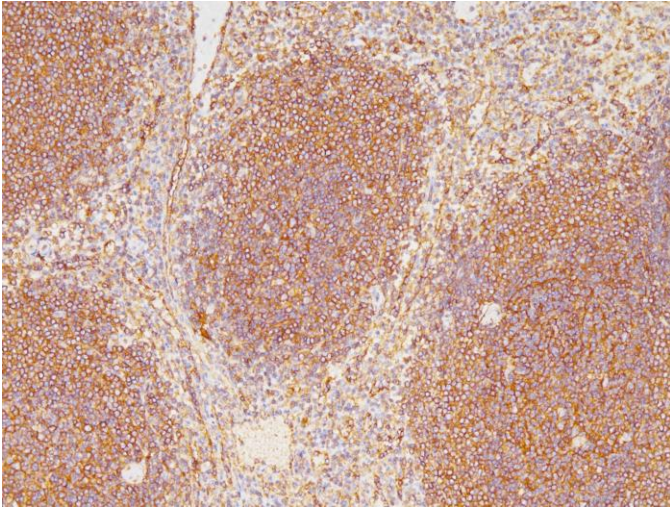
Vizsgálja meg a jelzett antitesttel megfestett betegmintákat utolsó. A pozitív festődés intenzitását a negatív reagens kontroll bármely nem specifikus háttérfestésével összefüggésben kell értékelni. Mint minden immunhisztokémiai tesztnél, a negatív eredmény azt jelenti, hogy az antigén nem volt kimutatható,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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Hungarian

BIOCARE
M E D I C A L



HLA-B [BC43] antitesttel festett lép

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

Korlátozások:

Általános korlátozások:

1. *Mert in vitro* diagnosztikai használat
2. Ez a termék kizárólag professzionális használatra készült: Az immunhisztokémia egy többlépcsős diagnosztikai folyamat, amely a megfelelő reagensek kiválasztására vonatkozó speciális képzésből áll; szövetek kiválasztása, rögzítése és feldolgozása; az IHC tárgylemez elkészítése; és a festési eredmények értelmezése.
3. A szövetfestés a szövet festés előtti kezelésétől és feldolgozásától függ. A nem megfelelő rögzítés, fagyasztás, felolvasztás, mosás, szárítás, melegítés, metszés vagy más szövetekkel vagy folyadékokkal való szennyeződés műtermékeket, antitest-befogást vagy hamis negatív eredményeket eredményezhet. Az ellentmondásos eredmények oka lehet a rögzítési és beágyazási módszerek eltérése, vagy a szöveten belüli inhereus szabálytalanságok.¹²
4. A túlzott vagy hiányos ellenfestés veszélyeztetheti az eredmények megfelelő értelmezését.
5. Bármely pozitív vagy negatív festődés klinikai értelmezését a klinikai megjelenés, a morfológia és egyéb kórszövettani kritériumok összefüggésében kell értékelni. A pozitív vagy negatív festődés klinikai értelmezését megfelelő pozitív és negatív belső és külső kontrollokat, valamint egyéb diagnosztikai tesztek alkalmazó morfológiai vizsgálatokkal kell kiegészíteni. Az IHC antitestek, reagensek és módszerek megfelelő használatát ismerő, szakképzett patológus feladata, hogy értelmezze a végső IHC-készítmény elkészítéséhez és értelmezéséhez használt összes lépést.
6. Egy adott alkalmazáshoz az optimális antitesthígítás és protokollok változhatnak. Ezek közé tartozik többek között a rögzítés, a hőviszanyerési módszer, az inkubációs idők, a szövetmetszet vastagsága és a használt kimutatási készlet. Ezen egyedi reagensek kiváló érzékenysége miatt a felsorolt ajánlott inkubációs idők és titerek nem alkalmazhatók más kimutatási rendszerekre, mivel az eredmények eltérőek lehetnek. Az adatlap ajánlásai és protokolljai a Biocare termékek kizárólagos felhasználásán alapulnak. Végső soron a vizsgálo feladata az optimális feltételek meghatározása.
7. Ezt a terméket nem áramlási citometriában való használatra tervezték. Az áramlási citometria teljesítményjellemzőit nem határozták meg.

8. A hepatitis B vírussal fertőzött és hepatitis B felületi antigént (HBsAg) tartalmazó személyek szövetei torna-peroxidázzal nem specifikus festődést mutathatnak.¹³
9. A reagensek váratlan reakciókat mutathatnak korábban nem tesztelt szövetekben. A nem várt reakciók lehetősége még a vizsgált szövetcsoportokban sem zárható ki teljesen az antigénexpresszió biológiai variabilitása miatt daganatokban vagy más patológiás szövetekben.¹⁴ Forduljon a Biocare műszaki támogatásához az 1-800-542-2002 telefonszámon vagy a biocare.net oldalon található műszaki támogatási információkon keresztül dokumentált váratlan reakciókkal.
10. A blokkoló lépésekben használt másodlagos antiszérumokkal azonos állati forrásból származó normál/nem immunszérum álnegatív vagy álpozitív eredményeket okozhat az autoantitestek vagy természetes antitestek miatt.
11. A fehérjék vagy szubsztrát reakciótermékek nem immunológiai kötődése miatt álpozitív eredményeket lehet látni. A pszeudo-peroxidáz aktivitás (eritrociták), az endogén peroxidáz aktivitás (citokrom C) vagy az endogén biotin (például máj, emlő, agy, vese) is okozhatja a használt immunfestés típusától függően.¹²

Termékspecifikus korlátozások:

További korlátozások nem ismertek.

Teljesítmény jellemzők:

Az érzékenységet, specifitást és keresztreaktivitást az 1. és 2. táblázat foglalja össze.

Reprodukálhatóság:

Az antitestek teljesítményének reprodukálhatóságát a kiválasztott normál és daganatos szövetek különböző napokon és különböző műszerekkel végzett tesztelésével igazoltuk több kezelővel. A kiválasztott szövetek festése konzisztens volt, és a várt módon történt.

A festés meneten belüli reprodukálhatóságát úgy határoztuk meg, hogy öt, ugyanazt a szövetet tartalmazó szövetet több műszeren megfestettük.

A festés inter-run reprodukálhatóságát úgy határoztuk meg, hogy öt, ugyanazt a szövetet tartalmazó tárgylemezt festettünk három napon/futtatáson ugyanazon a műszeren. A Biocare belső pontozási irányelvei szerint minden vizsgálat azonos pontszámmal ment.

Immunreaktivitás:

A következő pozitív és negatív immunreaktivásokat mutatjuk be az alábbi 1. és 2. táblázatban.

Az alábbi lista nem teljes, de jellemzi a jelzett antitesttel megfigyelt immunreaktivitás típusait.

A várt eredmények összefoglalása:

Erről az antitestről azt találták, hogy immunreaktív minden típusú szövetrel, amelyen tesztelték, beleértve a limfómák minden típusát és a normál emberi szövetet. A festődés túlnyomórészt membrános, de citoplazmáknak is tűnhet, ha magas expressziós mintákban van. A festődés túlnyomórészt az endoteliális sejtekben és a limfocitákban van jelen, egyes szövetekben kisebb gyakorisággal a hámsejtekben.

Asztal 1: Az érzékenységet és specifitást formalinnal rögzített, paraffinba ágyazott beteg szövetek tesztelésével határoztuk meg.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Hungarian

BIOCARE
M E D I C A L

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

2. táblázat:A szöveti keresztreaktivitást formalinnal rögzített, paraffinba ágyazott normál szövetek tesztelésével határoztuk meg.

Szövet	Pozitív esetek	Összes eset
Nagyagy	5	6
Kisagy	3	3
Mellékvese	3	3
Petefészek	2	3
Hasnyálmirigy	3	3
Nyirokcsomó	3	3
Légcső	3	3
Herék	5	5
Pajzsmirigy	3	3
Mell	2	2
Lép	4	4
Mandula	3	3
Thymus	3	3
Csontvelő	3	3
Tüdő	3	3
Szív	3	3
Nyelőcső	3	3
Gyomor	2	3
Vékonybél	3	3
Kettőspont	3	3
Máj	3	3
Nyálmirigy	3	3
Vese	3	3
Prosztata	3	3
Méh	3	3
Méhnyak	3	3
Vázizom	2	3
Bőr	2	2
Perifériás ideg	3	3
Béléssejtek	2	2
Szem	3	3
Gége	3	3

Hibaelhárítás:

1. A tárgylemezek nem festődnek – Ellenőrizze, hogy megfelelő pozitív kontrollszövetet, antitestet és kimutatási termékeket használt-e.
2. Az összes tárgylemez gyengén festődött – Ellenőrizze, hogy megfelelő pozitív kontrollszövetet, antitestet és kimutatási termékeket használt-e.

3. Az összes tárgylemez túlzott háttere – Magas szintű endogén biotin (biotin alapú kimutatási termékek használata esetén), endogén HRP aktivitás, amely a kromogént színes végtermékké alakítja (használgon peroxidáz blokkot), vagy túl sok nem specifikus fehérje kölcsönhatás (fehérje használata) blokkoló, például szérum- vagy kazein alapú blokkoló oldat).
4. A szövetszettek lemosás a tárgylemezeket az inkubáció során – Ellenőrizze a lemezeket, hogy megbizonyosodjon arról, hogy pozitív töltésűek.
5. A specifikus festés túl sötét – Ellenőrizze a protokollt, hogy megállapítsa, megfelelő antitesttípus alkalmaztak-e a tárgylemezen, valamint az összes reagens megfelelő inkubációs idejét. Ezenkívül győződjön meg arról, hogy a protokoll elegendő mosási lépést tartalmaz a felesleges reagens eltávolításához az inkubációs lépések befejezése után.

Referenciák:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. Omata M, Liew CT, Ashcavi M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. Curr Opin Immunol. 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. J Immunol. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Az Ultraline antitesteket kizárólag a Biocare Medical LLC fejleszti, és nem jelenti azt, hogy a Ventana Medical Systems, Inc. vagy a Roche jóváhagyta vagy jóváhagyta a Biocare antitesteket. A Biocare, a Ventana és a Roche semmilyen módon nem kapcsolódnak egymáshoz, nem kapcsolódnak egymáshoz. A Ventana®, a BenchMark®, az ultraView és az OptiView a Roche védjegyei.

A Q sorozatú antitesteket kizárólag a Biocare Medical LLC fejlesztette ki, és ezek nem jelentik a Biocare antitestek Leica Biosystems általi jóváhagyását vagy jóváhagyását. A Biocare és a Leica Biosystems semmilyen módon nem

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

76/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody

901-3289-090623

Hungarian

BIOCARE
M E D I C A L

kapcsolódnak egymáshoz, nem kapcsolódnak egymáshoz. A Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX és BOND-III a Leica Biosystems védjegyei.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

77/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Italian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Destinazione d'uso:

Per *in vitro* Uso diagnostico

L'HLA-B [BC43] è un anticorpo monoclonale murino destinato all'uso in laboratorio dopo che la diagnosi iniziale del tumore è stata effettuata mediante istopatologia convenzionale utilizzando colorazioni istochimiche non immunologiche, nell'identificazione qualitativa dell'HLA-B proteine mediante immunostochimica (IHC) in tessuti umani fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE). L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione o della sua assenza deve essere integrata da studi morfologici utilizzando controlli adeguati e deve essere valutata nel contesto dell'anamnesi clinica del paziente e di altri test diagnostici da un patologo qualificato come ausilio nell'effettuare qualsiasi altra determinazione clinica.

Riepilogo e spiegazione:

HLA-B è una proteina altamente polimorfica che codifica per il complesso maggiore di istocompatibilità I (MHC-I).¹⁵ Le molecole MHC di classe I sono espresse sulla superficie cellulare, legando e presentando peptidi antigenici ai linfociti T CD8+ per mediare le risposte immunitarie contro patogeni e tumori intracellulari.¹⁵

Principio della procedura:

Questo prodotto anticorpale può essere utilizzato come anticorpo primario nei test immunostochimici di sezioni di tessuto fissate in formalina e incluse in paraffina. In generale, immunostochimica (IHC) le tecniche di colorazione consentono la visualizzazione degli antigeni tramite l'applicazione sequenziale di a un anticorpo specifico verso l'antigene (anticorpo primario), un anticorpo secondario verso l'anticorpo primario (collegamento opzionale anticorpo/sonda), un complesso enzimatico ed un substrato cromogenico con interposte fasi di lavaggio. L'attivazione enzimatica del cromogeno determina un prodotto di reazione visibile nel sito dell'antigene. Il campione può quindi essere sottoposto a controcolorazione e coperto con vetrino. I risultati vengono interpretati utilizzando una luce microscopio e aiuto nella diagnosi differenziale dei processi patofisiologici, che possono o potrebbe non essere associato a un particolare antigene.

Materiali e metodi:

Reagenti forniti:

Origine ospite: Monoclonale murino

Reattività della specie: Umano; altre specie non testate.

Clone: BC43

Isotipo: IgG1 kappa

Concentrazione proteica: Vedere l'etichetta della fiala per la concentrazione specifica del lotto.

Concentrazione di IgG specifiche: contattare il supporto tecnico di Biocare

Specificità: HLA-B

Localizzazione cellulare: Membrana cellulare

Metodo: Monoclonale murino purificato per affinità

Ricostituzione, miscelazione, diluizione, titolazione:

Il reagente anticorpale prediluito è diluito in modo ottimale per l'uso con i sistemi di colorazione sopra elencati. Un'ulteriore diluizione può comportare

la perdita della colorazione dell'antigene. Un'ulteriore diluizione può comportare la perdita della colorazione dell'antigene. L'utente deve convalidare qualsiasi modifica di questo tipo. Differenze nella lavorazione dei tessuti e nelle procedure tecniche nel laboratorio dell'utente può produrre una variabilità significativa nei risultati che richiedono l'esecuzione regolare di controlli interni (vedere la sezione Controllo qualità).

Il reagente concentrato richiede la diluizione come indicato nella tabella sopra.

Applicazioni conosciute:

Immunostochimica (tessuti inclusi in paraffina fissati in formalina)

Fornito come: Soluzione salina tamponata, 5.9-7.4, contenente un vettore proteico e meno dello 0,1% di conservante di sodio azide. Consultare la scheda di sicurezza per ulteriori dettagli.

Materiali e reagenti necessari ma non forniti:

Vetrini del microscopio caricati positivamente.

Controlli tissutali positivi e negativi

Camera del deserto (o forno di essiccazione simile)

Xilene o sostituto dello xilene

Etanolo o alcool reagente

Camera di disoccultamento (pentola a pressione)

Acqua deionizzata o distillata

Tampone di lavaggio

Reagenti di pretrattamento

Blocco della perossidasi

Blocco proteico (opzionale)

Sonda di rilevamento e polimero

Reagenti di controllo negativo

Cromogeni

Ematossilina (colorazione di contrasto)

Reagente azzurrante

Mezzo di montaggio

Vetro di copertura

Microscopio ottico (ingrandimento 40-400X)

*Le configurazioni del prodotto anticorpale sono disponibili per l'uso sugli strumenti indicati nella tabella sopra.

Conservazione e stabilità:

Conservare a una temperatura compresa tra 2°C e 8°C. Il prodotto è stabile fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del flacone, se conservato in queste condizioni. Non utilizzare dopo la data di scadenza. È necessario verificare la conservazione in condizioni diverse da quelle specificate. I reagenti diluiti devono essere utilizzati tempestivamente; conservare l'eventuale reagente rimanente a una temperatura compresa tra 2°C e 8°C. La stabilità del reagente diluito dall'utente non è stata stabilita da Biocare.

I controlli positivi e negativi devono essere analizzati contemporaneamente con tutti i campioni dei pazienti. Se si osserva una colorazione inaspettata che non può essere spiegata da variazioni nelle procedure di laboratorio e si sospetta un problema con l'anticorpo, contattare il supporto tecnico di

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

78/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Italian

BIOCARE
M E D I C A L

Biocare al numero 1-800-542-2002 o tramite le informazioni del supporto tecnico fornite su biocare.net.

Preparazione del campione:

Tessuti fissati in formalina sono adatti per l'uso prima dell'inclusione in paraffina. I tessuti ossei devono essere decalcificati prima della lavorazione dei tessuti per facilitare il taglio dei tessuti e prevenire danni alle lame del microtomo.^{1,2}

I tessuti adeguatamente fissati e incorporati che esprimono il target antigenico specificato devono essere conservati in un luogo fresco. Il Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) del 1988 richiede in 42 CFR§493.1259(b) che "Il laboratorio deve conservare i vetrini colorati per almeno dieci anni dalla data di esame e conservare i blocchi campione per almeno due anni dalla data dell'esame."³

Trattamento dei tessuti prima della colorazione:

Esegui il recupero degli epitopi indotti dal calore (HIER) secondo il protocollo consigliato di seguito. È stato dimostrato che l'uso di routine di HIER prima dell'IHC riduce al minimo l'incoerenza e standardizza la colorazione.^{4,5}

Avvertenze e precauzioni:

1. Questo anticorpo contiene meno dello 0,1% di sodio azide. Concentrazioni inferiori allo 0,1% non sono materiali pericolosi segnalabili secondo U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication e Direttiva CE 91/155/CE. La sodio azide (NaN₃) utilizzato come conservante è tossico se ingerito. La sodio azide può reagire con le tubature in piombo e rame formando azidi metalliche altamente esplosive. Al momento dello smaltimento, sciacquare con grandi quantità di acqua per prevenire l'accumulo di azide nelle tubature. (Centro per il controllo delle malattie, 1976, Istituto nazionale per la sicurezza e la salute sul lavoro, 1976)⁶

2. I campioni, prima e dopo la fissazione, e tutti i materiali ad essi esposti devono essere maneggiati come se fossero in grado di trasmettere infezioni e smaltiti con le dovute precauzioni. Non pipettare mai i reagenti con la bocca ed evitare il contatto con la pelle e le mucose con reagenti e campioni. Se i reagenti o i campioni entrano in contatto con aree sensibili, lavare con abbondante acqua.⁷

3. La contaminazione microbica dei reagenti può comportare un aumento della colorazione aspecifica.

4. Tempi o temperature di incubazione diversi da quelli specificati potrebbero dare risultati errati. L'utente deve convalidare qualsiasi modifica di questo tipo.

5. Non utilizzare il reagente dopo la data di scadenza stampata sulla fiala.

6. Il reagente anticorpale prediluito è diluito in modo ottimale per l'uso. Un'ulteriore diluizione può comportare la perdita della colorazione dell'antigene.

7. La diluizione del reagente anticorpale concentrato deve essere convalidata prima dell'uso. Anche qualsiasi diluente utilizzato che non sia specificamente raccomandato deve essere convalidato per compatibilità e stabilità.

8. La SDS è disponibile su richiesta e si trova all'indirizzo <http://biocare.net>.

Istruzioni per l'uso:

Protocolli di colorazione consigliati per HLA-B [BC43]:

IntelliPATH FLX e uso manuale:

API3289 per IntelliPATH FLX e uso manuale, è stato standardizzato con MACH 4 sistema di rilevamento. Utilizzare TBS per le fasi di lavaggio.

Peroxide Block:	Bloccare per 5 minuti con Peroxidated 1.
Pretreatment:	Esegui il recupero del calore utilizzando Reveal Decloaker. Fare riferimento alla scheda tecnica di Reveal Decloaker per istruzioni specifiche.

Protein Block (Optional):	Incubare per 5-10 minuti a temperatura ambiente con Background Punisher.
Primary Antibody:	Incubare per 30 minuti a temperatura ambiente.
Detection:	Sonda: incubare per 10 minuti a temperatura ambiente con un polimero secondario. Polimero: incubare per 20 minuti a temperatura ambiente con un polimero terziario.
Chromogen:	Incubare per 5 minuti a temperatura ambiente con DAB di Biocare – OPPURE –Incubare per 5-7 minuti a temperatura ambiente con Warp Red.
Counterstain:	Controcolorare con ematossilina. Sciacquare con acqua deionizzata. Applicare la soluzione azzurrante di Tacha per 1 minuto. Sciacquare con acqua deionizzata.

Sistema automatizzato di colorazione dei vetrini ONCORE Pro:

OPAI3289 è destinato all'uso con ONCORE Pro. Fare riferimento al Manuale dell'utente per istruzioni specifiche sull'uso. I parametri del protocollo nell'editor del protocollo devono essere programmati come segue:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Sig.ra HRP Modello 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, pH basso; 101C
Block Option:	Respingente
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 minuti, 25°C

Benchmark Ventana ULTRA:

AVI3289 è destinato all'uso con BenchMark ULTRA. Fare riferimento al Manuale dell'utente per istruzioni specifiche sull'uso. I parametri del protocollo consigliati sono i seguenti:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minuti
Peroxidase:	Inibitore pre-primario della perossidasi
Primary Antibody:	8 minuti, 36°C

Serie O – Per Leica BOND-III:

ALI3289 è destinato all'uso con Leica BOND-III. Fare riferimento al Manuale dell'utente per istruzioni specifiche sull'uso. I parametri del protocollo consigliati sono i seguenti:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	Protocollo IHC F
Detection:	Raffinazione del polimero legante
HIER:	10 minuti con ER1
Peroxide Block:	5 minuti
Marker (Primary Antibody):	15 minuti
Post Primary:	8 minuti
Polymer:	8 minuti
Mixed Chromogen Refine:	10 minuti
Hematoxylin:	5 minuti

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Italian

BIOCARE
M E D I C A L

Controllo di qualità:

Fare riferimento agli standard di qualità CLSI per la progettazione e l'implementazione dei test immunoistochimici; Linea guida approvata - Seconda edizione (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁸

Controllo positivo del tessuto: Tonsilla

I materiali di controllo positivo esterno devono essere campioni freschi fissati, processati e incorporati il più presto possibile nello stesso modo dei campioni dei pazienti. I controlli positivi dei tessuti sono indicativi di tessuti preparati correttamente e di tecniche di colorazione adeguate. In ogni ciclo di colorazione deve essere incluso un controllo positivo del tessuto esterno per ciascuna serie di condizioni di test.

I tessuti utilizzati per i materiali di controllo positivo esterno devono essere selezionati da campioni di pazienti con bassi livelli ben caratterizzati dell'attività target positiva che dà una colorazione positiva debole. Il basso livello di positività per i controlli positivi esterni è progettato per garantire il rilevamento di sottili cambiamenti nella sensibilità dell'anticorpo primario dovuti a instabilità o problemi con la metodologia IHC. I vetrini di controllo dei tessuti disponibili in commercio o i campioni trattati in modo diverso dai campioni dei pazienti convalidano solo le prestazioni del reagente e non verificano la preparazione dei tessuti.

I controlli tissutali positivi noti devono essere utilizzati solo per monitorare la corretta prestazione dei tessuti trattati e dei reagenti del test, piuttosto che come ausilio nella formulazione di una diagnosi specifica dei campioni dei pazienti. Se i controlli positivi del tessuto non mostrano una colorazione positiva, i risultati con i campioni di test devono essere considerati non validi.

Controllo tissutale negativo:

Utilizzare un controllo tissutale negativo (noto per essere HLA-B negativo) fissato, processato e incorporato in modo identico ai campioni del paziente con ogni ciclo di colorazione per verificare la specificità dell'anticorpo primario IHC per dimostrazione dell'antigene bersaglio e fornire un'indicazione della specifica colorazione di fondo (colorazione falsa positiva). Inoltre, la varietà di diversi tipi di cellule presenti nella maggior parte delle sezioni di tessuto può farlo essere utilizzati dal laboratorista come siti di controllo negativo interno per verificare le prestazioni dell'IHC specifiche. I tipi e le fonti dei campioni che possono essere utilizzati per il tessuto negativo i controlli sono elencati nella sezione Caratteristiche prestazionali.

Se si verifica una colorazione specifica (colorazione falsa positiva) nel controllo negativo del tessuto, i risultati con i campioni dei pazienti devono essere considerati non validi.

Controllo del reagente negativo non specifico:

Utilizzare un controllo reagente negativo non specifico al posto dell'anticorpo primario con una sezione di ciascun campione del paziente per valutare la colorazione non specifica e consentire una migliore interpretazione della colorazione specifica nel sito dell'antigene. Idealmente, un controllo reagente negativo contiene un anticorpo HLA-B [BC43] IgG1 Kappa prodotto dal surnatante di una coltura tissutale allo stesso modo dell'anticorpo primario, ma non mostra alcuna reattività specifica con i tessuti umani nella stessa matrice/soluzione dell'anticorpo primario. Anticorpo Biocare. Diluire un anticorpo di controllo negativo alla stessa concentrazione di immunoglobulina o proteina del primario diluito anticorpo utilizzando lo stesso diluente. Se il siero fetale di vitello viene trattenuto nell'anticorpo puro dopo la lavorazione, il siero fetale di vitello ad una concentrazione proteica equivalente all'anticorpo diluito è adatto all'uso anche l'anticorpo primario nello stesso diluente. (Fare riferimento al reagente fornito). Il diluente da solo può essere utilizzato come alternativa meno desiderabile ai controlli dei reagenti negativi precedentemente descritti. Il periodo di incubazione del controllo del reagente negativo deve corrispondere a quello dell'anticorpo primario.

Quando si utilizzano pannelli di diversi anticorpi su sezioni seriali, le aree a colorazione negativa di un vetrino possono fungere da controllo di fondo di legame negativo/non specifico per altri anticorpi. Per differenziare l'attività enzimatica endogena o il legame non specifico degli enzimi dall'immunoreattività specifica, ulteriori tessuti dei pazienti possono essere colorati esclusivamente rispettivamente con substrato-cromogeno o complessi enzimatici (PAP, avidina-biotina, streptavidina) e substrato-cromogeno.

Verifica del test:

Prima dell'uso iniziale di un anticorpo o di un sistema di colorazione in una procedura diagnostica, l'utente deve verificare la specificità dell'anticorpo testandolo su una serie di tessuti interni con caratteristiche di prestazione immunoistochimica note che rappresentano tessuti positivi e negativi noti. Fare riferimento alle procedure di controllo qualità precedentemente delineate in questa sezione del foglietto illustrativo e alle raccomandazioni sul controllo qualità del Programma di Certificazione CAP⁹ per immunoistochimica e/o la linea guida NCCLS IHC¹⁰). Queste procedure di controllo qualità devono essere ripetute per ogni nuovo lotto di anticorpi o ogni volta che si verifica una modifica nei parametri del test. I tessuti elencati nella sezione Caratteristiche prestazionali sono idonei per la verifica del test.

Risoluzione dei problemi:

Seguire le raccomandazioni del protocollo specifico per l'anticorpo secondo la scheda tecnica fornita. Se si verificano risultati atipici, contattare il supporto tecnico di Biocare al numero 1-800-542-2002.

Interpretazione della colorazione:

Controllo positivo del tessuto:

Il controllo positivo del tessuto colorato con l'anticorpo indicato deve essere esaminato innanzitutto per accertarsi che tutti i reagenti funzionino correttamente. La colorazione appropriata delle cellule bersaglio (come indicato sopra) è indicativa di reattività positiva. Se i controlli positivi del tessuto non mostrano una colorazione positiva, qualsiasi risultato con i campioni di test deve essere considerato non valido. Il colore del prodotto di reazione può variare a seconda dei cromogeni del substrato utilizzati. Fare riferimento ai foglietti illustrativi del substrato per le reazioni cromatiche previste. Inoltre, la metacromasia può essere osservata in variazioni del metodo di colorazione.¹¹

Quando si utilizza una colorazione di contrasto, a seconda della durata di incubazione e della potenza della colorazione di contrasto utilizzata, la colorazione di contrasto risulterà in una colorazione dei nuclei cellulari. Una controcolorazione eccessiva o incompleta può compromettere la corretta interpretazione dei risultati. Fare riferimento ai protocolli per la colorazione di contrasto consigliata.

Controllo tissutale negativo:

Il controllo tissutale negativo deve essere esaminato dopo il controllo tissutale positivo per verificare la specificità della marcatura dell'antigene bersaglio da parte dell'anticorpo primario. L'assenza di colorazione specifica nel controllo negativo del tessuto conferma l'assenza di reattività crociata dell'anticorpo verso cellule/componenti cellulari. Se si verifica una colorazione specifica (colorazione falsa positiva) nel controllo negativo del tessuto esterno, i risultati con il campione del paziente devono essere considerati non validi.

La colorazione aspecifica, se presente, ha solitamente un aspetto diffuso. Colorazioni sporadiche del tessuto connettivo possono essere osservate anche in sezioni di tessuti fissati eccessivamente in formalina. Utilizzare cellule intatte per l'interpretazione dei risultati della colorazione. Le cellule necrotiche o degenerate spesso si colorano in modo aspecifico.



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

80/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

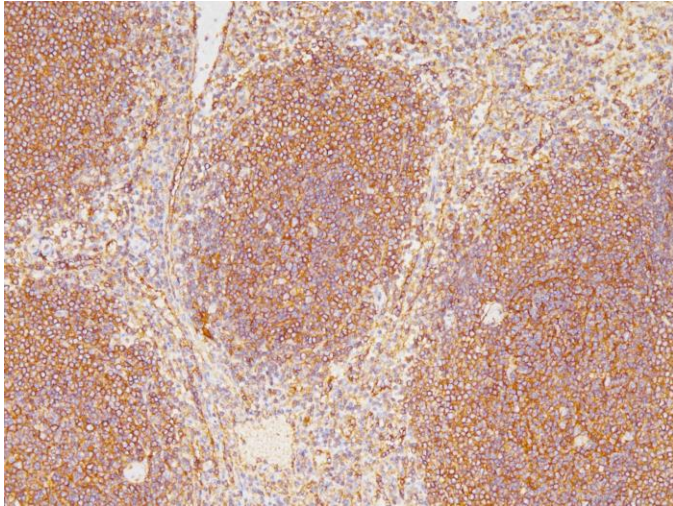
Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Italian

BIOCARE
M E D I C A L

Tessuto del paziente:

Esaminare i campioni dei pazienti colorati con l'anticorpo indicato scorso. L'intensità della colorazione positiva deve essere valutata nel contesto di qualsiasi colorazione di fondo non specifica del controllo del reagente negativo. Come con qualsiasi test immunostochimico, un risultato negativo significa che l'antigene non è stato rilevato e non che l'antigene era assente nelle cellule/tessuti analizzati. Se necessario, utilizzare un pannello di anticorpi per identificare le reazioni false negative.



Milza colorata con anticorpo HLA-B [BC43].

Fare riferimento a Riepilogo e spiegazione, limitazioni e caratteristiche prestazionali per informazioni specifiche sull'immunoreattività dell'anticorpo indicata.

Limitazioni:

Limitazioni generali:

1. *Per in vitro* Uso diagnostico
2. Questo prodotto è solo per uso professionale: l'immunostochimica è un processo diagnostico in più fasi che consiste in una formazione specializzata nella selezione dei reagenti appropriati; selezione, fissazione ed elaborazione dei tessuti; preparazione del vetrino IHC; e interpretazione dei risultati della colorazione.
3. La colorazione dei tessuti dipende dalla manipolazione e dalla lavorazione del tessuto prima della colorazione. Fissazione, congelamento, scongelamento, lavaggio, asciugatura, riscaldamento, sezionamento o contaminazione impropri con altri tessuti o fluidi possono produrre artefatti, intrappolamento di anticorpi o risultati falsi negativi. Risultati incoerenti possono essere dovuti a variazioni nei metodi di fissazione e inclusione o a irregolarità intrinseche all'interno del tessuto.¹²
4. Una controcolorazione eccessiva o incompleta può compromettere la corretta interpretazione dei risultati.
5. L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione positiva o negativa deve essere valutata nel contesto della presentazione clinica, della morfologia e di altri criteri istopatologici. L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione positiva o negativa deve essere integrata da studi morfologici utilizzando adeguati controlli interni ed esterni positivi e negativi, nonché altri test diagnostici. È responsabilità di un patologo qualificato che abbia familiarità con l'uso corretto degli anticorpi, dei reagenti e dei metodi IHC interpretare tutti i passaggi utilizzati per preparare e interpretare la preparazione IHC finale.

6. La diluizione ottimale dell'anticorpo e i protocolli per un'applicazione specifica possono variare. Questi includono, ma non sono limitati a, fissazione, metodo di recupero del calore, tempi di incubazione, spessore della sezione di tessuto e kit di rilevamento utilizzato. A causa della sensibilità superiore di questi reagenti unici, i tempi di incubazione consigliati e i titoli elencati non sono applicabili ad altri sistemi di rilevamento, poiché i risultati possono variare. Le raccomandazioni e i protocolli della scheda tecnica si basano sull'uso esclusivo di prodotti Biocare. In definitiva, è responsabilità del ricercatore determinare le condizioni ottimali.
7. Questo prodotto non è destinato all'uso nella citometria a flusso. Le caratteristiche prestazionali non sono state determinate per la citometria a flusso.
8. I tessuti di persone infette dal virus dell'epatite B e contenenti l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) possono presentare una colorazione aspecifica con la perossidasi di rafano.¹³
9. I reagenti possono manifestare reazioni inaspettate in tessuti precedentemente non testati. La possibilità di reazioni inaspettate anche nei gruppi di tessuti testati non può essere completamente eliminata a causa della variabilità biologica dell'espressione dell'antigene nelle neoplasie o in altri tessuti patologici.¹⁴ Contattare il supporto tecnico di Biocare al numero 1-800-542-2002 o tramite le informazioni di supporto tecnico fornite su biocare.net, con reazioni impreviste documentate.
10. I sieri normali/non immuni provenienti dalla stessa fonte animale degli antisieri secondari utilizzati nelle fasi di blocco possono causare risultati falsi negativi o falsi positivi a causa di autoanticorpi o anticorpi naturali.
11. Si possono osservare risultati falsi positivi a causa del legame non immunologico delle proteine o dei prodotti della reazione del substrato. Possono anche essere causati dall'attività della pseudo perossidasi (eritrociti), dall'attività della perossidasi endogena (citocromo C) o dalla biotina endogena (ad esempio fegato, mammella, cervello, rene) a seconda del tipo di immunocolorezione utilizzata.¹²

Limitazioni specifiche del prodotto:

Non sono note ulteriori limitazioni.

Caratteristiche di performance:

Sensibilità, specificità e reattività crociata sono riepilogate rispettivamente nelle Tabelle 1 e 2.

Riproducibilità:

La riproducibilità delle prestazioni degli anticorpi è stata verificata testando tessuti normali e tumorali selezionati in giorni diversi e vari strumenti con più operatori. La colorazione dei tessuti selezionati è stata coerente ed eseguita come previsto.

La riproducibilità della colorazione all'interno della serie è stata determinata colorando cinque tessuti contenenti lo stesso tessuto su più strumenti.

La riproducibilità della colorazione tra una serie e l'altra è stata determinata colorando cinque vetrini contenenti lo stesso tessuto in tre giorni/tre sessioni sullo stesso strumento. Tutti i test sono stati superati con gli stessi punteggi, come definito dalle linee guida interne di punteggio di Biocare.

Immunoreattività:

Le seguenti immunoreattività positive e negative sono state dimostrate nelle Tabelle 1 e 2 di seguito.

L'elenco fornito di seguito non è esaustivo ma caratterizza i tipi di immunoreattività osservati con l'anticorpo indicato.

Riepilogo dei risultati attesi:



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

81/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Italian

Questo anticorpo è risultato immunoreattivo con tutti i tipi di tessuti su cui è stato testato, compresi tutti i tipi di linfomi e i tessuti umani normali. La colorazione è prevalentemente membranosa ma può anche apparire citoplasmatica nei campioni ad alta espressione. La colorazione è presente prevalentemente nelle cellule endoteliali e nei linfociti, con una prevalenza minore nelle cellule epiteliali di alcuni tessuti.

Tabella 1: La sensibilità e la specificità sono state determinate testando tessuti malati fissati in formalina e inclusi in paraffina.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Tabella 2: La reattività crociata dei tessuti è stata determinata testando tessuti normali fissati in formalina e inclusi in paraffina.

Tessuto	Casi positivi	Casi totali
Cervello	5	6
Cervelletto	3	3
Surrenale	3	3
Ovaio	2	3
Pancreas	3	3
Linfonodo	3	3
Trachea	3	3
Testicolo	5	5
Tiroide	3	3
Seno	2	2
Milza	4	4
Tonsilla	3	3
Timo	3	3
Midollo osseo	3	3
Polmone	3	3
Cuore	3	3
Esofago	3	3
Stomaco	2	3
Intestino tenue	3	3
Colon	3	3
Fegato	3	3
Ghiandola salivare	3	3
Rene	3	3
Prostata	3	3
Utero	3	3
Cervice	3	3
Muscolo scheletrico	2	3

BIOCARE
M E D I C A L

Pelle	2	2
Nervo periferico	3	3
Rivestimento delle cellule	2	2
Occhio	3	3
Laringe	3	3

Risoluzione dei problemi:

1. Nessuna colorazione dei vetrini – Verificare che siano stati utilizzati tessuto di controllo positivo, anticorpi e prodotti di rilevamento appropriati.
2. Colorazione debole di tutti i vetrini – Controllare per determinare se sono stati utilizzati tessuti di controllo positivo, anticorpi e prodotti di rilevamento adeguati.
3. Sfondo eccessivo di tutti i vetrini – Potrebbero essere presenti livelli elevati di biotina endogena (se si utilizzano prodotti di rilevamento a base di biotina), attività endogena dell'HRP che converte il cromogeno nel prodotto finale colorato (utilizzare il blocco della perossidasi) o un eccesso di interazione proteica non specifica (utilizzare una proteina blocco, come una soluzione bloccante a base di siero o caseina).
4. Le sezioni di tessuto vengono rimosse dai vetrini durante l'incubazione – Controllare i vetrini per assicurarsi che siano caricati positivamente.
5. Colorazione specifica troppo scura – Controllare il protocollo per determinare se al vetrino è stato applicato il titolo anticorpale corretto, nonché i tempi di incubazione corretti per tutti i reagenti. Inoltre, assicurarsi che il protocollo contenga fasi di lavaggio sufficienti per rimuovere i reagenti in eccesso una volta completate le fasi di incubazione.

Riferimenti:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

82/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Italian

BIOCARE
M E D I C A L

15. Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. *Curr Opin Immunol.* 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. *J Immunol.* 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Gli anticorpi Ultraline sono sviluppati esclusivamente da Biocare Medical LLC e non implicano l'approvazione o il sostegno degli anticorpi Biocare da parte di Ventana Medical Systems, Inc o Roche. Biocare, Ventana e Roche non sono affiliati, associati o collegati in alcun modo. Ventana®, BenchMark®, ultraView e OptiView sono marchi di Roche.

Gli anticorpi della serie Q sono sviluppati esclusivamente da Biocare Medical LLC e non implicano l'approvazione o il sostegno degli anticorpi Biocare da parte di Leica Biosystems. Biocare e Leica Biosystems non sono affiliati, associati o correlati in alcun modo. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX e BOND-III sono marchi di Leica Biosystems.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Korean

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

사용 목적:

을 위한 *시험관 내에서* 진단용

HLA-B[BC43]는 HLA-B 의 정성 동정에서 비면역학적 조직화학적 염색을 이용한 전통적인 조직병리학으로 종양의 초기 진단이 이루어진 후 실험실용으로 사용되는 마우스 단클론 항체입니다. 포르말린 고정 파라핀 포매(FFPE) 인간 조직에서 면역조직화학(IHC)에 의한 단백질, 염색 또는 염색 부재에 대한 임상적 해석은 적절한 대조군을 사용한 형태학적 연구로 보완되어야 하며, 다른 임상 결정을 내리는 데 도움이 되도록 자격을 갖춘 병리학자가 환자의 임상 병력 및 기타 진단 테스트의 맥락 내에서 평가해야 합니다.

요약 및 설명:

HLA-B 는 주요 조직 적합성 클래스 I(MHC-I) 복합체에 대한 유전자를 코딩하는 고도로 다형성이 높은 단백질입니다.¹⁵ MHC 클래스 I 분자는 세포 표면에 발현되어 항원성 펩타이드를 CD8+ T 림프구에 결합 및 제시하여 세포내 병원체 및 암에 대한 면역 반응을 중재합니다.¹⁶

절차 원칙:

이 항체 제품은 포르말린 고정, 파라핀 포매 조직 절편의 면역조직화학 검사에서 1차 항체로 사용될 수 있습니다. 일반적으로 면역조직화학(IHC) 염색 기술을 사용하면 순차적인 적용을 통해 항원을 시각화할 수 있습니다. 항원에 대한 특정 항체(1차 항체), 1차 항체에 대한 2차 항체(선택적 링크 항체/프로브), 효소 복합체 및 중간 세척 단계가 있는 발색 기질. 발색체의 효소적 활성화로 인해 항원 부위에서 눈에 보이는 반응 생성물이 생성됩니다. 그러면 표본이 대조염색되고 덮개가 미끄러질 수 있습니다. 결과는 빛을 사용하여 해석됩니다. 현미경을 사용하여 병리생리학적 과정을 감별 진단하는 데 도움을 줄 수 있습니다. 특정 항원과 연관되지 않을 수도 있습니다.

재료 및 방법:

제공되는 시약:

호스트 소스:마우스 단일클론

중 반응성:인간; 다른 종은 테스트되지 않았습니다.

클론:BC43

아이소타입:IgG1 카파

단백질 농도:로트별 농도는 바이알 라벨을 참조하세요.

특정 IgG 농도: Biocare 기술 지원팀에 문의하세요.

특성:HLA-B

셀룰러 현지화: 세포막

방법:친화성 정제 마우스 단일클론

재구성, 혼합, 희석, 적정:

미리 희석된 항체 시약은 위에 나열된 염색 시스템과 함께 사용하기 위해 최적으로 희석됩니다. 더 희석하면 항원 염색이 손실될 수 있습니다. 더 희석하면 항원 염색이 손실될 수 있습니다. 사용자는 그러한 변경 사항을 확인해야 합니다. 조직 처리 및 기술 절차의 차이점 사용자 실험실에서는 내부 관리를 정기적으로 수행해야 하는 결과에 상당한 변동이 발생할 수 있습니다(품질 관리 섹션 참조). 농축된 시약은 위 표에 표시된 대로 희석이 필요합니다.

알려진 응용 프로그램:

면역조직화학(포르말린 고정 파라핀 포매 조직)

다음과 같이 제공됩니다:완충 식염수 용액, 5.9-7.4,단백질 운반체와 0.1% 미만의 아지드화 나트륨 방부제를 함유하고 있습니다. 자세한 내용은 안전 보건 자료를 참조하십시오.

필요하지만 제공되지 않은 재료 및 시약:

현미경 슬라이드는 양전하를 띠고 있습니다.

양성 및 음성 조직 대조군

Desert Chamber (또는 유사한 건조 오븐)

자일렌 또는 자일렌 대체물

에탄올 또는 시약 알코올

디클로킹 챔버(압력솥)

탈이온수 또는 증류수

세척 완충액

전처리 시약

퍼옥시다아제 블록

단백질 블록(선택 사항)

검출 프로브 및 폴리머

음성 대조 시약

발색체

헤마톡실린(대조염색)

블루링 시약

장착 매체

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Korean

커버글래스

광학현미경(40-400X 배율)

*항체 제품의 구성은 위 표에 표시된 기기에서 사용할 수 있습니다.

보관 및 안정성:

2°C~8°C 에서 보관하세요. 제품은 이러한 조건에서 보관할 경우 바이알 라벨에 인쇄된 유효 기간까지 안정적입니다. 유효기간 이후에는 사용하지 마세요. 지정된 조건 이외의 조건에서의 보관을 확인해야 합니다. 희석된 시약은 즉시 사용해야 합니다. 남은 시약은 2°C~8°C 에 보관하세요. 사용자 희석 시약의 안정성은 Biocare 에 의해 확립되지 않았습니다.

모든 환자 검체에 대해 양성 및 음성 대조를 동시에 실행해야 합니다. 실험실 절차의 변화로 설명할 수 없는 예상치 못한 염색이 관찰되고 항체 문제가 의심되는 경우 1-800-542-2002 로 전화하거나 biocare.net 에서 제공하는 기술 지원 정보를 통해 Biocare 기술 지원에 문의하십시오.

표본 준비:

포르말린으로 고정된 조직 파라핀 포매 전에 사용하기에 적합합니다. 골조직은 조직 절단을 용이하게 하고 마이크로톰 블레이드의 손상을 방지하기 위해 조직 처리 전에 석회질을 제거해야 합니다.¹²

특정 항원 표적을 발현하는 적절하게 고정되고 매립된 조직은 서늘한 곳에 보관해야 합니다. 1988 년 임상검사실 개선법(CLIA)에서는 42 CFR 을 요구합니다.§493.1259(b) "실험실은 염색된 슬라이드를 날짜로부터 최소 10 년 동안 보관해야 합니다. 검사를 실시하고 검사일로부터 최소 2 년 동안 표본 블록을 보관해야 합니다."¹³

염색 전 조직 처리:

아래 권장 프로토콜에 따라 열 유도 항원결정부 검색(HIER)을 수행하십시오. IHC 이전에 HIER 을 일상적으로 사용하면 불일치를 최소화하고 염색을 표준화하는 것으로 나타났습니다.¹⁴

경고 및 주의 사항:

- 이 항체에는 0.1% 미만의 아지드화나트륨이 함유되어 있습니다. 0.1% 미만의 농도는 미국 29 CFR 1910.1200, OSHA 위험 통신 및 EC 지침 91/155/EC 에 따라 보고할 수 있는 유해 물질이 아닙니다. 아지드화나트륨(NaN) 방부제로 사용되는 경우 섭취하면 독성이 있습니다. 아지드화나트륨은 납 및 구리 배관과 반응하여 폭발성이 높은 금속 아지드화물을 형성할 수 있습니다. 폐기 시 배관에 아지드가 축적되는 것을 방지하기 위해 다량의 물로 씻어내십시오. (질병통제센터, 1976, 국립산업안전보건원, 1976)¹⁵
- 고정 전후의 검체와 이에 노출된 모든 물질은 감염을 전파할 수 있는 것처럼 취급하고 적절한 예방조치를 통해 폐기해야 합니다. 시약을 입으로 피펫팅하지 말고 시약 및 검체가 피부와 점막에 닿지 않도록 하십시오. 시약이나 검체가 민감한 부위에 닿은 경우 다량의 물로 씻어내십시오.⁷
- 시약의 미생물 오염으로 인해 비특이적 염색이 증가할 수 있습니다.

- 지정된 것 이외의 배양 시간이나 온도는 잘못된 결과를 초래할 수 있습니다. 사용자는 그러한 변경 사항을 확인해야 합니다.
- 바이알에 표기된 사용기한이 지난 시약은 사용하지 마십시오.
- 사전희석된 항체시약은 최적으로 희석하여 사용합니다. 더 희석하면 항원 염색이 손실될 수 있습니다.
- 농축된 항체 시약의 희석 여부는 사용 전 반드시 검증되어야 합니다. 특별히 권장되지 않는 사용된 희석제도 호환성과 안정성이 검증되어야 합니다.
- SDS 는 요청 시 제공되며 <http://biocare.net> 에 있습니다.

사용 지침:

HLA-B [BC43]에 권장되는 염색 프로토콜:

IntelliPATH FLX 및 수동 사용:

intelliPATH FLX 및 수동 사용을 위한 API3289 는 MACH 4 로 표준화되었습니다. 탐지 시스템. 세척 단계에는 TBS 를 사용하십시오.	
Peroxide Block:	Peroxidized 1 로 5 분간 차단합니다.
Pretreatment:	Reveal Decloaker 를 사용하여 열 회수를 수행합니다. 구체적인 지침은 Reveal Decloaker 데이터 시트를 참조하십시오.
Protein Block (Optional):	Background Punisher 를 사용하여 RT 에서 5~10 분 동안 배양합니다.
Primary Antibody:	RT 에서 30 분 동안 배양합니다.
Detection:	프로브: 보조 폴리머와 함께 실온에서 10 분 동안 배양합니다.
	폴리머: 3 차 폴리머와 함께 실온에서 20 분 동안 배양합니다.
Chromogen:	Biocare 의 DAB 를 사용하여 실온에서 5 분간 배양합니다. 또는 Warp Red 를 사용하여 실온에서 5~7 분간 배양합니다.
Counterstain:	헤마톡실린으로 대조염색합니다. 탈이온수로 헹굽니다. 타차 블루잉 솔루션을 1 분간 도포합니다. 탈이온수로 헹굽니다.

ONCORE Pro 자동 슬라이드 염색 시스템:

OPAI3289 는 ONCORE Pro 와 함께 사용하도록 고안되었습니다. 구체적인 사용 지침은 사용자 설명서를 참조하세요. 프로토콜 편집기의 프로토콜 매개변수는 다음과 같이 프로그래밍되어야 합니다.	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	MS HRP 템플릿 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50



HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Korean

Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, 낮은 pH; 101 씨
Block Option:	완충기
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 분, 25°C

벤타나 벤치마크 울트라:

AVI3289 는 BenchMark ULTRA 와 함께 사용하도록 고안되었습니다. 구체적인 사용 지침은 사용자 설명서를 참조하세요. 권장되는 프로토콜 매개변수는 다음과 같습니다.

Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 분
Peroxidase:	사전 1 차 퍼옥시다제 억제제
Primary Antibody:	8 분, 36°C

Q 시리즈 – 라이카 BOND-III 용:

ALI3289 는 Leica BOND-III 와 함께 사용하도록 고안되었습니다. 구체적인 사용 지침은 사용자 설명서를 참조하세요. 권장되는 프로토콜 매개변수는 다음과 같습니다.

Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	IHC 프로토콜 F
Detection:	본드 폴리머 정제
HIER:	ER1 으로 10 분
Peroxide Block:	5 분
Marker (Primary Antibody):	15 분
Post Primary:	8 분
Polymer:	8 분
Mixed Chromogen Refine:	10 분
Hematoxylin:	5 분

품질 관리:

면역조직화학 분석의 설계 및 구현에 대한 CLSI 품질 표준을 참조하십시오. 승인된 지침-제 2 판(I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA(www.clsi.org). 2011 년*

양성 조직 대조: 편도선

외부 양성 대조 물질은 환자 검체와 동일한 방식으로 가능한 한 빨리 고정, 처리 및 삽입된 새로운 검체여야 합니다. 양성 조직 대조군은 올바르게 준비된 조직과 적절한 염색 기술을 나타냅니다. 각 염색 실행에는 각 테스트 조건 세트에 대한 하나의 양성 외부 조직 대조가 포함되어야 합니다.

외부 양성 대조 물질로 사용되는 조직은 약한 양성 염색을 제공하는 낮은 수준의 양성 표적 활성이 잘 특성화되어 있는 환자 검체에서 선택해야 합니다. 외부 양성 대조군에 대한 낮은 양성 수준은 IHC 방법론의 불안정성 또는 문제로 인한 1 차 항체 민감도의 미묘한 변화를 감지하도록 설계되었습니다. 시중에서 판매되는 조직 대조 슬라이드 또는 환자 샘플과 다르게 처리된 표본은 시약 성능만 검증하고 조직 준비는 검증하지 않습니다.

알려진 양성 조직 대조군은 환자 샘플의 특정 진단을 공식화하는 데 도움이 되기보다는 처리된 조직 및 테스트 시약의 올바른 성능을 모니터링하는 데에만 활용되어야 합니다. 양성 조직 대조군이 양성 염색을 나타내지 못하는 경우, 테스트 검체의 결과는 유효하지 않은 것으로 간주되어야 합니다.

음성 조직 제어:

IHC 1 차 항체의 특이성을 확인하기 위해 각 염색 실행에서 환자 샘플과 동일한 방식으로 고정, 처리 및 내장된 음성 조직 대조(HLA-B 음성으로 알려짐)를 사용합니다. 표적 항원을 입증하고 특정 배경 염색의 지표를 제공합니다. (거짓 양성 염색). 또한 대부분의 조직 절편에 존재하는 다양한 세포 유형이 IHC의 성능을 확인하기 위해 실험실 직원이 내부 음성 대조 사이트로 사용할 수 있습니다. 명세서. 음성조직에 사용될 수 있는 검체의 종류와 출처 컨트롤은 성능 특성 섹션에 나열되어 있습니다.

음성 조직 대조에서 특정 염색(위양성 염색)이 발생하는 경우, 환자 검체의 결과는 유효하지 않은 것으로 간주되어야 합니다.

비특이적 음성 시약 대조:

비특이적 염색 및

항원 부위의 특정 염색을 더 잘 해석할 수 있습니다. 이상적으로 음성 시약 대조군에는 1 차 항체와 동일한 방식으로 조직 배양 상층액에서 생성된 HLA-B [BC43] IgG1 Kappa 항체가 포함되어 있지만 동일한 매트릭스/용액에서는 인간 조직과 특이적인 반응을 나타내지 않습니다. 바이오케어 항체. 음성 대조 항체를 희석된 1 차 항체와 동일한 면역글로불린 또는 단백질 농도로 희석합니다. 동일한 희석제를 사용한 항체. 처리 후 순수한 항체에 송아지 태아 혈청이 남아 있으면 희석된 단백질 농도와 동등한 단백질 농도의 송아지 태아 혈청 동일한 희석제에 들어 있는 1 차 항체도 사용하기에 적합합니다. (제공된 시약 참조) 희석제 단독은 이전에 설명한 음성 시약 대조에 대한 덜 바람직한 대안으로 사용될 수 있습니다. 음성 시약 대조군의 배양 기간은 1 차 항체의 배양 기간과 일치해야 합니다.

여러 항체 패널이 연속 섹션에 사용되는 경우 한 슬라이드의 음성 염색 영역은 다른 항체에 대한 음성/비특이적 결합 배경 제어 역할을 할 수 있습니다. 내인성 효소 활성 또는 효소의 비특이적 결합을 특정 면역반응성과 구별하기 위해 추가 환자 조직을 기질-발색제 또는 효소 복합체(PAP, 아비딘-비오틴, 스트렙타비딘) 및 기질-발색제로만 염색할 수 있습니다.

분석 검증:

진단 절차에서 항체 또는 염색 시스템을 처음 사용하기 전에 사용자는 알려진 양성 및 음성 조직을 대표하는 면역조직화학적 성능 특성이 알려진 일련의 내부 조직에서 항체를 테스트하여 항체의 특이성을 확인해야 합니다. 제품 삽입물의 이 섹션에 이전에 설명된 품질 관리 절차와 CAP 인증 프로그램의 품질 관리 권장 사항을 참조하십시오.* 면역조직화학 및/또는 NCCLS IHC 지침**. 이러한 품질 관리 절차는 새로운 항체 로트마다 또는 분석 매개변수에 변경이 있을 때마다 반복되어야 합니다. 성능 특성 섹션에 나열된 조직은 분석 검증에 적합합니다.



HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Korean

문제 해결:

제공된 데이터 시트에 따라 항체 특정 프로토콜 권장 사항을 따르십시오. 비정형 결과가 발생하면 1-800-542-2002 번으로 Biocare 기술 지원부에 문의하십시오.

염색의 해석:

양성 조직 대조:

표시된 항체로 염색된 양성 조직 대조군을 먼저 검사하여 모든 시약이 제대로 기능하는지 확인해야 합니다. (위에 표시된 대로) 표적 세포의 적절한 염색은 양성 반응성을 나타냅니다. 양성 조직 대조군이 양성 염색을 나타내지 못하는 경우, 테스트 검체의 모든 결과는 유효하지 않은 것으로 간주되어야 합니다. 반응 생성물의 색상은 사용된 기질 발색체에 따라 달라질 수 있습니다. 예상되는 색상 반응은 인쇄물 패키지 삽입물을 참조하십시오. 또한, 염색 방법에 따라 변색증이 관찰될 수도 있습니다.¹¹

대조염색을 사용하는 경우, 배양 기간과 사용된 대조염색의 효능에 따라 대조염색으로 인해 세포핵이 착색됩니다. 과도하거나 불완전한 대조염색은 결과의 올바른 해석을 손상시킬 수 있습니다. 권장되는 대조염색에 대해서는 프로토콜을 참조하십시오.

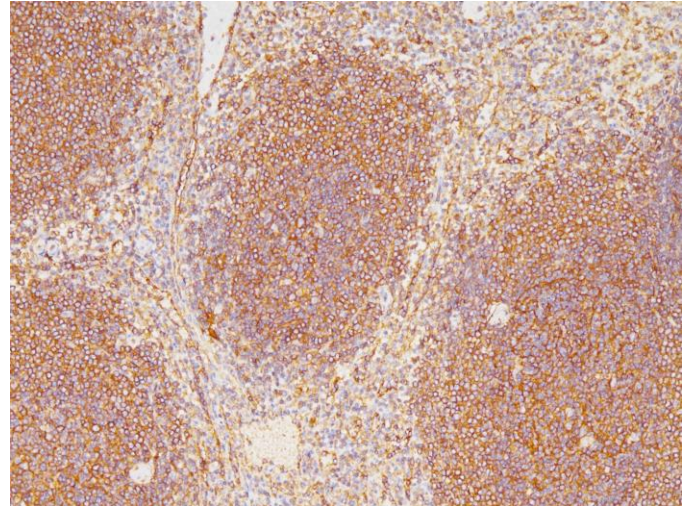
음성 조직 제어:

양성 조직 대조 후에는 음성 조직 대조를 검사하여 1차 항체에 의한 표적 항원 표지의 특이성을 확인해야 합니다. 음성 조직 대조군에서 특정 염색이 없다는 것은 세포/세포 구성요소에 대한 항체 교차 반응성이 없음을 확인합니다. 음성 외부 조직 대조에서 특정 염색(위양성 염색)이 발생하는 경우, 환자 검체의 결과는 유효하지 않은 것으로 간주되어야 합니다.

비특이적 염색이 있는 경우 일반적으로 확산된 모습을 보입니다. 포르말린이 과도하게 고정된 조직의 절편에서도 결합 조직의 산발적인 염색이 관찰될 수도 있습니다. 염색 결과를 해석하려면 손상되지 않은 세포를 사용하십시오. 과사성 또는 퇴행성 세포는 종종 비특이적으로 염색됩니다.

환자 조직:

표시된 항체로 염색된 환자 검체를 검사합니다. 마지막. 양성 염색 강도는 음성 시약 대조의 비특이적 배경 염색 맥락 내에서 평가되어야 합니다. 모든 면역조직화학적 검사와 마찬가지로, 음성 결과는 항원이 검출되지 않았음을 의미하며 분석된 세포/조직에 항원이 없다는 것을 의미하지는 않습니다. 필요한 경우 항체 패널을 사용하여 위음성 반응을 식별합니다.



HLA-B [BC43] 항체로 염색된 비장

표시된 항체 면역반응성에 관한 특정 정보는 요약 및 설명, 제한사항 및 성능 특성을 참조하십시오.

제한사항:

일반 제한사항:

1. 을 위한 *시험관 내에서* 진단용
2. 이 제품은 전문가용입니다. 면역조직화학은 적절한 시약 선택에 대한 전문 교육으로 구성된 다단계 진단 과정입니다. 조직 선택, 고정 및 처리; IHC 슬라이드 준비; 염색 결과의 해석.
3. 조직 염색은 염색 전 조직의 취급 및 처리에 따라 달라집니다. 부적절한 고정, 냉동, 해동, 세척, 건조, 가열, 절개 또는 다른 조직이나 체액으로의 오염으로 인해 인공물, 항체 트래핑 또는 위음성 결과가 발생할 수 있습니다. 일관되지 않은 결과는 고정 및 삽입 방법의 차이 또는 조직 내의 고유한 불규칙성으로 인해 발생할 수 있습니다.¹²
4. 과도하거나 불완전한 대조염색은 결과의 올바른 해석을 손상시킬 수 있습니다.
5. 양성 또는 음성 염색에 대한 임상적 해석은 임상적 표현, 형태, 기타 조직병리학적 기준을 고려하여 평가해야 합니다. 양성 또는 음성 염색에 대한 임상적 해석은 적절한 양성 및 음성 내부 및 외부 대조와 기타 진단 테스트를 사용한 형태학적 연구를 통해 보완되어야 합니다. 최종 IHC 준비를 준비하고 해석하는 데 사용되는 모든 단계를 해석하는 것은 IHC 항체, 시약 및 방법의 적절한 사용에 익숙한 자격을 갖춘 병리학자의 책임입니다.
6. 특정 응용 분야에 대한 최적의 항체 희석 및 프로토콜은 다양할 수 있습니다. 여기에는 고정, 열 회수 방법, 배양 시간, 조직 단면 두께 및 사용된 검출 키트가 포함되지만 이에 국한되지는 않습니다. 이러한 고유한 시약의 뛰어난 감도로 인해 나열된 권장 배양 시간과 역가는 결과가 다를 수 있으므로 다른 검출 시스템에는 적용할 수 없습니다. 데이터 시트 권장 사항 및 프로토콜은 Biocare 제품의 독점적인 사용용



HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Korean

기반으로 합니다. 궁극적으로 최적의 조건을 결정하는 것은 조사자의 책임입니다.

- 이 제품은 유세포 분석에 사용하기 위한 것이 아닙니다. 유세포분석에 대한 성능 특성은 결정되지 않았습니다.
- B형 간염 바이러스에 감염되고 B형 간염 표면 항원(HBsAg)을 함유한 사람의 조직은 양 고추 냉이 퍼옥시다제에 의한 비특이적 염색을 나타낼 수 있습니다.¹³
- 시약은 이전에 테스트되지 않은 조직에서 예상치 못한 반응을 나타낼 수 있습니다. 신생물이나 기타 병리학적 조직에서 항원 발현의 생물학적 다양성으로 인해 테스트된 조직 그룹에서도 예상치 못한 반응이 발생할 가능성을 완전히 제거할 수는 없습니다.¹⁴ 예상치 못한 반응이 기록되어 있으면 1-800-542-2002 번으로 전화하거나 biocare.net 에서 제공하는 기술 지원 정보를 통해 Biocare 기술 지원부에 문의하십시오.
- 차단 단계에 사용되는 2차 항혈청과 동일한 동물 유래의 정상/비면역 혈청은 자가항체나 천연항체로 인해 위음성 또는 위양성 결과를 초래할 수 있습니다.
- 단백질이나 기질 반응 생성물의 비면역학적 결합으로 인해 위양성 결과가 나타날 수 있습니다. 또한 사용된 면역염색제의 유형에 따라 가성 과산화효소 활성(적혈구), 내인성 과산화효소 활성(시토크롬 C) 또는 내인성 비오틴(예: 간, 유방, 뇌, 신장)으로 인해 발생할 수도 있습니다.¹²

제품별 제한사항:

알려진 추가 제한사항은 없습니다.

성능 특성:

민감도, 특이도 및 교차 반응성은 각각 표 1 과 2 에 요약되어 있습니다.

재현성:

다양한 날짜에 선별된 정상 조직과 중앙 조직을 테스트하고 여러 작업자가 다양한 장비를 사용하여 항체 성능의 재현성을 검증했습니다. 선택된 조직의 염색은 일관되었고 예상대로 수행되었습니다.

염색의 실행 내 재현성은 여러 기기에서 동일한 조직을 포함하는 5 개의 조직을 염색하여 결정되었습니다.

염색의 실행 간 재현성은 동일한 기기에서 3 일/실행 동안 동일한 조직을 포함하는 5 개의 슬라이드를 염색하여 결정되었습니다. Biocare 의 내부 체점 지침에 정의된 대로 모든 테스트는 동일한 점수로 통과되었습니다.

면역반응성:

다음과 같은 양성 및 음성 면역반응이 아래 표 1 및 2 에 입증되었습니다.

아래 제공된 목록은 완전한 것은 아니지만 표시된 항체에서 관찰된 면역반응의 유형을 특성화합니다.

예상 결과 요약:

이 항체는 모든 유형의 림프종 및 정상 인간 조직을 포함하여 테스트된 모든 유형의 조직과 면역반응하는 것으로 밝혀졌습니다. 염색은 주로 막성이지만 발현율이 높은 샘플에서는 세포질로 나타날 수도 있습니다. 염색은 내피 세포와 림프구에 주로 존재하며 일부 조직의 상피 세포에서는 유병률이 낮습니다.

1 번 테이블: 포르말린 고정, 파라핀 포매 질병 조직을 테스트하여 민감도와 특이도를 결정했습니다.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

표 2: 조직 교차 반응성은 포르말린 고정, 파라핀 포매 정상 조직을 테스트하여 결정되었습니다.

조직	긍정적인 사례	총 건수
뇌	5	6
소뇌	삼	삼
부신	삼	삼
난소	2	삼
콩팥	삼	삼
림프절	삼	삼
기관	삼	삼
고환	5	5
갑상선	삼	삼
가슴	2	2
비장	4	4
편도선	삼	삼
흉선	삼	삼
골수	삼	삼
폐	삼	삼
마음	삼	삼
식도	삼	삼
위	2	삼
소장	삼	삼
콜론	삼	삼
간	삼	삼
침샘	삼	삼



HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Korean

BIOCARE

M E D I C A L

신장	삼	삼
전립선	삼	삼
자궁	삼	삼
자궁 경부	삼	삼
골격근	2	삼
피부	2	2
말초신경	삼	삼
라이닝 세포	2	2
눈	삼	삼
후두	삼	삼

문제 해결:

1. 슬라이드에 염색이 되지 않음 - 적절한 양성 대조 조직, 항체 및 검출 제품이 사용되었는지 확인하십시오.
2. 모든 슬라이드의 약한 염색 - 적절한 양성 대조 조직, 항체 및 검출 제품이 사용되었는지 확인하십시오.
3. 모든 슬라이드의 과도한 배경 - 높은 수준의 내인성 비오틴(비오틴 기반 검출 제품을 사용하는 경우), 발색체를 유색 최종 생성물로 전환하는 내인성 HRP 활성(과산화소 블록 사용) 또는 과도한 비특이적 단백질 상호작용(단백질 사용)이 있을 수 있습니다. 혈청 또는 카제인 기반 차단 용액과 같은 차단.
4. 배양 중에 조직 색선이 슬라이드를 씻어냅니다. 슬라이드가 양전하를 띠고 있는지 확인하십시오.
5. 특정 염색이 너무 어두움 - 프로토콜을 확인하여 적절한 항체 역가가 슬라이드에 적용되었는지 확인하고 모든 시약에 대한 적절한 배양 시간을 확인하십시오. 또한 프로토콜에 인큐베이션 단계가 완료된 후 과잉 시약을 제거하기에 충분한 세척 단계가 있는지 확인하십시오.

참고자료:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.

11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. Curr Opin Immunol. 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. J Immunol. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

UltraLine 항체는 Biocare Medical LLC 가 단독으로 개발했으며 Ventana Medical Systems, Inc 또는 Roche 의 Biocare 항체 승인 또는 보증을 의미하지 않습니다. Biocare, Ventana 및 Roche 는 어떤 방식으로든 제휴, 관련 또는 관련이 없습니다. Ventana®, BenchMark®, ultraView 및 OptiView 는 Roche 의 상표입니다.

Q 시리즈 항체는 Biocare Medical LLC 가 단독으로 개발했으며 Leica Biosystems 의 Biocare 항체 승인 또는 보증을 의미하지 않습니다. Biocare 와 Leica Biosystems 는 어떤 방식으로든 제휴, 관련 또는 관련이 없습니다. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX 및 BOND-III 는 Leica Biosystems 의 상표입니다.



HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Latvian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Paredzētais lietojums:

Priekš*in vitro* Diagnostikas lietošana

HLA-B [BC43] ir peles monoklonāla antiViela, kas paredzēta lietošanai laboratorijā pēc sākotnējās audzēja diagnozes noteikšanas ar parasto histopatoloģiju, izmantojot neimunoloģiskus histokīmiskus traipus, lai kvalitatīvi identificētu HLA-B. olbaltumvielas ar imūnhistokīmiju (IHC) formalinā fiksētos parafinā iestrādātos (FFPE) cilvēka audos. Jebkuras iekrāsošanās vai tās neesamības klīniskā interpretācija ir jāpapildina ar morfoloģiskiem pētījumiem, izmantojot atbilstošas kontroles, un tā ir jānovērtē pacienta klīniskās vēstures un citu diagnostisko testu kontekstā, ko veic kvalificēts patologs, lai palīdzētu veikt jebkādas citas klīniskas noteikšanas.

Kopsavilkums un skaidrojums:

HLA-B ir ļoti polimorfs proteīnu kodējošs gēns galvenajam I klases histokompatibilitātes (MHC-I) kompleksam.¹⁵ MHC I klases molekulas tiek ekspresētas uz šūnu virsmas, saistoties un uzrādot antigēnus peptīdus CD8+ T limfocītiem, lai mediētu imūnās atbildes reakcijas pret intracelulāriem patogēniem un vēzi.¹⁶

Procedūras princips:

Šo antiVielu produktu var izmantot kā primāro antiVielu formalinā fiksētu, parafinā iestrādātu audu sekciju imūnhistokīmiskajā pārbaudē. Kopumā imūnhistokīmiskā (IHC) krāsošanas metodes ļauj vizualizēt antigēnus, secīgi pielietojot a specifiska antiViela pret antigēnu (primārā antiViela), sekundārā antiViela pret primāro antiVielu (neobligāta saite antiViela/zonde), enzīmu komplekss un hromogēns substrāts ar starplikām mazgāšanas soļiem. Hrogēna fermentatīvā aktivizēšana rada redzamu reakcijas produktu antigēna vietā. Pēc tam paraugu var iekrāsot un noslidēt vāku. Rezultāti tiek interpretēti, izmantojot gaismu mikroskopu un palīgīdzekli patofizioloģisko procesu diferencāldiagnozē, kas var vai var nebūt saistīts ar noteiktu antigēnu.

Materiāli un metodes:

Piedāvātie reaģenti:

Resursdatora avots: Pele monoklonāla

Sugas reaģētspēja: Cilvēks; citas sugas, kas nav pārbaudītas.

Klonēt: BC43

Izotips: IgG1 kappa

Olbaltumvielu koncentrācija: Sērijai specifisko koncentrāciju skatiet flakona etiķetē.

Konkrēta IgG koncentrācija: sazinieties ar Biocare tehnisko atbalstu

Specifiskums: HLA-B

Šūnu lokalizācija: Šūnu membrānu

Metode: Afinitātes attīrta pele monoklonāla

Atšķaidīšana, sajaukšana, atšķaidīšana, tīrēšana:

Iepriekš atšķaidīts antiVielu reaģents ir optimāli atšķaidīts lietošanai ar iepriekš minētajām krāsošanas sistēmām. Turpmāka atšķaidīšana var izraisīt antigēna krāsojuma zudumu. Turpmāka atšķaidīšana var izraisīt antigēna krāsojuma zudumu. Lietotājam ir jāapstiprina visas šādas izmaiņas. Atšķirības

audu apstrādē un tehniskajās procedūrās lietotāja laboratorijā var radīt ievērojamas atšķirības rezultātos, tādēļ ir nepieciešama regulāra iekšējā kontrole (skatiet sadaļu Kvalitātes kontrole). Koncentrēts reaģents ir jāatšķaida, kā norādīts iepriekš tabulā.

Zināmās lietojumprogrammas:

Imūnhistokīmija (formalinā fiksēti parafinā iestrādāti audi)

Piegādāts kā: Buferēts sāls šķīdums, 5,9–7,4, satur proteīna nesēju un mazāk par 0,1% nātrija azīda konservantu. Papildinformāciju skatiet drošības datu lapā.

Nepieciešamie materiāli un reaģenti, kas nav nodrošināti:

Mikroskopa priekšmetstikliņi ir pozitīvi uzlādēti.
Pozitīvās un negatīvās audu kontroles
Tuksneša kamera (vai līdzīga žāvēšanas krāsns)
Ksilols vai ksilola aizstājējs
Etanols vai reaģenta spirts
Apslāņošanās kamera (spiediena plīts)
Dejonizēts vai destilēts ūdens
Mazgāšanas buferis
Priekšapstrādes reaģenti
Peroksidāzes blokāde
Olbaltumvielu bloks (pēc izvēles)
Detekcijas zonde un polimērs
Negatīvie kontroles reaģenti
Hrogēni
Hematoksilīns (pretkrāsa)
Bliuing reaģents
Montāžas vide
Vāka stikls
Gaismas mikroskops (40–400X palielinājums)
*AntiVielu produkta konfigurācijas ir pieejamas lietošanai iepriekš tabulā norādītajos instrumentos.

Uzglabāšana un stabilitāte:

Uzglabāt temperatūrā no 2°C līdz 8°C. Uzglabājot šādos apstākļos, produkts ir stabils līdz derīguma termiņam, kas uzdrukāts uz flakona etiķetes. Nelietot pēc derīguma termiņa beigām. Uzglabāšana citos apstākļos, izņemot norādītos, ir jāpārbauda. Atšķaidīti reaģenti jāizlieto nekavējoties; uzglabājiet atlikušo reaģentu 2°C līdz 8°C temperatūrā. Biocare nav noteikusi lietotāja atšķaidītā reaģenta stabilitāti.

Pozitīvās un negatīvās kontroles jāveic vienlaikus ar visiem pacienta paraugiem. Ja tiek novērota neparedzēta iekrāsošanās, ko nevar izskaidrot ar atšķirībām laboratorijas procedūrās, un ir aizdomas par problēmu ar antiVielu, sazinieties ar Biocare tehnisko atbalstu pa tālruni 1-800-542-2002 vai izmantojot tehniskā atbalsta informāciju, kas sniegta vietnē biocare.net.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

90/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Latvian

BIOCARE
M E D I C A L

Parauga sagatavošana:

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

Pareizi fiksēti un iestrādāti audi, kas ekspresē norādīto antigēna mērķi, jāuzglabā vēsā vietā. 1988. gada Klīniskās laboratorijas uzlabošanas likums (CLIA) pieprasa 42 CFR.§493.1259(b), ka "Laboratorijai ir jāsiglabā iekrāsotie priekšmetstikliņi vismaz desmit gadus no datuma, kad pārbaudi un saglabā paraugu blokus vismaz divus gadus no pārbaudes datuma.³

Audu apstrāde pirms krāsošanas:

Veiciet siltuma izraisītu epitopu izgūšanu (HIER) saskaņā ar tālāk ieteikto protokolu. Ir pierādīts, ka regulāra HIER lietošana pirms IHC samazina nekoncekvenci un standartizē krāsošanu.^{4,5}

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi:

1. Šī anti viela satur mazāk par 0,1% nātrija azīda. Koncentrācijas, kas ir mazākas par 0,1%, nav ziņojami bīstami materiāli saskaņā ar U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard communication un EK Direktīvu 91/155/EK. Nātrija azīds (NaN₃), ko lieto kā konservantu, ir toksisks, ja to norij. Nātrija azīds var reaģēt ar svina un vara santehniku, veidojot ļoti sprādzienbīstamus metālu azīdus. Pēc likvidēšanas izskalojiet ar lielu ūdens daudzumu, lai novērstu azīda uzkrāšanos santehnikā. (Slimību kontroles centrs, 1976, Nacionālais darba drošības un veselības institūts, 1976)⁶
2. Paraugi pirms un pēc fiksācijas un visi tiem pakļautie materiāli ir jārikojas tā, it kā tie varētu pārnēsāt infekciju, un tie jāiznīcina, ievērojot atbilstošus piesardzības pasākumus. Nekad nepieejiet reaģentus iekšīgi un izvairieties no saskares ar ādu un gļotādām ar reaģentiem un paraugiem. Ja reaģenti vai paraugi nonāk saskarē ar jutīgām zonām, nomazgājiet ar lielu ūdens daudzumu.⁷
3. Reaģentu mikrobu piesārņojums var izraisīt nespecifiskas krāsošanās palielināšanos.
4. Inkubācijas laiki vai temperatūras, kas atšķiras no norādītajām, var sniegt kļūdainus rezultātus. Lietotājam ir jāapstiprina visas šādas izmaiņas.
5. Nelietot reaģentu pēc derīguma termiņa beigām, kas norādīts uz flakona.
6. Iepriekš atšķaidīts anti vielu reaģents ir optimāli atšķaidīts lietošanai. Turpmāka atšķaidīšana var izraisīt antigēna krāsojuma zudumu.
7. Koncentrēta anti vielu reaģenta atšķaidīšana ir jāvaldīd pirms lietošanas. Jebkurš izmantotais šķīdinātājs, kas nav īpaši ieteikts, arī ir jāapstiprina savietojamībai un stabilitātei.
8. SDS ir pieejams pēc pieprasījuma un atrodas <http://biocare.net>.

Lietošanas instrukcija:

Ieteicamie krāsošanas protokoli HLA-B [BC43]:

IntelliPATH FLX un manuāla lietošana:

API3289 IntelliPATH FLX un manuālai lietošanai ir standartizēts ar MACH 4 noteikšanas sistēma. Mazgāšanas soļiem izmantojiet TBS.	
Peroxide Block:	Bloķējiet 5 minūtes ar peroksīdētu 1.
Pretreatment:	Veiciet siltuma izgūšanu, izmantojot Reveal Decloaker. Konkrētus norādījumus skatiet Reveal Decloaker datu lapā.
Protein Block (Optional):	Inkubējiet 5-10 minūtes istabas temperatūrā ar Background Punisher.
Primary Antibody:	Inkubē 30 minūtes RT.
Detection:	Zonde: inkubēt 10 minūtes RT ar sekundāro polimēru.
	Polimērs: inkubēt 20 minūtes RT ar terciāro polimēru.

Chromogen:	Inkubējiet 5 minūtes RT ar Biocare DAB – VAI – Inkubējiet 5–7 minūtes RT ar Warp Red.
Counterstain:	Pretkrāsot ar hematoksilīnu. Noskalo ar dejonizētu ūdeni. Uzklājiet Tacha's Bluing Solution 1 minūti. Noskalo ar dejonizētu ūdeni.

ONCORE Pro automatizētā priekšmetstiklīnu krāsošanas sistēma:

OPAI3289 ir paredzēts lietošanai ar ONCORE Pro. Konkrētus lietošanas norādījumus skatiet lietotāja rokasgrāmatā. Protokola parametri protokola redaktorā jāieprogramē šādi:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Ms HRP 1. veidne
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, zems pH līmenis; 101°C
Block Option:	Buferis
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 min., 25°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3289 ir paredzēts lietošanai ar BenchMark ULTRA. Konkrētus lietošanas norādījumus skatiet lietotāja rokasgrāmatā. Ieteicamie protokola parametri ir šādi:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minūtes
Peroxidase:	Pirms primārās peroksīdāzes inhibitoris
Primary Antibody:	8 minūtes, 36°C

O sērija — Leica BOND-III:

ALI3289 ir paredzēts lietošanai ar Leica BOND-III. Konkrētus lietošanas norādījumus skatiet lietotāja rokasgrāmatā. Ieteicamie protokola parametri ir šādi:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	IHC protokols F
Detection:	Bond Polymer Refine
HIER:	10 min ar ER1
Peroxide Block:	5 min
Marker (Primary Antibody):	15 min
Post Primary:	8 min
Polymer:	8 min
Mixed Chromogen Refine:	10 min
Hematoxylin:	5 min

Kvalitātes kontrole:

Skatiet CLSI kvalitātes standartus imūnhistokīmijas testu izstrādei un ieviešanai; Apstiprināts vadlīniju otrais izdevums (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011. gads⁸

Pozitīvā audu kontrole: Mandeles

Ārējiem pozitīvās kontroles materiāliem jābūt svaigiem paraugiem, kas fiksēti, apstrādāti un pēc iespējas ātrāk jāievieto tādā pašā veidā kā pacienta paraugs(-). Pozitīva audu kontrole liecina par pareizi sagatavotiem audiem

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Latvian

BIOCARE
M E D I C A L

un pareizām krāsošanas metodēm. Katrā krāsošanas ciklā jāiekļauj viena pozitīva ārējā audu kontrole katrai testa apstākļu kopai.

Ārējiem pozitīvās kontroles materiāliem izmantotie audi jāizvēlas no pacientu paraugiem ar labi raksturotu zemu pozitīvās mērķa aktivitātes līmeni, kas rada vāju pozitīvu krāsojumu. Zemais pozitivitātes līmenis ārējām pozitīvajām kontrolēm ir paredzēts, lai nodrošinātu smalku primāro antivielu jutības izmaiņu noteikšanu no nestabilitātes vai problēmām ar IHC metodoloģiju. Tirdzniecībā pieejamie audu kontroles priekšmetstikliņi vai paraugi, kas apstrādāti atšķirīgi no pacienta parauga(-iem), apstiprina tikai reaģenta darbību un nepārbauda audu sagatavošanu.

Zināmas pozitīvās audu kontroles ir jāizmanto tikai apstrādāto audu testā reaģentu pareizas darbības uzraudzībai, nevis kā palīgīdzeklis konkrētas pacienta paraugu diagnozes formulēšanā. Ja pozitīvās audu kontroles neizdodas uzrādīt pozitīvu iekrāsošanos, testa paraugu rezultāti jāuzskata par nederīgiem.

Negatīvo audu kontrole:

Izmantojiet negatīvu audu kontroli (pazīstama kā HLA-B negatīva), kas fiksēta, apstrādāta un iestrādāta identiski pacienta paraugam(-iem) katrā krāsošanas ciklā, lai pārbaudītu IHC primārās antivielas specifiskumu. mērķa antigēna demonstrēšana un sniegt norādi par specifisku fona krāsojumu (viltus pozitīva krāsošana). Arī dažādu šūnu tipu dažādība, kas atrodas lielākajā daļā audu sekciju, var Laboratorija izmantos kā iekšējās negatīvās kontroles vietas, lai pārbaudītu IHC darbību specifiskācijai. Paraugu veidi un avoti, ko var izmantot negatīviem audiem vadīklas ir uzskaitītas sadaļā Veiktspējas raksturlielumi.

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

Nespecifiskā negatīvā reaģenta kontrole:

Primārās antivielas vietā izmantojiet nespecifisku negatīvu reaģenta kontroli ar katra pacienta parauga daļu, lai novērtētu nespecifisko krāsošanos un ļauj labāk interpretēt specifisko krāsojumu antigēna vietā. Ideālā gadījumā negatīvā reaģenta kontrole satur HLA-B [BC43] IgG1 Kappa antivielu, kas iegūta no audu kultūras supernatanta tādā pašā veidā kā primārā anti-anti, bet tai nav specifiskas reaktivitātes ar cilvēka audiem tajā pašā matricā/šķīdumā kā Biocare anti-anti. Negatīvās kontroles antivielu atšķaida līdz tādai pašai imūnglobulīna vai proteīna koncentrācijai kā atšķaidītajai primārajai anti-anti antivielai, izmantojot identisku šķīdinātāju. Ja teļa augļa serums pēc apstrādes saglabājas tīrā anti-anti, teļa augļa serums ar proteīna koncentrāciju, kas līdzvērtīga atšķaidītajai lietošanai ir piemērota arī primārā anti-anti tajā pašā šķīdinātājā. (Skatīt pievienoto reaģentu). Atšķaidītajai vienu pašu var izmantot kā mazāk vēlamu alternatīvu iepriekš aprakstītajām negatīvajām reaģentu kontrolēm. Negatīvā reaģenta kontroles inkubācijas periodam jāatbilst primārās antivielas inkubācijas periodam.

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

Testa pārbaude:

Pirms antivielas vai krāsošanas sistēmas sākotnējās izmantošanas diagnostikas procedūrā, lietotājam jāpārbauda antivielas specifika, pārbaudot to uz vairākiem iekšējiem audiem ar zināmiem imūnhistoķīmiskās veiktspējas raksturlielumiem, kas atspoguļo zināmus pozitīvus un negatīvus audus. Skatiet kvalitātes kontroles procedūras, kas iepriekš aprakstītas šajā

produkta ievietošanas sadaļā, un KLP sertifikācijas programmas kvalitātes kontroles ieteikumus. (imūnhistoķīmijai un/vai NCCLS IHC vadlīnijām). Šīs kvalitātes kontroles procedūras jāatkārto katrai jaunai antivielu partijai vai ikreiz, kad notiek izmaiņas testa parametros. Veiktspējas raksturlielumu sadaļā uzskaitītie audi ir piemēroti testa pārbaudei.

Problēmu novēršana:

Ievērojiet antivielu specifiskā protokola ieteikumus saskaņā ar sniegto datu lapu. Ja rodas netipiski rezultāti, sazinieties ar Biocare tehnisko atbalstu pa tālruni 1-800-542-2002.

Krāsošanas interpretācija:

Pozitīvā audu kontrole:

Vispirms ir jāpārbauda pozitīvā audu kontrole, kas iekrāsota ar norādīto antivielu, lai pārlicinātos, ka visi reaģenti darbojas pareizi. Atbilstoša mērķa šūnu krāsošana (kā norādīts iepriekš) liecina par pozitīvu reaktivitāti. Ja pozitīvās audu kontroles neizdodas uzrādīt pozitīvu iekrāsošanos, visi testa paraugu rezultāti jāuzskata par nederīgiem. Reakcijas produkta krāsa var atšķirties atkarībā no izmantotajiem substrāta hromogēniem. Paredzamās krāsu reakcijas skatiet substrāta iepakojuma lappusēs. Turklāt metahromāziju var novērot krāsošanas metodes variācijās.

Ja tiek izmantots pretkrāsojums, atkarībā no inkubācijas ilguma un izmantotā pretkrāsojuma stipruma, pretkrāsošana izraisīs šūnu kodolu krāsojumu. Pārmērīga vai nepilnīga pretkrāsošana var apdraudēt pareizu rezultātu interpretāciju. Skatiet protokolu(-s), lai uzzinātu par ieteicamo pretkrāsošanu.

Negatīvo audu kontrole:

Negatīvā audu kontrole jāpārbauda pēc pozitīvās audu kontroles, lai pārbaudītu primārās antivielas mērķa antigēna marķēšanas specifiku. Specifiskas iekrāsošanās trūkums negatīvajā audu kontrolē apstiprina antivielu krusteniskās reaktivitātes trūkumu pret šūnām/šūnu komponentiem. Ja negatīvā ārējā audu kontrolē notiek specifiska iekrāsošanās (viltus pozitīva iekrāsošanās), pacienta parauga rezultāti jāuzskata par nederīgiem.

Nespecifiska krāsošana, ja tāda ir, parasti ir izkliedēta. Sporadisku saistaudu iekrāsošanos var novērot arī sekcijās no pārmērīgi formalīna fiksētiem audiem. Krāsošanas rezultātu interpretācijai izmantojiet neskartas šūnas. Nekrotiskas vai deģenerētas šūnas bieži krāsojas nespecifiski.

Pacienta audi:

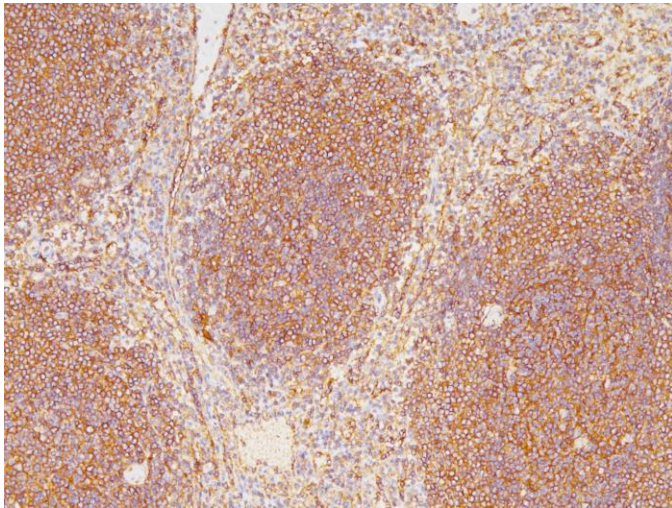
Pārbaudiet pacientu paraugus, kas iekrāsoti ar norādītajām antivielām Pēdējais. Pozitīvā krāsošanas intensitāte jānovērtē saistībā ar jebkuru nespecifisku negatīvā reaģenta kontroles fona krāsojumu. Tāpat kā ar jebkuru imūnhistoķīmisko testu, negatīvs rezultāts nozīmē, ka antigēns nav konstatēts, nevis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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Latvian

BIOCARE
M E D I C A L



Liesa iekrāsota ar HLA-B [BC43] antivielu

Lai iegūtu specifisku informāciju par norādīto antivielu imūnreaktivitāti, skatiet kopsavilkumu un skaidrojumu, ierobežojumus un veiktspējas raksturlielumus.

Ierobežojumi:

Vispārīgi ierobežojumi:

1. Priekš*in vitro* diagnostikas izmantošana
2. Šis produkts ir paredzēts tikai profesionālai lietošanai: Imūnhistokīmija ir daudzpakāpju diagnostikas process, kas sastāv no specializētas apmācības atbilstošu reaģentu izvēlē; audu atlase, fiksācija un apstrāde; IHC priekšmetstikliņa sagatavošana; un krāsošanas rezultātu interpretācija.
3. Audu krāsošana ir atkarīga no audu apstrādes un apstrādes pirms krāsošanas. Nepareiza fiksācija, sasaldēšana, atkausēšana, mazgāšana, žāvēšana, karsēšana, sadalīšana vai piesārņošana ar citiem audiem vai šķidrumiem var radīt artefaktus, antivielu slazdošanu vai viltus negatīvus rezultātus. Nekonsekventi rezultāti var būt fiksācijas un iegulšanas metožu atšķirību dēļ vai audos raksturīgu nelīdzenumu dēļ.¹²
4. Pārmērīga vai nepilnīga pretkrāsošana var apdraudēt pareizu rezultātu interpretāciju.
5. Jebkuras pozitīvas vai negatīvas iekrāsošanās klīniskā interpretācija jānovērtē klīniskā attēla, morfoloģijas un citu histopatoloģisku kritēriju kontekstā. Jebkuras pozitīvas vai negatīvas iekrāsošanās klīniskā interpretācija jāpapildina ar morfoloģiskiem pētījumiem, izmantojot atbilstošus pozitīvos un negatīvos iekšējos un ārējos kontroles testus, kā arī citus diagnostikas testus. Kvalificēts patologs, kurš ir iepazinies ar pareizu IHC antivielu, reaģentu un metožu lietošanu, ir atbildīgs, lai interpretētu visas darbības, kas izmantotas, lai sagatavotu un interpretētu galīgo IHC preparātu.
6. Optimālais antivielu atšķaidījums un protokoli konkrētam lietojumam var atšķirties. Tie ietver (bet ne tikai) fiksāciju, siltuma iegūšanas metodi, inkubācijas laikus, audu sekcijas biezumu un izmantoto noteikšanas komplektu. Šo unikālo reaģentu augstākās jutības dēļ norādītie ieteicamie inkubācijas laiki un titri nav piemērojami citām noteikšanas sistēmām, jo rezultāti var atšķirties. Datu lapas ieteikumi ir protokoli ir balstīti uz ekskluzīvu Biocare produktu izmantošanu. Galu galā pētnieka pienākums ir noteikt optimālos apstākļus.
7. Šis produkts nav paredzēts izmantošanai plūsmas citometrijā. Plūsmas citometrijas veiktspējas raksturlielumi nav noteikti.

8. Audos no personām, kas inficētas ar B hepatīta vīrusu un satur B hepatīta virsmas antigēnu (HBsAg), var būt nespecifiska iekrāsošanās ar mārurtku peroksidāzi.¹³
9. Reaģenti var parādīt negaidītas reakcijas iepriekš nepārbaudītos audos. Negaidītu reakciju iespējamību pat pārbaudītajās audu grupās nevar pilnībā novērst antigēnu ekspresijas bioloģiskās variabilitātes dēļ jaunveidojumos vai citos patoloģiskos audos.¹⁴ Sazinieties ar Biocare tehnisko atbalstu pa tālruni 1-800-542-2002 vai izmantojot tehniskā atbalsta informāciju, kas sniegta vietnē biocare.net, norādot dokumentētu neparedzētu reakciju.
10. Normāli/neimūnie serumi no tā paša dzīvnieku izcelsmes avota kā sekundārie antiserumi, ko izmanto bloķēšanas posmos, var izraisīt kļūdaini negatīvus vai kļūdaini pozitīvus rezultātus autoantivielu vai dabisko antivielu dēļ.
11. Kļūdaini pozitīvus rezultātus var redzēt proteīnu vai substrāta reakcijas produktu neimunoloģiskas saistīšanās dēļ. Tos var izraisīt arī pseidoperoksidāzes aktivitāte (eritrocīti), endogēna peroksidāzes aktivitāte (citohroms C) vai endogēns biotīns (piemēram, aknas, krūts, smadzenes, nieres) atkarībā no izmantotā imūnkrāsojuma veida.¹²

Produkta specifiskie ierobežojumi:

Nav zināmi nekādi papildu ierobežojumi.

Veiktspējas raksturojums:

Jutība, specifiskums un krusteniskā reaktivitāte ir apkopotas attiecīgi 1. un 2. tabulā.

Reproducējamība:

Antivielu veiktspējas reproducējamība tika pārbaudīta, testējot atlasītos normālos un audzēja audus dažādās dienās un dažādus instrumentus ar vairākiem operatoriem. Atlasīto audu krāsošana bija konsekventa un tika veikta, kā paredzēts.

Krāsošanas reproducējamība tika noteikta, krāsojot piecus audus, kas satur vienu un to pašu audu, uz vairākiem instrumentiem.

Krāsošanas reproducējamība starp sērijām tika noteikta, krāsojot piecus priekšmetstikliņus, kas satur vienus un tos pašus audus, trīs dienas/darbos ar to pašu instrumentu. Visas pārbaudes tika izturētas ar vienādiem rādītājiem, kā noteikts Biocare iekšējās vērtēšanas vadlīnijās.

Imūnreaktivitāte:

Tālāk 1. un 2. tabulā ir parādītas šādas pozitīvās un negatīvās imūnreaktivitātes.

Tālāk sniegtais saraksts nav pilnīgs, bet raksturo imūnreaktivitātes veidus, kas novēroti ar norādīto antivielu.

Sagaidāmo rezultātu kopsavilkums:

Tika konstatēts, ka šī anti-HLA-B [BC43] antivielu ir imūnreaktīva ar visu veidu audiem, uz kuriem tā tika pārbaudīta, tostarp visu veidu limfomas un normāliem cilvēka audiem. Krāsojums pārsvarā ir membrānas, bet var parādīties arī citoplazmas paraugos ar augstu ekspresiju. Krāsošana pārsvarā ir endotēlija šūnās un limfocītos ar mazāku izplatību dažos audos epitēlija šūnās.

1. tabula: Jutīgums un specifiskums tika noteikts, pārbaudot formalinā fiksētus, parafinā iestrādātus slimos audus.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Latvian

BIOCARE
M E D I C A L

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

2. tabula: Audu krusteniskā reaktivitāte tika noteikta, pārbaudot ar formalīnu fiksētus, parafinā iestrādātus normālus audus.

Audu	Pozitīvi gadījumi	Kopējais lietu skaits
Smadzenes	5	6
Smadzenītes	3	3
Virsnieru dziedzeris	3	3
Olnīca	2	3
Aizkuņģa dziedzeris	3	3
Limfmezgls	3	3
Traheja	3	3
Sēklinieks	5	5
Vairogdziedzeris	3	3
Krūtis	2	2
Liesa	4	4
Mandēles	3	3
Thymus	3	3
Kaulu smadzenes	3	3
Plaušas	3	3
Sirds	3	3
Barības vads	3	3
Vēders	2	3
Tievās zarnas	3	3
Kols	3	3
Aknas	3	3
Siekalu dziedzeris	3	3
Nieres	3	3
Prostata	3	3
Dzemde	3	3
Dzemes kakls	3	3
Skeleta muskulis	2	3
Āda	2	2
Perifērais nervs	3	3
Oderējuma šūnas	2	2
Acs	3	3
Balsene	3	3

Problēmu novēršana:

1. Priekšmetstiklīni nav iekrāsoti – pārbaudiet, lai noteiktu, vai ir izmantoti atbilstoši pozitīvās kontroles audi, antivielas un noteikšanas produkti.

2. Vāja visu priekšmetstiklīņu krāsošana – pārbaudiet, lai noteiktu, vai ir izmantoti atbilstoši pozitīvās kontroles audi, antivielas un noteikšanas produkti.

3. Pārmērīgs visu priekšmetstiklīņu fons — var būt augsts endogēnā biotīna līmenis (ja izmanto noteikšanas produktus uz biotīna bāzes), endogēna HRP aktivitāte, kas pārvērš hromogēnu krāsainā galaproduktā (izmantojiet peroksīdāzes bloku) vai pārmērīga nespecifiskā proteīna mijiedarbība (izmantojiet proteīnu). blokādi, piemēram, bloķējošs šķīdums uz seruma vai kažeina bāzes).

4. Audu sekcijas nomazgā priekšmetstiklīņu inkubācijas laikā – pārbaudiet priekšmetstiklīņus, lai pārliecinātos, ka tie ir pozitīvi uzlādēti.

5. Īpaša krāsošanās ir pārāk tumša – pārbaudiet protokolu, lai noteiktu, vai priekšmetstiklīņiem ir piemērots pareizs antivielu titrs, kā arī pareizu visu reaģentu inkubācijas laiku. Turklāt pārliecinieties, ka protokolā ir pietiekami daudz mazgāšanas soļu, lai pēc inkubācijas darbību pabeigšanas noņemtu liekos reaģentus.

Atsauces:

- Kērns JA. Histoloģiskās un histokīmiskās metodes: teorija un prakse. Ņujorka: Pergamon Press 1981.
- Sheehan DC un Hrapchak BB. Histotehnoloģijas teorija un prakse. Sentluisa: C.V. Mosby Co. 1980.
1988. gada klīniskās laboratorijas uzlabošanas grozījumi: galīgais noteikums, 57 FR 7163, 1992. gada 28. februāris.
- Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
- Teilors CR, et al. Biotech Histochem. 1996. gada janvāris;71(5):263-70.
- Slimību kontroles centra rokasgrāmata. Rokasgrāmata: Drošības vadība, NR. CDC-22, Atlanta, GA. 1976. gada 30. aprīlis "Laboratorijas izlietņu noteikas dekontaminācija azīda sāļu noņemšanai".
- Klīnisko un laboratorijas standartu institūts (CLSI). Laboratorijas darbinieku aizsardzība pret arodinfekcijām; Apstiprinātais vadlīniju ceturtais izdevums CLSI dokuments M29-A4 Wayne, PA 2014.
- CLSI kvalitātes standarti imūnhistokīmijas testu izstrādei un ieviešanai; Apstiprināts vadlīniju otrais izdevums (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011. gads
- Amerikas Patologu koledžas (CAP) Imūnhistokīmijas sertifikācijas programma. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
- O'Lirijs TJ, Edmonds P, Floids AD, Mesa-Tejada R, Robinovics M, Takes PA, Taylor CR. Kvalitātes nodrošināšana imūncitokīmijai; Ierosinātā vadlīnija. MM4-P. Nacionālā klīnisko laboratoriju standartu komiteja (NCCLS). Veins, PA. 1997;1-46.
- Koretzik K, Lemain ET, Brandt I un Moller P. 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) metahromāzija un tās novēšana imūnoperoksīdāzes metodēs. Histokīmija 1987; 86:471-478.
- Nadji M, Morales, AR. Imūnoperoksīdāze, I daļa: metodes un tās nepilnības. Lab Med 1983; 14:767.
- Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Mārrutku peroksīdāzes neimūnoloģiskā saistīšanās ar B hepatīta virsmas antigēnu: iespējama kļūdu avots imūnhistokīmijā. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
- Herman GE un Elfont EA. Imūnhistokīmijas pieradināšana: jaunais kvalitātes laikmets kontrole. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
- Olsons E, Geng J, Raghavan M. HLA-B polimorfismi: ietekme uz montāžu un imunitāti. Curr Opin Immunol. 2020. gada jūnijs; 64:137-145.
- Rizvi SM, Salam N, Geng J u.c. Atšķirīgi HLA-B molekulu montāžas profili. J Immunol. 2014. gada 1. jūnijs; 192(11):4967-76.

Ultrāline antivielas izstrādā tikai Biocare Medical LLC, un tas nenozīmē, ka Ventana Medical Systems, Inc vai Roche ir apstiprinājusi vai apstiprinājusi Biocare antivielas. Biocare, Ventana un Roche nav nekādā veidā saistīti, saistīti vai saistīti. Ventana®, BenchMark®, ultraView un OptiView ir Roche preču zīmes.

Q sērijas antivielas izstrādā tikai Biocare Medical LLC, un tas nenozīmē, ka Leica Biosystems ir apstiprinājusi vai apstiprinājusi Biocare antivielas. Biocare un Leica Biosystems nav nekādā veidā saistīti, saistīti vai saistīti. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX un BOND-III ir Leica Biosystems preču zīmes.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

94/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Lithuanian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Paskirtis:

Dėl *in vitro* Diagnostinis naudojimas

HLA-B [BC43] yra pelės monokloninis antikūnas, skirtas laboratoriniam naudojimui po to, kai pradinė naviko diagnozė buvo atlikta įprastine histopatologija, naudojant neimunologinius histocheminius dėmes, kokybiniam HLA-B identifikavimui. baltymo imunohistochemijos (IHC) būdu formalinu fiksuotuose parafinu įterptuose (FFPE) žmogaus audiniuose. Klinikinis bet kokio dažymo ar jo nebuvimo aiškinimas turėtų būti papildytas morfologiniais tyrimais, naudojant tinkamą kontrolę, ir turėtų būti įvertintas atsižvelgiant į paciento klinikinę istoriją ir kitus diagnostinius tyrimus, kuriuos atlieka kvalifikuotas patologas, kad būtų galima atlikti kitus klinikinis sprendimus.

Santrauka ir paaiškinimas:

HLA-B yra labai polimorfinis baltymas, koduojantis pagrindinį I histokompatibilumo klasės (MHC-I) kompleksą.¹⁵ MHC I klasės molekulės ekspresuojamos ląstelės paviršiuje, surišdamos ir pateikdamos antigeninius peptidus CD8+ T limfocitams, kad tarpininkautų imuniniam atsakui prieš tarpląstelinius patogenus ir vėžį.¹⁶

Procedūros principas:

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

Medžiagos ir metodai:

Pateikiami reagentai:

Prieglobos šaltinis: Pelės monokloninės

Rūšių reaktyvumas: Žmogus; kitos rūšys, netirtos.

Klonuoti: BC43

Izotipas: IgG1 kapa

Baltymų koncentracija: Konkrečią partijos koncentraciją žr. flakono etiketėje.

Konkreči IgG koncentracija: susisiekite su Biocare technine pagalba

Specifiškumas: HLA-B

Mobilioji lokalizacija: Ląstelės membrana

Metodas: Afinitetu išgryninta pelė monokloninė

Atskiedimas, maišymas, skiedimas, titravimas:

Iš anksto praskiestas antikūnų reagentas yra optimaliai atskiestas naudoti su aukščiau išvardytomis dažymo sistemomis. Tolesnis skiedimas gali sukelti antigeno dažymo praradimą. Tolesnis skiedimas gali sukelti antigeno dažymo praradimą. Vartotojas turi patvirtinti visus tokius pakeitimus. Audinių

apdoravimo ir techninių procedūrų skirtumai Vartotojo laboratorijoje rezultatai gali labai skirtis, todėl reikia reguliariai atlikti vidaus kontrolę (žr. Kokybės kontrolės skyrių). Koncentruotą reagentą reikia skiesti, kaip nurodyta aukščiau esančioje lentelėje.

Žinomos programos:

Imunohistochemija (formalinu fiksuoti audiniai, įterpti į parafiną)

Tiekiami kaip: Buferinis druskos tirpalas, 5,9–7,4, kurių sudėtyje yra baltymų nešiklio ir mažiau nei 0,1 % natrio azido konservanto. Daugiau informacijos rasite saugos duomenų lape.

Reikalingos, bet nepateiktos medžiagos ir reagentai:

Mikroskopo skaidrės įkrautos teigiamai.

Teigiama ir neigiama audinių kontrolė

Dykumos kamera (arba panaši džiovinimo krosnis)

Ksilenas arba ksileno pakaitalas

Etanolis arba alkoholio reagentas

Užblokavimo kamera (slėginė viryklė)

Dejonizuotas arba distiliuotas vanduo

Skalbimo buferis

Pirminio apdoravimo reagentai

Peroksidazės blokada

Baltymų blokas (neprivaloma)

Aptikimo zondas ir polimeras

Neigiami kontroliniai reagentai

Chromogenai

Hematoksilinas (priežastis)

Mėlynoji reagentas

Montavimo terpė

Dengiamasis stiklas

Šviesos mikroskopas (40–400X padidinimas)

*Antikūnų produkto konfigūracijas galima naudoti aukščiau esančioje lentelėje nurodytose priemonėse.

Sandėliavimas ir stabilumas:

Laikyti 2°C – 8°C temperatūroje. Laikant tokiomis sąlygomis, produktas yra stabilus iki galiojimo datos, nurodytos ant buteliuko etiketės. Nenaudoti pasibaigus tinkamumo laikui. Turi būti patikrintas saugojimas bet kokiomis kitomis sąlygomis nei nurodytos. Praskiesti reagentai turi būti naudojami nedelsiant; likusį reagentą laikykite 2–8 °C temperatūroje. Biocare nenustatė vartotojo praskiesto reagento stabilumo.

Teigiamas ir neigiamas kontrolė turi būti atliekama vienu metu su visais paciento mėginiais. Jei pastebimas netikėtas dažymas, kurio negalima paaiškinti laboratorinių procedūrų skirtumais, ir įtariate antikūnų problemą, susisiekite su Biocare techninės pagalbos tarnyba telefonu 1-800-542-2002 arba per techninės pagalbos informaciją, pateiktą biocare.net.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

95/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Lithuanian

BIOCARE
M E D I C A L

Mėginio paruošimas:

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

Tinkamai fiksuoti ir įterpti audiniai, išreiškiantys nurodytą antigeno taikinį, turi būti laikomi vėsioje vietoje. 1988 m. Klinikinių laboratorijų tobulinimo įstatymas (CLIA) reikalauja 42 CFR§493.1259(b), kad „Laboratorija turi saugoti beicuotus stiklelius mažiausiai dešimt metų nuo ištirti ir saugoti mėginių blokus mažiausiai dvejus metus nuo tyrimo datos.“³

Audinių gydymas prieš dažymą:

Atlikite šilumos sukeltą epitopų paiešką (HIER) pagal toliau pateiktą rekomenduojamą protokolą. Įrodyta, kad įprastas HIER naudojimas prieš IHC sumažina nenuoseklumą ir standartizuoja dažymą.^{4,5}

Įspėjimas ir atsargumo priemonės:

- Šiame antikūne yra mažiau nei 0,1 % natrio azido. Pagal JAV 29 CFR 1910.1200, OSHA pranešimus apie pavojų ir EB direktyvą 91/155/EB, mažesnės nei 0,1 % koncentracijos nėra pavojingos medžiagos. Natrio azidas (NaN₃), naudojamas kaip konservantas, yra toksiškas prarijus. Natrio azidas gali reaguoti su švino ir vario vandentikiu ir sudaryti labai sprogius metalo azidus. Išmetus, nuplaukite dideliu kiekiu vandens, kad vandentikiyje nesikaupytų azidas. (Ligų kontrolės centras, 1976 m., Nacionalinis darbuotojų saugos ir sveikatos institutas, 1976 m.)⁶
- Mėginiai prieš ir po fiksavimo bei visos su jais paveiktos medžiagos turi būti tvarkomos taip, lyg galėtų perduoti infekciją, ir sunaikintos laikantis tinkamų atsargumo priemonių. Niekada nepilkite reagentų pipete per burną ir venkite reagentų bei mėginių sąlyčio su oda ir gleivinėmis. Jei reagentai ar mėginiai pateko į jautrias vietas, nuplaukite dideliu kiekiu vandens.⁷
- Mikrobinis reagentų užterštumas gali padidinti nespecifinį dažymą.
- Kitos nei nurodytos inkubacijos trukmės arba temperatūros rezultatai gali duoti klaidingus rezultatus. Vartotojas turi patvirtinti visus tokius pakeitimus.
- Nenaudokite reagento pasibaigus tinkamumo laikui, nurodytam ant buteliuko.
- Iš anksto praskiestas antikūnų reagentas yra optimaliai atskiestas naudojimui. Tolesnis skiedimas gali sukelti antigeno dažymo praradimą.
- Koncentruoto antikūno reagento praskiedimas turi būti patvirtintas prieš naudojimą. Bet koks naudojamas skiediklis, kuris nėra specialiai rekomenduojamas, taip pat turi būti patvirtintas dėl suderinamumo ir stabilumo.
- SDS galima gauti paprašius ir jis yra adresu <http://biocare.net>.

Naudojimo instrukcijos:

Rekomenduojami HLA-B dažymo protokolai [BC43]:

„IntelliPATH FLX“ ir rankinis naudojimas:

API3289, skirtas IntelliPATH FLX ir rankiniam naudojimui, buvo standartizuotas su MACH 4 aptikimo sistema. Skalavimo etapams naudokite TBS.	
Peroxide Block:	Blokuokite 5 minutes su Peroxidized 1.
Pretreatment:	Atlikite šilumos paėmimą naudodami Reveal Decloaker. Konkretų instrukcijų ieškokite Reveal Decloaker duomenų lape.
Protein Block (Optional):	Inkubuokite 5–10 minučių kambario temperatūroje su Background Punisher.
Primary Antibody:	Inkubuokite 30 minučių kambario temperatūroje.
Detection:	Zondas: inkubuokite 10 minučių kambario temperatūroje su antriniu polimeru.
	Polimeras: inkubuokite 20 minučių kambario temperatūroje su tretiniu polimeru.

Chromogen:	Inkubuokite 5 minutes kambario temperatūroje su Biocare DAB – ARBA – Inkubuokite 5–7 minutes kambario temperatūroje su Warp Red.
Counterstain:	Priešgaisrinis dažymas hematoksilinu. Nuplaukite dejonizuotu vandeniu. Taikyti Tacha's Bluing tirpalą 1 minutę. Nuplaukite dejonizuotu vandeniu.

ONCORE Pro automatinė stiklelių dažymo sistema:

OPAI3289 skirtas naudoti su ONCORE Pro. Konkretų naudojimo instrukcijų ieškokite vartotojo vadove. Protokolo parametrai protokolų rengyklėje turi būti užprogramuoti taip:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Ms HRP 1 šablonas
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, žemas pH; 101°C
Block Option:	Buferis
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 min., 25°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3289 skirtas naudoti su BenchMark ULTRA. Konkretų naudojimo instrukcijų ieškokite vartotojo vadove. Rekomenduojami protokolo parametrai yra tokie:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minutės
Peroxidase:	Priešpirminis peroksidazės inhibitorius
Primary Antibody:	8 minutes, 36°C

Q serija – skirta Leica BOND-III:

AL13289 skirtas naudoti su Leica BOND-III. Konkretų naudojimo instrukcijų ieškokite vartotojo vadove. Rekomenduojami protokolo parametrai yra tokie:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	IHC protokolas F
Detection:	Klijavimo polimeras Rafine
HIER:	10 min su ER1
Peroxide Block:	5 min
Marker (Primary Antibody):	15 min
Post Primary:	8 min
Polymer:	8 min
Mixed Chromogen Refine:	10 min
Hematoxylin:	5 min

Kokybės kontrolė:

Žr. CLSI Imunohistocheminių tyrimų projektavimo ir įgyvendinimo kokybės standartus; Patvirtintas gairių antrasis leidimas (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA JAV (www.clsi.org). 2011 m⁸

Teigiama audinių kontrolė: Tonzilė

Išorinės teigiamos kontrolės medžiagos turi būti švieži mėginiai, užfiksuoti, apdoroti ir įterpti kuo greičiau tokiu pačiu būdu, kaip ir paciento mėginys (-iai). Teigiamas audinių kontrolė rodo tinkamai paruoštus audinius ir tinkamus

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Lithuanian

BIOCARE
M E D I C A L

dažymo būdus. Į kiekvieną dažymo eigą turėtų būti įtraukta viena teigiama išorinio audinio kontrolė kiekvienam tyrimo sąlygų rinkiniui.

Audiniai, naudojami išorinėms teigiamoms kontrolinėms medžiagoms, turėtų būti parenkami iš pacientų mėginių, kurių teigiamas tikslinis aktyvumas yra žemas, o tai suteikia silpną teigiamą dažymą. Žemas teigiamumo lygis išorinėms teigiamoms kontrolėms skirtas užtikrinti subtilių pirminių antikūnų jautrumo pokyčių, atsirandančių dėl nestabilumo arba problemų, susijusių su IHC metodika, aptikimą. Parduodamos audinių kontrolinės skaidrės arba mėginiai, apdoroti kitaip nei paciento mėginys (-iai), patvirtina tik reagento veikimą ir netikrina audinių paruošimo.

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

Neigiamų audinių kontrolė:

Naudokite neigiamą audinių kontrolę (žinoma, kad ji yra neigiama HLA-B), fiksuota, apdorota ir įterpta taip, kaip ir paciento mėginys (-iai) su kiekvienu dažymu, kad patikrintumėte IHC pirminio antikūno specifiskumą. tikslinio antigeno demonstravimas ir specifinio fono dažymo požymis (klaidingai teigiamas dažymas). Be to, daugumoje audinių sekcijų gali būti įvairių tipų ląstelių Laboratorijos gali naudoti kaip vidines neigiamas kontrolės vietas, kad patikrintų IHC veikimą specififikacijas. Mėginių, kurie gali būti naudojami neigiamiems audiniams, tipai ir šaltiniai valdikliai išvardyti skyriuje Veikimo charakteristikos.

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

Nespecifinė neigiamo reagento kontrolė:

Vietoj pirminio antikūno naudokite nespecifinio neigiamo reagento kontrolę su kiekvieno paciento mėginio dalimi, kad įvertintumėte nespecifinį dažymąsi ir leidžia geriau interpretuoti specifinį dažymąsi antigeno vietoje. Idealiu atveju neigiamo reagento kontrolėje yra HLA-B [BC43] IgG1 Kappa antikūnas, pagamintas iš audinių kultūros supernatanto taip pat, kaip ir pirminis antikūnas, bet neturi specifinio reaktyvumo su žmogaus audiniais toje pačioje matricoje / tirpale, kaip ir pirminis antikūnas. Biocare antikūnas. Praskieskite neigiamą kontrolinį antikūną iki tokios pat imunoglobulino ar baltymo koncentracijos kaip ir praskiestas pirminis antikūnas naudojant identišką skiediklį. Jei po apdoravimo veršelio vaisiaus serumas lieka gryname antikūne, veršelio vaisiaus serume, kurio baltymų koncentracija lygi praskiestai Pirminis antikūnas tame pačiame skiediklyje taip pat tinkamas naudoti. (Žr. pateiktą reagentą). Vien tik skiediklis gali būti naudojamas kaip mažiau pageidautina anksčiau aprašytų neigiamų reagentų kontrolės alternatyva. Neigiamo reagento kontrolės inkubacinis laikotarpis turi atitikti pirminio antikūno inkubacinį laikotarpį.

Kai serijiniuose pjūviuose naudojamos kelių antikūnų plokštės, vieno stiklelio neigiamai nusidažiusios sritys gali būti neigiamos / nespecifinės kitų antikūnų surišimo fono kontrolė. Norint atskirti endogeninį fermentų aktyvumą arba nespecifinį fermentų prisijungimą nuo specifinio imunoreaktyvumo, papildomi paciento audiniai gali būti nudažyti tik atitinkamai substrato-chromogeno arba fermentų kompleksais (PAP, avidino-biotino, streptavidino) ir substrato-chromogenu.

Tyrimo patvirtinimas:

Prieš pradėdamas naudoti antikūną arba dažymo sistemą diagnostikos procedūroje, vartotojas turėtų patikrinti antikūno specifiskumą,

išbandydamas jį su keletu vidinių audinių su žinomomis imunohistocheminėmis charakteristikomis, atitinkančiomis žinomus teigiamus ir neigiamus audinius. Žr. kokybės kontrolės procedūras, anksčiau aprašytas šiame gaminio informacinio lapelio skyriuje, ir BŽŪP sertifikavimo programos kokybės kontrolės rekomendacijas.^a imunohistochemijai ir (arba) NCCLS IHC gairėms^b). Šios kokybės kontrolės procedūros turi būti kartojamos kiekvienai naujai antikūnų partijai arba kiekvieną kartą, kai pasikeičia tyrimo parametrai. Veikimo charakteristikų skyriuje išvardyti audiniai yra tinkami tyrimo patikrinimui.

Problemų sprendimas:

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

Dažymo aiškinimas:

Teigiama audinių kontrolė:

Pirmiausia reikia iširti teigiamą audinių kontrolę, nudažytą nurodytu antikūnu, siekiant įsitikinti, kad visi reagentai veikia tinkamai. Tinkamas tikslinių ląstelių dažymas (kaip nurodyta aukščiau) rodo teigiamą reaktyvumą. Jei teigiami audinių kontroliniai mėginiai neparodo teigiamo dažymosi, visi bandinių rezultatai turėtų būti laikomi negaliojančiais. Reakcijos produkto spalva gali skirtis priklausomai nuo naudojamų substrato chromogenų. Numatytas spalvų reakcijas žr. pagrindo pakuotės lapeliuose. Be to, metachromazija gali būti stebima dažymo metodo variantuose.¹¹

Kai naudojamas kontrastinis dažymas, priklausomai nuo inkubacijos trukmės ir naudojamo priešinio dažymo stiprumo, priešdažymas sukels ląstelių branduolių spalvą. Pernelyg didelis arba neišsamus dažymas gali pakenkti tinkamam rezultatų interpretavimui. Žr. protokolą (-us) dėl rekomenduojamo priešdažo.

Neigiamų audinių kontrolė:

Neigiama audinių kontrolė turėtų būti iširta po teigiamos audinių kontrolės, siekiant patikrinti tikslinio antigeno žymėjimo pirminių antikūnų specifiskumą. Specifinio dažymo nebuvimas neigiamoje audinių kontrolėje patvirtina antikūnų kryžminio reaktyvumo su ląstelėmis / ląstelių komponentais nebuvimą. Jei neigiamo išorinio audinio kontrolėje atsiranda specifinis dažymas (klaidingai teigiamas dažymas), paciento mėginio rezultatai turėtų būti laikomi negaliojančiais.

Nespecifinis dažymas, jei yra, paprastai turi difuzinį vaizdą. Sporadinis jungiamojo audinio dažymas taip pat gali būti stebimas pjūviuose iš pernelyg formalino fiksuotų audinių. Dažymo rezultatams interpretuoti naudokite nepažeistas ląsteles. Nekrotinės arba išsigimusios ląstelės dažnai nusidažo nespecifiškai.

Paciento audiniai:

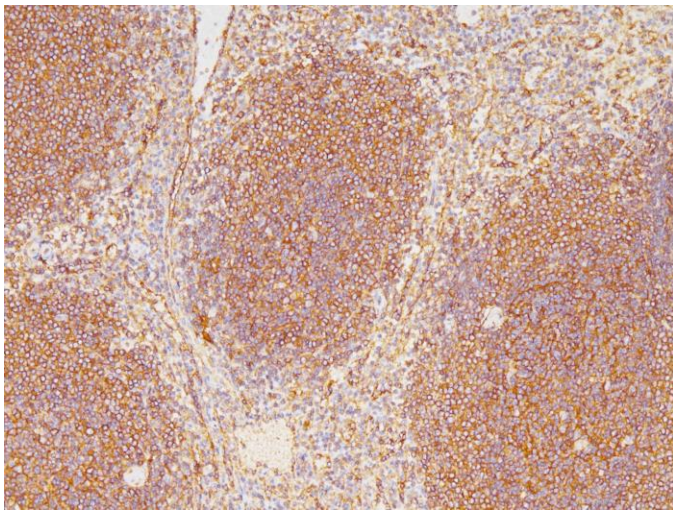
Ištirkite paciento mėginius, nudažytus nurodytais antikūnais paskutinis. Teigiamas dažymo intensyvumas turėtų būti vertinamas atsižvelgiant į bet kokį nespecifinį neigiamo reagento kontrolės foninį dažymą. Kaip ir bet kurio imunohistocheminio tyrimo atveju, neigiamas rezultatas reiškia, kad antigenas nebuvo aptiktas, o ne tai, kad antigeno nebuvo tiriamose ląstelėse / audiniuose. Jei reikia, naudokite antikūnų grupę, kad nustatytumėte klaidingai neigiamas reakcijas.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Lithuanian

BIOCARE
M E D I C A L



Blužnis nudažyta HLA-B [BC43] antikūnu

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

Apribojimai:

Bendrieji apribojimai:

1. Dėl *in vitro* diagnostinis naudojimas
2. Šis gaminytis skirtas tik profesionaliam naudojimui: Imunohistochemija yra daugiapakopis diagnostikos procesas, kurį sudaro specializuoti mokymai parinkti tinkamus reagentus; audinių parinkimas, fiksavimas ir apdorojimas; IHC stiklelio paruošimas; ir dažymo rezultatų interpretavimas.
3. Audinių dažymas priklauso nuo audinio tvarkymo ir apdorojimo prieš dažymą. Netinkamas fiksavimas, užšaldymas, atšildymas, plovimas, džiovinimas, kaitinimas, pjaustymas arba užteršimas kitais audiniais ar skysčiais gali sukelti artefaktus, antikūnų įstrigimą arba klaidingai neigiamus rezultatus. Nenuoseklūs rezultatai gali atsirasti dėl fiksavimo ir įterpimo metodų skirtumų arba dėl įgimtų audinių nelygumų.¹²
4. Pernelyg didelis arba neišsamus dažymas gali pakenkti tinkamam rezultatų interpretavimui.
5. Klinikinis bet kokio teigiamo ar neigiamo dažymo aiškinimas turi būti įvertintas atsižvelgiant į klinikinį vaizdą, morfologiją ir kitus histopatologinius kriterijus. Klinikinis bet kokio teigiamo ar neigiamo dažymo aiškinimas turėtų būti papildytas morfologiniais tyrimais, naudojant tinkamą teigiamą ir neigiamą vidinę ir išorinę kontrolę, taip pat kitus diagnostinius tyrimus. Kvalifikuotas patologas, susipažinęs su tinkamu IHC antikūnų, reagentų ir metodų naudojimu, yra atsakingas už visus veiksnius, naudojamus ruošiant ir interpretuojant galutinį IHC preparatą.
6. Optimalus antikūnų skiedimas ir protokolai konkrečiam naudojimui gali skirtis. Tai apima, bet tuo neapsiribojant, fiksavimą, šilumos atgavimo metodą, inkubacijos laiką, audinio pjūvio storį ir naudojamą aptikimo rinkinį. Dėl didesnio šių unikalių reagentų jautrumo išvardyti rekomenduojami inkubavimo laikai ir titrai netaikomi kitoms aptikimo sistemoms, nes rezultatai gali skirtis. Duomenų lapo rekomendacijos ir protokolai yra pagrįsti išskirtiniu Biocare produktų naudojimu. Galiausiai tyrėjas turi nustatyti optimalias sąlygas.
7. Šis produktas nėra skirtas naudoti srauto citometrijoje. Srauto citometrijos veikimo charakteristikos nenustatytos.
8. Asmenų, užsikrėtusių hepatito B virusu ir turinčių hepatito B paviršiaus antigeno (HBsAg), audiniai gali būti nespecifiniai krienų peroksidaze.¹³

9. Reagentai gali parodyti netikėtas reakcijas anksčiau nepatikrintuose audiniuose. Netikėtų reakcijų galimybės net tirtose audinių grupėse negali būti visiškai pašalintos dėl biologinio antigeno ekspresijos neoplazmų ar kitų patologinių audinių kintamumo.¹⁴ Susisiekite su Biocare technine pagalba telefonu 1-800-542-2002 arba per techninės pagalbos informaciją, pateiktą biocare.net, ir pateikite dokumentuotą (-as) netikėtą (-as) reakciją (-as).
10. Normalūs/neimuniniai serumai iš to paties gyvūninio šaltinio kaip ir antriniai antisera, naudojami blokavimo etapuose, dėl autoantikūnų arba natūralių antikūnų gali sukelti klaidingai neigiamus arba klaidingai teigiamus rezultatus.
11. Klaidingai teigiami rezultatai gali būti matomi dėl neimunologinio baltymų ar substrato reakcijos produktų prisijungimo. Juos taip pat gali sukelti pseudoperoksidazės aktyvumas (eritrocitai), endogeninis peroksidazės aktyvumas (citochromas C) arba endogeninis biotinas (pvz., kepenys, krūties, smegenys, inkstai), priklausomai nuo naudojamos imuninės dažų rūšies.¹²

Specifiniai gaminių apribojimai:

Papildomų apribojimų nėra žinoma.

Veikimo charakteristikos:

Jautrumas, specifiskumas ir kryžinis reaktyvumas apibendrinti atitinkamai 1 ir 2 lentelėse.

Atkuriamumas:

Antikūnų veikimo atkuriamumas buvo patikrintas tiriant atrinktus normalius ir naviko audinius įvairiomis dienomis ir įvairiais instrumentais su keliais operatoriais. Pasirinktų audinių dažymas buvo nuoseklus ir atliktas taip, kaip tikėtasi.

Dažymo atkartojamumas buvo nustatytas nudažant penkis audinius, kuriuose yra tas pats audinys, naudojant kelis instrumentus.

Dažymo atkartojamumas tarp bandymų buvo nustatytas nudažant penkias stikleles, kuriose yra tas pats audinys, tris dienas / bandymus tuo pačiu instrumentu. Visi bandymai buvo išlaikyti su tais pačiais balais, kaip apibrėžta „Biocare“ vidinėse balų nustatymo gairėse.

Imunoreaktyvumas:

Toliau pateikiami teigiami ir neigiami imunoreaktyvumai parodyti 1 ir 2 lentelėse.

Toliau pateiktas sąrašas nėra baigtinis, bet apibūdina imunoreaktyvumo tipus, pastebėtus naudojant nurodytą antikūną.

Tikėtinų rezultatų suvestinė:

Nustatyta, kad šis antikūnas yra imunoreaktyvus su visų tipų audiniais, kuriuose jis buvo tiriamas, įskaitant visų tipų limfomas ir normalius žmogaus audinius. Dažymas daugiausia yra membraninis, bet taip pat gali pasirodyti citoplazminis, kai yra didelės ekspresijos mėginiuose. Dažymas vyrauja endotelio ląstelėse ir limfocituose, o kai kurių audinių epitelio ląstelėse – mažiau.

1 lentelė: Jautrumas ir specifiskumas buvo nustatyti tiriant formalinu fiksuotus, parafinu įterptus sergančius audinius.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Lithuanian

BIOCARE
M E D I C A L

Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

2 lentelė: Audinių kryžminis reaktyvumas buvo nustatytas tiriant formalinu fiksuotus, parafinu įterptus normalius audinius.

Audinis	Teigiami atvejai	Iš viso atvejų
Smegenėlės	5	6
Smegenėlės	3	3
Antinksčiai	3	3
Kiaušidės	2	3
Kasa	3	3
Limfmazgis	3	3
Trachėja	3	3
Sėklidės	5	5
Skydliaukė	3	3
Krūtinė	2	2
Blužnis	4	4
Tonzilė	3	3
Užkrūčio liauka	3	3
Kaulų čiulpai	3	3
Plaučiai	3	3
Širdis	3	3
Stemplė	3	3
Skrandis	2	3
Plonoji žarna	3	3
Dvitaškis	3	3
Kepenys	3	3
Seilių liauka	3	3
Įnkstas	3	3
Prostata	3	3
Gimda	3	3
Gimdos kaklelis	3	3
Skeletinis raumuo	2	3
Oda	2	2
Periferinis nervas	3	3
Pamušalo ląstelės	2	2
Akis	3	3
Gerklos	3	3

Problemų sprendimas:

- Jokių stiklelių nesidažyta – Patikrinkite, ar buvo naudojami tinkami teigiami kontroliniai audiniai, antikūnai ir aptikimo produktai.
- Silpnas visų stiklelių dažymas – Patikrinkite, ar buvo naudojami tinkami teigiami kontroliniai audiniai, antikūnai ir aptikimo produktai.
- Per didelis visų skaidrių fonas – gali būti didelis endogeninio biotino kiekis (jei naudojami biotino pagrindu pagaminti aptikimo produktai),

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

99/150



TP v3 (12/15/2021)

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

endogeninis HRP aktyvumas, paverčiantis chromogeną spalvotu galutiniu produktu (naudokite peroksidazės bloką) arba perteklinė nespecifinė baltymų sąveika (naudokite baltymą). blokuoti, pvz., serumo arba kazeino pagrindu pagamintą blokuojantį tirpalą).

- Inkubacijos metu audinių sekcijos nuplaunamos nuo stiklelių – Patikrinkite stiklelius, kad įsitikintumėte, jog jie yra teigiamai įkrauti.
- Specifinis dažymas per tamsus – Patikrinkite protokolą, kad nustatytumėte, ar ant stiklelio buvo pritaikytas tinkamas antikūnų titras, taip pat tinkamas visų reagentų inkubacijos laikas. Be to, įsitikinkite, kad protokole yra pakankamai plovimo etapų, kad pašalintumėte reagentų perteklių po inkubacijos etapų.

Nuorodos:

- Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
- Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histochemistry. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
- Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
- Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
- Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
- Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
- CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
- College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. <http://www.cap.org> (800) 323-4040.
- O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
- Koretz K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
- Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
- Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
- Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
- Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. Curr Opin Immunol. 2020 Jun;64:137-145.
- Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. J Immunol. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Ultraline antikūnus kuria tik Biocare Medical LLC ir tai nereiškia, kad Ventana Medical Systems, Inc. ar Roche patvirtino ar patvirtino Biocare antikūnus. „Biocare“, „Ventana“ ir „Roche“ nėra jokių būdu susijusios, nesusijusios ar susijusios. Ventana®, BenchMark®, ultraView ir OptiView yra Roche prekių ženklai.

Q serijos antikūnus sukūrė tik „Biocare Medical LLC“ ir tai nereiškia, kad „Leica Biosystems“ patvirtino ar patvirtino „Biocare“ antikūnus. „Biocare“ ir „Leica Biosystems“ nėra jokių būdu susijusios, nesusijusios ar susijusios. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX ir BOND-III yra Leica Biosystems prekių ženklai.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Norwegian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Tiltenkt bruk:

Til *in vitro* Diagnostisk bruk

HLA-B [BC43] er et muse monoklonalt antistoff som er beregnet for laboratoriebruk etter at den første diagnosen av svulst er gjort ved konvensjonell histopatologi ved bruk av ikke-immunologiske histokjemiske farginger, i kvalitativ identifikasjon av HLA-B protein ved immunhistokjemi (IHC) i formalinfiksert parafininnstøpt (FFPE) humant vev. Den kliniske tolkningen av enhver farging eller fravær av den bør kompletteres med morfologiske studier med riktige kontroller og bør evalueres i sammenheng med pasientens kliniske historie og andre diagnostiske tester av en kvalifisert patolog som en hjelp til å foreta andre kliniske avgjørelser.

Sammendrag og forklaring:

HLA-B er et svært polymorft proteinkodende gen for det store histokompatibilitetsklasse I (MHC-I) komplekset.¹⁵ MHC klasse I-molekyler uttrykkes på celleoverflaten, og binder og presenterer antigenpeptider til CD8+ T-lymfocytter for å mediere immunresponser mot intracellulære patogener og kreftformer.¹⁶

Prosedyreprinsipp:

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

Materialer og metoder:

Reagenser som følger med:

Vertskilde: Mus monoklonal

Artsreaktivitet: Menneskelig; andre arter ikke testet.

Klone: BC43

Isotype: IgG1 kappa

Proteinkonsentrasjon: Se hetteglasset for partispesifikk konsentrasjon.

Spesifikk IgG-konsentrasjon: Kontakt Biocares tekniske støtte

Spesifisitet: HLA-B

Mobil lokalisering: Cellemembran

Metode: Affinitetsrenset mus monoklonal

Rekonstituering, blanding, fortynning, titrering:

Forhåndsfortynnet antistoffreagens er optimalt fortynnet for bruk med fargesystemene ovenfor. Ytterligere fortynning kan føre til tap av antigenfarging. Ytterligere fortynning kan føre til tap av antigenfarging. Brukeren må validere enhver slik endring. Forskjeller i vevsbehandling og tekniske prosedyrer

i brukerens laboratorium kan gi betydelig variasjon i resultater som krever regelmessig utførelse av interne kontroller (se avsnittet Kvalitetskontroll). Konsentrert reagens krever fortyning som angitt i tabellen ovenfor.

Kjente applikasjoner:

Immunhistokjemi (formalinfiksert parafininnstøpt vev)

Leveres som: Bufret saltvannsløsning, 5,9–7,4, som inneholder en proteinbærer og mindre enn 0,1 % natriumazidkonserveringsmiddel. Se sikkerhetsdatabladet for ytterligere detaljer.

Materialer og reagenser som trengs, men følger ikke med:

Mikroskopobjektglass positivt ladet.

Positive og negative vevskontroller

Desert Chamber (eller lignende tørkeovn)

Xylen eller xylenerstatning

Etanol eller reagens alkohol

Decloaking Chamber (trykkoker)

Avionisert eller destillert vann

Vaskebuffer

Forbehandlingsreagenser

Peroksidase blokk

Proteinblokk (valgfritt)

Deteksjonssonde og polymer

Negative kontrollreagenser

Kromogener

Hematoxylin (motfarging)

Blånende reagens

Monteringsmedium

Dekkglass

Lysmikroskop (40–400X forstørrelse)

*Konfigurasjoner av antistoffproduktet er tilgjengelig for bruk på instrumentene som er angitt i tabellen ovenfor.

Lagring og stabilitet:

Oppbevares ved 2°C til 8°C. Produktet er stabilt til utløpsdatoen som er trykt på hetteglassetiketten, når det oppbevares under disse forholdene. Må ikke brukes etter utløpsdato. Oppbevaring under andre forhold enn de som er spesifisert, må verifiseres. Fortynnete reagenser bør brukes umiddelbart; oppbevar eventuelt gjenværende reagens ved 2°C til 8°C. Stabiliteten til brukerfortynnet reagens er ikke fastslått av Biocare.

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

Prøveforberedelse:

Vev fikset i formalin er egnet for bruk før parafininnstøping. Ossøst vev bør avkalkes før vevsbehandling for å lette skjæring av vev og forhindre skade på mikrotombladene.¹²

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

100/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Norwegian

BIOCARE
M E D I C A L

Riktig fiksert og innebygd vev som uttrykker det spesifiserte antigenmålet, bør oppbevares på et kjølig sted. The Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) av 1988 krever i 42 CFR§493.1259(b) at "Laboratoriet må beholde fargede objektglass i minst ti år fra datoen for undersøkelse og oppbevar prøveblokker i minst to år fra eksamensdatoen."³

Behandling av vev før farging:

Utfør Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) i henhold til anbefalt protokoll nedenfor. Rutinemessig bruk av HIER før IHC har vist seg å minimere inkonsekvens og standardisere farging.^{4,5}

Advarsel og forholdsregler:

1. Dette antistoffet inneholder mindre enn 0,1 % natriumazid. Konentrasjoner mindre enn 0,1 % er ikke rapporterbare farlige materialer i henhold til U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication og EC-direktiv 91/155/EC. Natriumazid (NaN₃) brukt som konserveringsmiddel er giftig ved inntak. Natriumazid kan reagere med bly- og kobberør og danne svært eksplosive metallazider. Ved avhending, skyl med store mengder vann for å forhindre oppbygging av azid i rørliggerarbeid. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶
2. Prøver, før og etter fiksering, og alt materiale som eksponeres for dem, skal håndteres som om de er i stand til å overføre infeksjon og kastes med riktige forholdsregler. Pipetter aldri reagenser gjennom munnen og unngå kontakt med hud og slimhinner med reagenser og prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med sensitive områder, vask med rikelige mengder vann.⁷
3. Mikrobiell kontaminering av reagenser kan føre til en økning i uspesifikk farging.
4. Andre inkubasjonstider eller temperaturer enn de spesifiserte kan gi feilaktige resultater. Brukeren må validere enhver slik endring.
5. Ikke bruk reagens etter utløpsdatoen som er trykt på hetteglasset.
6. Forhåndsfortynnet antistoffreagens er optimalt fortynnet for bruk. Ytterligere fortynning kan føre til tap av antigenfarging.
7. Fortynning av konsentrert antistoffreagens må valideres før bruk. Eventuelle fortynningsmidler som ikke er spesifikt anbefalt, må også valideres for kompatibilitet og stabilitet.
8. SDS er tilgjengelig på forespørsel og ligger på <http://biocare.net>.

Instruksjoner for bruk:

Anbefalte fargingsprotokoller for HLA-B [BC43]:

IntelliPATH FLX og manuell bruk:

API3289 for IntelliPATH FLX og manuell bruk, er standardisert med MACH 4 deteksjonssystem. Bruk TBS for vasketrinn.	
Peroxide Block:	Blokker i 5 minutter med Peroxidized 1.
Pretreatment:	Utfør varmegjenvinning med Reveal Decloaker. Se Reveal Decloaker-databladet for spesifikke instruksjoner.
Protein Block (Optional):	Inkuber i 5-10 minutter ved RT med Background Punisher.
Primary Antibody:	Inkuber i 30 minutter ved romtemperatur.
Detection:	Probe: Inkuber i 10 minutter ved romtemperatur med en sekundær polymer.
	Polymer: Inkuber i 20 minutter ved romtemperatur med en tertiær polymer.
Chromogen:	Inkuber i 5 minutter ved RT med Biocares DAB – ELLER – Inkuber i 5-7 minutter ved RT med Warp Red.

Counterstain:	Motfarge med hematoxylin. Skyl med avionisert vann. Påfør Tacha's Blueing Solution i 1 minutt. Skyl med avionisert vann.
----------------------	--

ONCORE Pro Automated Slide Staining System:

OPAI3289 er beregnet for bruk med ONCORE Pro. Se brukerhåndboken for spesifikke bruksanvisninger. Protokollparametere i Protocol Editor bør programmeres som følger:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Ms HRP-mal 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, lav pH; 101°C
Block Option:	Buffer
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 min., 25°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3289 er beregnet for bruk med BenchMark ULTRA. Se brukerhåndboken for spesifikke bruksanvisninger. Anbefalte protokollparametere er som følger:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minutter
Peroxidase:	Pre-primær peroksidasehemmer
Primary Antibody:	8 minutter, 36°C

Q-serien – For Leica BOND-III:

ALI3289 er beregnet for bruk med Leica BOND-III. Se brukerhåndboken for spesifikke bruksanvisninger. Anbefalte protokollparametere er som følger:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	IHC-protokoll F
Detection:	Bond Polymer Refine
HIER:	10 min med ER1
Peroxide Block:	5 min
Marker (Primary Antibody):	15 min
Post Primary:	8 min
Polymer:	8 min
Mixed Chromogen Refine:	10 min
Hematoxylin:	5 min

Kvalitetskontroll:

Se CLSI kvalitetsstandarder for design og implementering av immunhistokjemianalyser; Godkjent guideline-andre utgave (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁸

Positiv vevskontroll: Mandel

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

Vevene som brukes til de eksterne positive kontrollmaterialene bør velges fra pasientprøver med godt karakteriserte lave nivåer av den positive målaktiviteten som gir svak positiv farging. Det lave nivået av positivitet for

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Norwegian

BIOCARE
M E D I C A L

eksterne positive kontroller er designet for å sikre påvisning av subtile endringer i det primære antistofffølsomheten fra ustabilitet eller problemer med IHC-metodikken. Kommersielt tilgjengelige vevskontrollobjektglass eller prøver behandlet annerledes enn pasientprøven(e) validerer bare reagensytelsen og verifiserer ikke vevsforberedelse.

Kjente positive vevskontroller bør kun brukes for å overvåke korrekt ytelse av behandlet vev og testreagenser, i stedet for som en hjelp til å formulere en spesifikk diagnose av pasientprøver. Hvis de positive vevskontrollene ikke viser positiv farging, bør resultatene med testprøvene anses som ugyldige.

Negativ vevskontroll:

Bruk en negativ vevskontroll (kjent for å være HLA-B-negativ) fiksert, behandlet og innebygd på en måte som er identisk med pasientprøven(e) med hver fargekjøring for å verifisere spesifisiteten til det primære IHC-antistoffet for demonstrasjon av målantigenet, og for å gi en indikasjon på spesifikk bakgrunnsfarging (falsk positiv farging). Også mangfoldet av forskjellige celletyper som finnes i de fleste vevsnett kan brukes av laboratoriet som interne negative kontrollsteder for å verifisere IHCs ytelse spesifikasjoner. Typer og kilder til prøver som kan brukes for negativt vevskontrollene er oppført i delen Ytelseskaraktistikk.

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

Uspesifikk negativ reagenskontroll:

Bruk en uspesifikk negativ reagenskontroll i stedet for det primære antistoffet med en del av hver pasientprøve for å evaluere uspesifikk farging og tillate bedre tolkning av spesifikk farging på antigenstedet. Ideelt sett inneholder en negativ reagenskontroll et HLA-B [BC43] IgG1 Kappa-antistoff produsert fra vevskultursupernatant på samme måte som det primære antistoffet, men viser ingen spesifikk reaktivitet med humant vev i samme matrise/løsning som Biocare antistoff. Fortynn et negativt kontrollantistoff mot samme immunoglobulin- eller proteinkonsentrasjon som det fortyndede primære antistoff ved bruk av identisk fortydningsmiddel. Hvis føtal kalveserum holdes tilbake i det rene antistoffet etter prosessering, føtal kalveserum i en proteinkonsentrasjon som tilsvarer det fortyndede primære antistoff i samme fortydningsmiddel er også egnet for bruk. (Se medfølgende reagens). Fortydningsmiddel alene kan brukes som et mindre ønskelig alternativ til de tidligere beskrevne negative reagenskontrollene. Inkubasjonsperioden for den negative reagenskontrollen skal tilsvare inkubasjonsperioden for det primære antistoffet.

Når paneler med flere antistoffer brukes på seriesnitt, kan de negativt fargede områdene på ett objektglass tjene som en negativ/uspesifikk bindingsbakgrunnskontroll for andre antistoffer. For å skille endogen enzymaktivitet eller uspesifikk binding av enzymer fra spesifikk immunreaktivitet, kan ytterligere pasientvev farges utelukkende med henholdsvis substrat-kromogen eller enzymkomplekser (PAP, avidin-biotin, streptavidin) og substrat-kromogen.

Assaybekreftelse:

Før den første bruken av et antistoff eller fargesystem i en diagnostisk prosedyre, bør brukeren verifisere antistoffets spesifisitet ved å teste det på en serie internt vev med kjente immunhistokjemiske ytelsesegenskaper som representerer kjente positive og negative vev. Se kvalitetskontrollprosedyrene som er skissert tidligere i denne delen av produktvedlegget og til kvalitetskontrollanbefalingene til CAP-sertifiseringsprogrammet for immunhistokjemi og/eller NCCLS IHC-retningslinjen[®]. Disse kvalitetskontrollprosedyrene bør gjentas for hvert nytt antistofflot, eller når det er en endring i analyseparametere. Vev oppført i avsnittet Ytelsesegenskaper er egnet for analyseverifisering.

Feilsøking:

Følg de antistoffspesifikke protokollanbefalingene i henhold til databladet som følger med. Hvis det oppstår atypiske resultater, kontakt Biocares tekniske støtte på 1-800-542-2002.

Tolkning av farging:

Positiv vevskontroll:

Den positive vevskontrollen farget med indikert antistoff bør undersøkes først for å sikre at alle reagenser fungerer som de skal. Den passende fargingen av målceller (som angitt ovenfor) indikerer positiv reaktivitet. Hvis de positive vevskontrollene ikke viser positiv farging, bør alle resultater med testprøvene anses som ugyldige. Fargen på reaksjonsproduktet kan variere avhengig av substratkromogener som brukes. Se pakningsvedlegget til substratet for forventede fargereaksjoner. Videre kan metakromasi observeres i variasjoner av metoden for farging.¹¹

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

Negativ vevskontroll:

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

Uspesifikk farging, hvis tilstede, har vanligvis et diffust utseende. Sporadisk farging av bindevev kan også observeres i snitt fra formalinfiksert vev. Bruk intakte celler for tolkning av fargerresultater. Nekrotiske eller degenererte celler farger ofte uspesifikt.

Pasientvev:

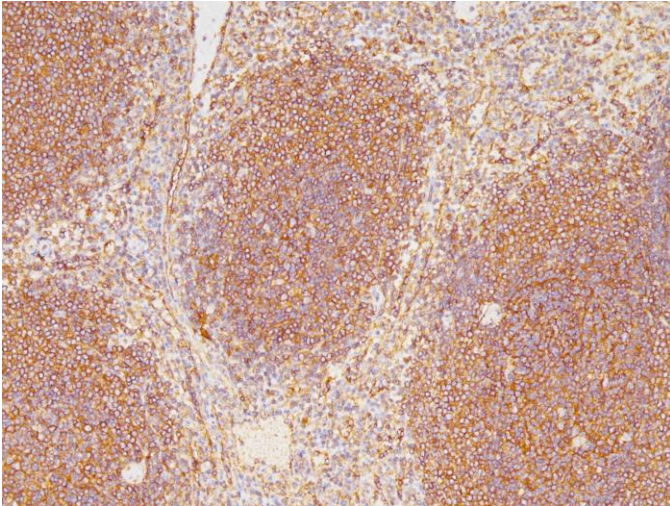
Undersøk pasientprøver farget med indikert antistoff siste. Positiv fargingsintensitet bør vurderes i sammenheng med enhver uspesifikk bakgrunnsfarging av den negative reagenskontrollen. Som med enhver immunhistokjemisk test betyr et negativt resultat at antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet var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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Norwegian

BIOCARE
M E D I C A L



Milt farget med HLA-B [BC43] antistoff

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

Begrensninger:

Generelle begrensninger:

1. *Til in vitro* diagnostisk bruk
2. Dette produktet er kun for profesjonell bruk: Immunhistokjemi er en flertrinns diagnostisk prosess som består av spesialisert opplæring i valg av passende reagenser; vevseleksjon, fiksering og prosessering; klargjøring av IHC-glasset; og tolkning av fargerresultatene.
3. Vevsfarging er avhengig av håndtering og bearbeiding av vevet før farging. Feil fiksering, frysing, tining, vasking, tørking, oppvarming, seksjonering eller kontaminering med andre vev eller væsker kan produsere artefakter, antistofffanger eller falske negative resultater. Inkonsekvente resultater kan skyldes variasjoner i fikserings- og innstøpingsmetoder, eller iboende uregelmessigheter i vevet.¹²
4. Overdreven eller ufullstendig motfarging kan kompromittere riktig tolkning av resultatene.
5. Den kliniske tolkningen av enhver positiv eller negativ farging bør evalueres i sammenheng med klinisk presentasjon, morfologi og andre histopatologiske kriterier. Den kliniske tolkningen av enhver positiv eller negativ farging bør kompletteres med morfologiske studier som bruker riktige positive og negative interne og eksterne kontroller samt andre diagnostiske tester. Det er ansvaret til en kvalifisert patolog som er kjent med riktig bruk av IHC-antistoffer, reagenser og metoder for å tolke alle trinnene som brukes til å forberede og tolke det endelige IHC-preparatet.
6. Den optimale antistofffortynningen og protokollene for en spesifikk applikasjon kan variere. Disse inkluderer, men er ikke begrenset til, fiksering, varmhentingsmetode, inkubasjonstider, vevsnittrykkelse og deteksjonssystem som brukes. På grunn av den overlegne sensitiviteten til disse unike reagensene, er de anbefalte inkubasjonstidene og titrene som er oppført ikke gjeldende for andre deteksjonssystemer, da resultatene kan variere. Databladanbefalingene og protokollene er basert på eksklusiv bruk av Biocare-produkter. Til syvende og sist er det etterforskerens ansvar å bestemme optimale forhold.
7. Dette produktet er ikke beregnet for bruk i flowcytometri. Ytelsesegenskaper er ikke bestemt for flowcytometri.
8. Vev fra personer infisert med hepatitt B-virus og som inneholder hepatitt B-overflateantigen (HBsAg) kan vise uspesifikk farging med pepperrotperoksidase.^{1,3}

9. Reagenser kan vise uventede reaksjoner i tidligere ikke-testet vev. Muligheten for uventede reaksjoner selv i testede vevsgrupper kan ikke elimineres fullstendig på grunn av biologisk variasjon av antigenekspresjon i neoplasmer eller annet patologisk vev.¹⁴ Kontakt Biocares tekniske støtte på 1-800-542-2002, eller via den tekniske støtteinformasjonen gitt på biocare.net, med dokumenterte uventede reaksjoner.
10. Normale/ikke-immune sera fra samme dyrekilde som sekundære antisera brukt i blokkeringstrinn kan forårsake falskt negative eller falskt positive resultater på grunn av autoantistoffer eller naturlige antistoffer.
11. Falsk-positive resultater kan sees på grunn av ikke-immunologisk binding av proteiner eller substratreaksjonsprodukter. De kan også være forårsaket av pseudoperoxidaseaktivitet (erytrocytter), endogen peroksidaseaktivitet (cytokrom C) eller endogent biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) avhengig av typen immunfarging som brukes.¹²

Produktspesifikke begrensninger:

Det er ingen kjente ytterligere begrensninger.

Ytelsesegenskaper:

Sensitivitet, spesifisitet og kryssreaktivitet er oppsummert i henholdsvis tabell 1 og 2.

Reproduserbarhet:

Reproduserbarheten av antistoffytelse ble verifisert ved å teste utvalgt normalt vev og tumorvev på forskjellige dager og forskjellige instrumenter med flere operatører. Farging av det utvalgte vevet var konsistent og utført som forventet.

Intra-run reproduserbarhet av farging ble bestemt ved å farge fem vev som inneholdt samme vev på flere instrumenter.

Inter-run reproduserbarhet av farging ble bestemt ved å farge fem lysbilder som inneholdt det samme vevet på tre dager/kjøringer på samme instrument. All testing bestod med samme poengsum, som definert av Biocares interne retningslinjer for poengsum.

Immunreaktivitet:

Følgende positive og negative immunreaktiviteter er vist i tabell 1 og 2 nedenfor.

Listen nedenfor er ikke uttømmende, men karakteriserer typene immunreaktiviteter observert med det angitte antistoffet.

Sammendrag av forventede resultater:

Dette antistoffet ble funnet å være immunreaktivt med alle typer vev som det ble testet på, inkludert alle typer lymfomer og normalt humant vev. Fargingen er hovedsakelig membranøs, men kan også virke cytoplasmatiske i prøver med høy ekspresjon. Farging er hovedsakelig tilstede i endotelceller og lymfocytter med lavere prevalens i epitelceller i noe vev.

Tabell 1: Sensitivitet og spesifisitet ble bestemt ved å teste formalinfiksert, parafininnstøpt sykt vev.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Norwegian

BIOCARE
M E D I C A L

Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Tabell 2: Vevskryssreaktivitet ble bestemt ved å teste formalinfiksert, parafininnstøpt normalt vev.

Vev	Positive tilfeller	Totalt antall saker
Cerebrum	5	6
Lillehjernen	3	3
Binyrene	3	3
Eggstokk	2	3
Bukspyttkjertelen	3	3
Lymfeknute	3	3
Luftrør	3	3
Testis	5	5
Skjoldbruskkjertelen	3	3
Bryst	2	2
Milt	4	4
Mandel	3	3
Thymus	3	3
Beinmarg	3	3
Lunge	3	3
Hjerte	3	3
Spiserøret	3	3
Mage	2	3
Tynntarm	3	3
Kolon	3	3
Lever	3	3
Spyttkjertel	3	3
Nyre	3	3
Prostata	3	3
Livmor	3	3
Livmorchalsen	3	3
Skjelettmuskulatur	2	3
Hud	2	2
Perifer nerve	3	3
Fôr celler	2	2
Øye	3	3
Larynx	3	3

Feilsøking:

- Ingen farging av noen objektglass – Kontroller for å fastslå at det er brukt passende positivt kontrollvev, antistoff og deteksjonsprodukter.
- Svak farging av alle objektglass – Kontroller for å fastslå at det er brukt passende positivt kontrollvev, antistoff og deteksjonsprodukter.
- Overdreven bakgrunn av alle lysbildene - Det kan være høye nivåer av endogent biotin (hvis du bruker biotinbaserte deteksjonsprodukter),

endogen HRP-aktivitet som konverterer kromogen til farget sluttprodukt (bruk peroksidaseblokk), eller overflødig ikke-spesifikk proteininteraksjon (bruk et protein blokk, for eksempel serum- eller kaseinbasert blokkeringsløsning).

4. Vevsseksjoner vasker av objektglass under inkubering – Sjekk objektglassene for å sikre at de er positivt ladet.
5. Spesifikk farging for mørk – Sjekk protokollen for å finne ut om riktig antistofftiter ble brukt på objektglasset, samt riktige inkubasjonstider for alle reagenser. Sørg i tillegg for at protokollen har nok vasketrinn til å fjerne overflødig reagens etter at inkubasjonstrinnene er fullført.

Referanser:

1. Kiernan JA. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. *Theory and Practice of Histotechnology*. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. *Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule*, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. *J Histotechnol*. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. *Biotech Histochem*. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. *Guide: Safety Management*, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.*
8. *CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011*
9. *College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry*. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. *Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline*. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. *Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques*. *Histochemistry* 1987; 86:471-478.
12. Nadjji M, Morales AR. *Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls*. *Lab Med* 1983; 14:767.
13. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. *Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry*. *AmJ Clin Path* 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. *The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control*. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.
15. Olson E, Geng J, Raghavan M. *Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity*. *Curr Opin Immunol*. 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. *Distinct assembly profiles of HLA-B molecules*. *J Immunol*. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Ultrafine-antistoffer utvikles utelukkende av Biocare Medical LLC og innebærer ikke godkjenning eller godkjenning av Biocare-antistoffer av Ventana Medical Systems, Inc eller Roche. Biocare, Ventana og Roche er ikke tilknyttet, assosiert eller relatert på noen måte. Ventana®, BenchMark®, ultraView og OptiView er varemerker for Roche.

Antistoffer i Q-serien er utviklet utelukkende av Biocare Medical LLC og innebærer ikke godkjenning eller godkjenning av Biocare-antistoffer fra Leica Biosystems. Biocare og Leica Biosystems er ikke tilknyttet, assosiert eller relatert på noen måte. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX og BOND-III er varemerker for Leica Biosystems.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

104/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Polish

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Przeznaczenie:

Dlain vitro Zastosowanie diagnostyczne

HLA-B [BC43] to mysie przeciwciało monoklonalne przeznaczone do użytku laboratoryjnego po postawieniu wstępnej diagnozy nowotworu za pomocą konwencjonalnej histopatologii przy użyciu nieimmunologicznych barwień histochemicznych, w celu jakościowej identyfikacji HLA-B białka metodą immunohistochemiczną (IHC) w utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie (FFPE) tkankach ludzkich. Kliniczną interpretację jakiegokolwiek zabarwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi z zastosowaniem odpowiednich kontroli i należy ją ocenić w kontekście historii klinicznej pacjenta i innych badań diagnostycznych przez wykwalifikowanego patologa, jako pomoc w dokonaniu wszelkich innych ustaleń klinicznych.

Podsumowanie i wyjaśnienie:

HLA-B jest wysoce polimorficznym genem białka kodującym główny kompleks zgodności tkankowej klasy I (MHC-I).¹⁵ Częsteczki MHC klasy I ulegają ekspresji na powierzchni komórki, wiążąc i prezentując peptydy antygenowe limfocytom T CD8+, aby pośredniczyć w odpowiedziach immunologicznych przeciwko patogenom wewnątrzkomórkowym i nowotworom.¹⁵

Zasada postępowania:

Ten produkt będący przeciwciałem może być stosowany jako przeciwciało pierwotne w badaniach immunohistochemicznych skrawków tkankowych utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie. Ogólnie rzecz biorąc, immunohistochemiczne (IHC) techniki barwienia pozwalają na wizualizację antygenów poprzez sekwencyjne nakładanie a swoiste przeciwciała przeciwko antygenowi (przeciwciało pierwotne), przeciwciało wtórne przeciwko przeciwciału pierwotnemu (opcjonalnie przeciwciało łączące/sonda), kompleks enzymatyczny i substrat chromogenny z nałożonymi na siebie etapami przemycania. Enzymatyczna aktywacja chromogenu powoduje powstanie widocznego produktu reakcji w miejscu antygeny. Próbkę można następnie wybarwić kontrastowo i nałożyć nakładkę. Wyniki interpretuje się za pomocą światła mikroskopu i pomoc w diagnostyce różnicowej procesów patofizjologicznych, które mogą lub mogą nie być powiązane z konkretnym antygenem.

Materiały i metody:

Dostarczone odczynniki:

Źródło hosta:Mysz monoklonalna

Reaktywność gatunku:Człowiek; inne gatunki nie testowane.

Klon:BC43

Izotyp:Kappa IgG1

Stężenie białka:Informacje na temat stężenia specyficznego dla serii znajdują się na etykiecie fiołki.

Specyficzne stężenie IgG: Skontaktować się z pomocą techniczną firmy Biocare

Specyficzność:HLA-B

Lokalizacja komórkowa: Błona komórkowa

Metoda:Mysie monoklonalne oczyszczone za pomocą powinowactwa

Rekonstrukcja, mieszanie, rozcieńczanie, miareczkowanie:

Wstępnie rozcieńczony odczynnik przeciwciał jest optymalnie rozcieńczony do stosowania z wyżej wymienionymi systemami barwienia. Dalsze rozcieńczanie może spowodować utratę barwienia antygeny. Użytkownik musi zatwierdzić każdą taką zmianę. Różnice w przetwarzaniu tkanek i procedurach technicznych w laboratorium użytkownika może powodować znaczną zmienność wyników, wymagającą regularnego przeprowadzania wewnętrznych kontroli (patrz sekcja Kontrola jakości). Skoncentrowany odczynnik wymaga rozcieńczenia zgodnie z tabelą powyżej.

Znane zastosowania:

Immunohistochemia (tkanki utrwalone w formalinie i zatopione w parafinie)

Dostarczane jako:Buforowany roztwór soli, 5,9-7,4, zawierający nośnik białkowy i mniej niż 0,1% azydu sodu jako środka konserwującego. Dodatkowe szczegóły znajdują się w Karcie Charakterystyki.

Materiały i odczynniki potrzebne, ale niedostarczane:

Szkiełka mikroskopowe naładowane dodatnio.

Pozytywne i negatywne kontrole tkanek

Komora pustynna (lub podobna Suszarka)

Ksylen lub substytut ksylenu

Etanol lub alkohol odczynnikowy

Komora odkrywania (szybwar)

Woda dejonizowana lub destylowana

Bufor płuczący

Odczynniki do obróbki wstępnej

Blok peroksydazy

Blok białkowy (opcjonalnie)

Sonda detekcyjna i polimer

Odczynniki do kontroli negatywnej

Chromogeny

Hematoksylina (kontrabarwnik)

Odczynnik niebieszcący

Środek montażowy

Szklana pokrywa

Mikroskop świetlny (powiększenie 40-400X)

*Konfiguracje produktu będącego przeciwciałem są dostępne do stosowania w instrumentach wskazanych w powyższej tabeli.

Przechowywanie i stabilność:

Przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C. Produkt jest stabilny do daty ważności podanej na etykiecie fiołki, jeśli jest przechowywany w tych warunkach. Nie stosować po upływie terminu ważności. Należy zweryfikować przechowywanie w warunkach innych niż określone. Rozcieńczone odczynniki należy natychmiast zużyć; przechowywać pozostały odczynnik w temperaturze od 2°C do 8°C. Stabilność odczynnika rozcieńczonego przez użytkownika nie została ustalona przez firmę Biocare.

Kontrole dodatnie i ujemne należy oznaczyć jednocześnie ze wszystkimi próbkami od pacjentów. W przypadku zaobserwowania nieoczekiwanego

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

105/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Polish

zabarwienia, którego nie można wytłumaczyć różnicami w procedurach laboratoryjnych i jeśli podejrzewa się problem z przeciwciałem, należy skontaktować się z działem pomocy technicznej firmy Biocare pod numerem 1-800-542-2002 lub za pośrednictwem informacji pomocy technicznej dostępnych na stronie biocare.net.

Przygotowanie próbek:

Tkanki utrwalone w formalinie nadają się do stosowania przed zatapianiem w parafinie. Tkanki kostne należy odwapnić przed obróbką tkanki, aby ułatwić przecięcie tkanki i zapobiec uszkodzeniu ostrzy mikrotomu.^{1,2}

Prawidłowo utrwalone i zatopione tkanki wyrażające określony docelowy antygen należy przechowywać w chłodnym miejscu. Ustawa o doskonaleniu laboratoriów klinicznych (CLIA) z 1988 r. wymaga 42 CFR§493.1259(b), że „Laboratorium musi przechowywać wybarwione preparaty przez co najmniej dziesięć lat od daty badania i przechowywać bloki próbek przez co najmniej dwa lata od daty badania.”³

Obróbka tkanek przed barwieniem:

Wykonaj indukowane ciepłem pobieranie epitopów (HIER) zgodnie z zalecanym protokołem poniżej. Wykazano, że rutynowe stosowanie HIER przed IHC minimalizuje niespójności i standaryzuje barwienie.^{4,5}

Ostrzeżenia i środki ostrożności:

1. To przeciwciało zawiera mniej niż 0,1% azydku sodu. Stężenia mniejsze niż 0,1% nie są materiałami niebezpiecznymi podlegającymi zgłoszeniu zgodnie z US 29 CFR 1910.1200, komunikatem OSHA dotyczącym zagrożeń i dyrektywą WE 91/155/WE. Azydek sodu (NaN₃) stosowany jako środek konserwujący jest toksyczny w przypadku spożycia. Azydek sodu może reagować z ołowiem i miedzią, tworząc wysoce wybuchowe azydki metali. Po usunięciu przepłukać dużą ilością wody, aby zapobiec gromadzeniu się azydku w instalacjach wodno-kanalizacyjnych. (Centrum Kontroli Chorób, 1976, Państwowy Instytut Bezpieczeństwa i Higieny Pracy, 1976)⁶
2. Z próbkami przed i po utrwaleniu oraz ze wszystkimi materiałami, które miały z nimi kontakt, należy postępować tak, jakby mogły przenosić infekcję, i usuwać je z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności. Nigdy nie pipetować odczynników ustami i unikać kontaktu odczynników i próbek ze skórą i błonami śluzowymi. Jeżeli odczynnik lub próbki wejdą w kontakt z wrażliwymi miejscami, należy je przemyć dużą ilością wody.⁷
3. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne odczynników może skutkować zwiększeniem nieswoistego barwienia.
4. Czasy inkubacji lub temperatury inne niż podane mogą dawać błędne wyniki. Użytkownik musi zatwierdzić każdą taką zmianę.
5. Nie używać odczynnika po upływie daty ważności wydrukowanej na fiolece.
6. Wstępnie rozcieńczony odczynnik przeciwciał jest optymalnie rozcieńczony do użycia. Dalsze rozcieńczanie może spowodować utratę barwienia antygeny.
7. Przed użyciem należy sprawdzić rozcieńczenie stężonego odczynnika zawierającego przeciwciała. Każdy zastosowany rozcieńczalnik, który nie jest szczególnie zalecany, również musi zostać sprawdzony pod kątem kompatybilności i stabilności.
8. Karta charakterystyki jest dostępna na żądanie i znajduje się pod adresem <http://biocare.net>.

Instrukcja użycia:

Zalecane protokoły barwienia dla HLA-B [BC43]:

IntelliPATH FLX i użycie ręczne:

API3289 dla IntelliPATH FLX i użyciu ręcznego zostało ustandaryzowane za pomocą MACH 4 system detekcji. Do mycia należy używać TBS.

Peroxide Block:	Zablokuj na 5 minut za pomocą Peroksydowanego 1.
------------------------	--

BIOCARE
M E D I C A L

Pretreatment:	Wykonaj odzyskiwanie ciepła za pomocą Reveal Decloaker. Szczegółowe instrukcje można znaleźć w arkuszu danych urządzenia Reveal Decloaker.
Protein Block (Optional):	Inkubować przez 5-10 minut w temperaturze pokojowej z programem T10 Punisher.
Primary Antibody:	Inkubować przez 30 minut w temperaturze pokojowej.
Detection:	Sonda: Inkubować przez 10 minut w temperaturze pokojowej z polimerem wtórnym. Polimer: Inkubować przez 20 minut w temperaturze pokojowej z polimerem trzeciorzędowym.
Chromogen:	Inkubować przez 5 minut w temperaturze pokojowej z DAB firmy Biocare – LUB – Inkubować przez 5-7 minut w temperaturze pokojowej z Warp Red.
Counterstain:	Barwienie kontrastowe hematoksyliną. Splucz wodą dejonizowaną. Zastosuj roztwór Bluing Solution firmy Tacha na 1 minutę. Splucz wodą dejonizowaną.

Zautomatyzowany system barwienia preparatów ONCORE Pro:

OPI3289 jest przeznaczony do użytku z ONCORE Pro. Szczegółowe instrukcje dotyczące użytkowania można znaleźć w instrukcji obsługi. Parametry protokołu w Edytorze protokołów należy zaprogramować w następujący sposób:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Pani Szablon HRP 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, niskie pH; 101C
Block Option:	Bufor
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 minut, 25°C

Test porównawczy Ventana ULTRA:

AVI3289 jest przeznaczony do użytku z BenchMark ULTRA. Szczegółowe instrukcje dotyczące użytkowania można znaleźć w instrukcji obsługi. Zalecane parametry protokołu są następujące:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minuty
Peroxidase:	Przedpierwotny inhibitor peroksydazy
Primary Antibody:	8 minut, 36°C

Seria Q – dla Leica BOND-III:

ALI3289 jest przeznaczony do użytku z Leica BOND-III. Szczegółowe instrukcje dotyczące użytkowania można znaleźć w instrukcji obsługi. Zalecane parametry protokołu są następujące:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	Protokół IHC F
Detection:	Wiązanie polimeru Udoskonalenie
HIER:	10 minut z ER1
Peroxide Block:	5 minut
Marker (Primary Antibody):	15 minut
Post Primary:	8 minut
Polymer:	8 minut
Mixed Chromogen Refine:	10 minut
Hematoxylin:	5 minut

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Polish

BIOCARE
M E D I C A L

Kontrola jakości:

Patrz Standardy jakości CLSI dotyczące projektowania i wdrażania testów immunohistochemicznych; Zatwierdzone wytyczne – wydanie drugie (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA, USA (www.clsi.org). 2011⁶

Pozytywna kontrola tkanek: Migdałek

Zewnętrzne materiały kontroli dodatniej powinny składać się ze świeżych próbek, utrwalonych, przetworzonych i osadzonych tak szybko, jak to możliwe, w taki sam sposób, jak próbki pacjenta. Pozytywne kontrole tkanek wskazują na prawidłowo przygotowane tkanki i odpowiednie techniki barwienia. Do każdego cyklu barwienia należy włączyć jedną pozytywną zewnętrzną kontrolę tkanek dla każdego zestawu warunków testowych.

Tkanki stosowane w materiałach zewnętrznej kontroli pozytywnej należy wybierać spośród próbek pacjentów o dobrze scharakteryzowanym niskim poziomie dodatniej aktywności docelowej, która powoduje słabe dodatnie barwienie. Niski poziom dodatniości zewnętrznych kontroli pozytywnych ma na celu zapewnienie wykrycia subtelnych zmian we wrażliwości przeciwciał pierwotnych wynikających z niestabilności lub problemów z metodologią IHC. Dostępne w handlu szkiełka do kontroli tkanek lub próbki przetworzone inaczej niż próbki pacjenta potwierdzają jedynie działanie odczynnika i nie weryfikują przygotowania tkanki.

Znane pozytywne kontrole tkankowe należy wykorzystywać wyłącznie do monitorowania prawidłowego działania przetworzonych tkanek i odczynników testowych, a nie jako pomoc w formułowaniu konkretnej diagnozy próbek od pacjentów. Jeżeli dodatnie kontrole tkankowe nie wykażą dodatniego barwienia, wyniki uzyskane dla próbek testowych należy uznać za nieważne.

Negatywna kontrola tkankowa:

Użyj negatywnej kontroli tkankowej (o której wiadomo, że jest ujemna pod względem HLA-B), utrwalonej, przetworzonej i zatopionej w sposób identyczny z próbką(-ami) pacjenta przy każdym barwieniu, aby zweryfikować specyficzność przeciwciała pierwotnego IHC dla demonstracji docelowego antygenu i dostarczenia wskazania specyficznego barwienia tła (barwienie fałszywie dodatnie). Również różnorodność różnych typów komórek obecnych w większości skrawków tkanek może to powodować być wykorzystywane przez laboratorium jako wewnętrzne miejsca kontroli negatywnej w celu sprawdzenia działania IHC specyfikacji. Rodzaje i źródła próbek, które można wykorzystać do badania tkanek ujemnych elementy sterujące są wymienione w sekcji Charakterystyka wydajności.

Jeżeli w negatywnej kontroli tkankowej wystąpi specyficzne zabarwienie (fałszywie dodatnie zabarwienie), wyniki uzyskane na próbkach pacjentów należy uznać za nieważne.

Nieswoista kontrola ujemna odczynnika:

Do wycinka każdej próbki pacjenta należy zastosować nieswoistą kontrolę ujemną z odczynnikiem zamiast przeciwciała pierwotnego w celu oceny nieswoistego barwienia i pozwalają na lepszą interpretację specyficznego barwienia w miejscu antygenu. W idealnym przypadku kontrola ujemna odczynnika zawiera przeciwciała HLA-B [BC43] IgG1 Kappa wytworzone z supernatantu hodowli tkankowej w taki sam sposób jak przeciwciała pierwotne, ale nie wykazuje specyficznej reaktywności z tkankami ludzkimi w tej samej matrycy/roztworze co Przeciwciała Biocare. Rozcieńczycy przeciwciała stanowiące kontrolę ujemną do takiego samego stężenia immunoglobuliny lub białka jak rozcieńczone przeciwciała pierwotne przeciwciała przy użyciu identycznego rozcieńczalnika. Jeżeli po przetworzeniu w czystym przeciwciele pozostaje płódowa surowica cielęca, płódowa surowica cielęca o stężeniu białka równoważnym rozcieńczeniu Odpowiednie do użycia jest również przeciwciała pierwszorzędowe w tym samym rozcieńczalniku. (Patrz dostarczony odczynnik). Można zastosować sam rozcieńczalnik jako mniej

pożądaną alternatywę dla opisanych wcześniej kontroli ujemnych z odczynnikami. Okres inkubacji kontroli ujemnej odczynnika powinien odpowiadać okresowi inkubacji przeciwciała pierwszorzędowego.

Jeżeli w skrawkach seryjnych stosuje się panele kilku przeciwciał, obszary jednego szkiełka barwiące się negatywnie mogą służyć jako ujemna/nieswoiście wiążąca kontrola tła dla innych przeciwciał. Aby odróżnić endogenną aktywność enzymatyczną lub nieswoiste wiązanie enzymów od swoistej immunoreaktywności, dodatkowe tkanki pacjenta można wybarwić wyłącznie odpowiednio substratem-chromogenem lub kompleksami enzymatycznymi (PAP, awidyna-biotyna, streptawidyna) i substrat-chromogen.

Weryfikacja testu:

Przed pierwszym użyciem przeciwciała lub systemu barwienia w procedurze diagnostycznej użytkownik powinien zweryfikować specyficzność przeciwciała, testując je na szeregu własnych tkanek o znanej charakterystyce działania immunohistochemicznego, reprezentujących znane tkanki dodatnie i ujemne. Należy zapoznać się z procedurami kontroli jakości opisanymi wcześniej w tej części ulotki produktu oraz z zaleceniami dotyczącymi kontroli jakości Programu certyfikacji CAP[®] do immunohistochemii i/lub wytyczne NCCLS IHC[®]). Te procedury kontroli jakości należy powtarzać dla każdej nowej partii przeciwciał lub za każdym razem, gdy nastąpi zmiana parametrów testu. Tkanki wymienione w sekcji Charakterystyka działania nadają się do weryfikacji testu.

Rozwiązywanie problemów:

Postępuj zgodnie z zaleceniami protokołu dotyczącymi specyficznego przeciwciała, zgodnie z dostarczoną kartą charakterystyki. W przypadku wystąpienia nietypowych wyników należy skontaktować się z pomocą techniczną firmy Biocare pod numerem 1-800-542-2002.

Interpretacja barwienia:

Pozytywna kontrola tkanek:

Najpierw należy zbadać pozytywną kontrolę tkankową barwioną wskazanym przeciwciałem, aby upewnić się, że wszystkie odczynniki działają prawidłowo. Odpowiednie barwienie komórek docelowych (jak wskazano powyżej) wskazuje na dodatnią reaktywność. Jeżeli dodatnie kontrole tkanek nie wykażą dodatniego barwienia, wszelkie wyniki uzyskane dla próbek testowych należy uznać za nieważne. Kolor produktu reakcji może się różnić w zależności od użytego chromogenu substratu. Informacje na temat oczekiwanych reakcji kolorystycznych można znaleźć w ulotkach dołączonych do podłoża. Ponadto metachromazję można zaobserwować w odmianach metody barwienia.¹¹

W przypadku stosowania barwnika kontrastowego, w zależności od długości inkubacji i siły użytego barwnika kontrastowego, barwienie kontrastowe spowoduje zabarwienie jąder komórkowych. Nadmierne lub niepełne barwienie kontrastowe może zakłócić prawidłową interpretację wyników. Zalecane barwienie kontrastowe znajduje się w protokołach.

Negatywna kontrola tkanek:

Negatywną kontrolę tkankową należy zbadać po dodatniej kontroli tkankowej, aby zweryfikować specyficzność znakowania docelowego antygenu przez przeciwciała pierwszorzędowe. Brak swoistego barwienia w negatywnej kontroli tkankowej potwierdza brak reaktywności krzyżowej przeciwciał w stosunku do komórek/składników komórkowych. Jeżeli w ujemnej zewnętrznej kontroli tkanek wystąpi specyficzne zabarwienie (fałszywie dodatnie zabarwienie), wyniki uzyskane dla próbki pacjenta należy uznać za nieważne.

Nieswoiste zabarwienie, jeśli występuje, zwykle ma charakter rozproszony. Sporadyczne zabarwienie tkanki łącznej można również zaobserwować w

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

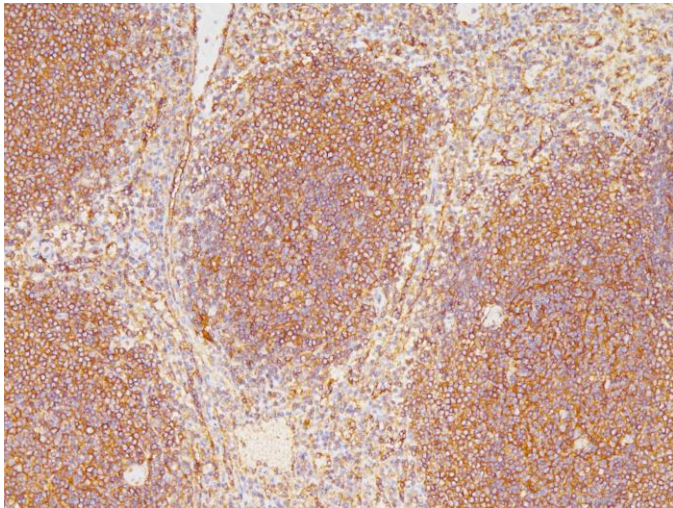
Polish

BIOCARE
M E D I C A L

skrawkach tkanek nadmiernie utrwalonych w formalinie. Do interpretacji wyników barwienia należy używać nienaruszonych komórek. Komórki martwicze lub zdegenerowane często barwią się nieswoiście.

Tkanka pacjenta:

Zbadaj próbki pacjentów wybarwione wskazanymi przeciwciałami ostatni. Intensywność barwienia dodatniego należy oceniać w kontekście wszelkich nieswoistych barwień tła kontroli negatywnej z odczynnikami. Podobnie jak w przypadku każdego testu immunohistochemicznego, wynik ujemny oznacza, że antygen nie został wykryty, a nie, że antygen był nieobecny w testowanych komórkach/tkance. Jeśli to konieczne, użyj panelu przeciwciał w celu zidentyfikowania reakcji fałszywie ujemnych.



Śledziona barwiona przeciwciałem HLA-B [BC43].

Aby uzyskać szczegółowe informacje dotyczące wskazanej immunoreaktywności przeciwciał, patrz Podsumowanie i wyjaśnienia, ograniczenia i charakterystyka działania.

Ograniczenia:

Ogólne ograniczenia:

1. Dla *in vitro* zastosowanie diagnostyczne
2. Ten produkt jest przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego: Immunohistochemia to wieloetapowy proces diagnostyczny, który obejmuje specjalistyczne szkolenie w zakresie doboru odpowiednich odczynników; wybór tkanki, utrwalanie i przetwarzanie; przygotowanie szkiełka IHC; i interpretację wyników barwienia.
3. Barwienie tkanek zależy od sposobu postępowania z tkanką i jej obróbki przed barwieniem. Niewłaściwe utrwalanie, zamrażanie, rozmrażanie, mycie, suszenie, podgrzewanie, dzielenie na skrawki lub zanieczyszczenie innymi tkankami lub płynami może spowodować artefakty, uwięzienie przeciwciał lub wyniki fałszywie ujemne. Niespójne wyniki mogą wynikać z różnic w metodach utrwalania i osadzania lub z nieodłącznych nieprawidłowości w tkance.¹²
4. Nadmierne lub niepełne barwienie kontrastowe może zakłócić prawidłową interpretację wyników.
5. Kluczową interpretację każdego dodatniego lub ujemnego zabarwienia należy ocenić w kontekście obrazu klinicznego, morfologii i innych kryteriów histopatologicznych. Kluczową interpretację każdego dodatniego lub ujemnego zabarwienia należy uzupełnić badaniami morfologicznymi z zastosowaniem odpowiednich pozytywnych i negatywnych kontroli wewnętrznych i zewnętrznych, a także innych

testów diagnostycznych. Za interpretację wszystkich etapów przygotowania i interpretacji końcowego preparatu IHC odpowiada wykwalifikowany patolog, który jest zaznajomiony z właściwym użyciem przeciwciał IHC, odczynników i metod.

6. Optymalne rozcieńczenie przeciwciał i protokoły dla konkretnego zastosowania mogą się różnić. Należą do nich między innymi utrwalanie, metoda odzyskiwania ciepła, czasy inkubacji, grubość skrawków tkanki i zastosowany zestaw do detekcji. Ze względu na wyjątkową czułość tych unikalnych odczynników, podane zalecane czasy inkubacji i miana nie mają zastosowania do innych systemów detekcji, ponieważ wyniki mogą się różnić. Zalecenia i protokoły zawarte w arkuszach danych opierają się na wyłącznym stosowaniu produktów Biocare. Ostatecznie zadaniem badacza jest określenie optymalnych warunków.
7. Ten produkt nie jest przeznaczony do stosowania w cytometrii przepływowej. Charakterystyki działania nie zostały określone dla cytometrii przepływowej.
8. Tkanki osób zakażonych wirusem zapalenia wątroby typu B i zawierające antygen powierzchniowy wirusa zapalenia wątroby typu B (HBsAg) mogą wykazywać niespecyficzne barwienie peroksydazą chrzanową.¹³
9. Odczynniki mogą wykazywać nieoczekiwane reakcje w wcześniej nietestowanych tkankach. Nie można całkowicie wyeliminować możliwości wystąpienia nieoczekiwanych reakcji nawet w badanych grupach tkanek ze względu na biologiczną zmienność ekspresji antygenów w nowotworach lub innych tkankach patologicznych.¹⁴ Skontaktuj się z pomocą techniczną firmy Biocare pod numerem 1-800-542-2002 lub za pośrednictwem informacji pomocy technicznej dostępnych na stronie biocare.net, podając udokumentowane nieoczekiwane reakcje.
10. Surowice normalne/nieimmunologiczne pochodzące z tego samego źródła zwierzęcego, co surowice wtórne stosowane na etapach blokowania, mogą dawać wyniki fałszywie ujemne lub fałszywie dodatnie ze względu na obecność autoprzeciwciał lub przeciwciał naturalnych.
11. Wyniki fałszywie dodatnie mogą wystąpić w wyniku nieimmunologicznego wiązania białek lub produktów reakcji substratu. Mogą być również spowodowane aktywnością pseudoperoxydazy (erytrocyty), endogenną aktywnością peroksydazy (cytochrom C) lub endogenną biotylną (np. wątroba, piersi, mózg, nerki), w zależności od rodzaju użytego barwnika immunologicznego.¹²

Ograniczenia specyficzne dla produktu:

Nie są znane żadne dodatkowe ograniczenia.

Charakterystyka wydajności:

Czułość, swoistość i reaktywność krzyżową podsumowano odpowiednio w Tabelach 1 i 2.

Powtarzalność:

Powtarzalność działania przeciwciał sprawdzono poprzez badanie wybranych tkanek prawidłowych i nowotworowych w różnych dniach przy użyciu różnych instrumentów, przy udziale wielu operatorów. Barwienie wybranych tkanek było spójne i przeprowadzone zgodnie z oczekiwaniami.

Powtarzalność barwienia w obrębie serii określono poprzez barwienie pięciu tkanek zawierających tę samą tkankę na wielu instrumentach.

Powtarzalność barwienia między seriami określono poprzez barwienie pięciu szkiełek zawierających tę samą tkankę przez trzy dni/serie na tym samym aparacie. Wszystkie testy przeszły z tymi samymi wynikami, zgodnie z wewnętrznymi wytycznymi Biocare dotyczącymi punktacji.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

108/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Polish

BIOCARE
M E D I C A L

Immunoreaktywność:

W Tabelach 1 i 2 poniżej wykazano następujące dodatnie i ujemne immunoreaktywności.

Poniższa lista nie jest wyczerpująca, ale charakteryzuje rodzaje reakcji immunologicznych obserwowanych w przypadku wskazanego przeciwciała.

Podsumowanie oczekiwanych wyników:

Stwierdzono, że przeciwciało to wykazuje immunoreaktywność w stosunku do wszystkich typów tkanek, na których było testowane, w tym do wszystkich typów chłoniaków i prawidłowych tkanek ludzkich. Zabarwienie jest głównie błonowe, ale w próbkach o wysokiej ekspresji może również wyglądać na cytoplazmatyczne. Barwienie występuje głównie w komórkach śródbłonka i limfocytach, rzadziej w komórkach nabłonka w niektórych tkankach.

Wątroba	3	3
Gruzoł ślinowy	3	3
Nerka	3	3
Prostata	3	3
Macica	3	3
Szyjka macicy	3	3
Mięśnie szkieletowe	2	3
Skóra	2	2
Nerw obwodowy	3	3
Komórki wyściółkowe	2	2
Oko	3	3
Krtań	3	3

Tabela 1: Czulość i swoistość określono poprzez badanie utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie chorych tkanek.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Tabela 2: Reaktywność krzyżową tkanek określono poprzez badanie normalnych tkanek utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie.

Tkanka	Pozytywne przypadki	Całkowita liczba przypadków
Mózg	5	6
Mózdzek	3	3
Nadnerkowy	3	3
Jajnik	2	3
Trzustka	3	3
Węzeł limfatyczny	3	3
Tchawica	3	3
Jądro	5	5
Tarczyca	3	3
Piers	2	2
Śledziona	4	4
Migdałek	3	3
Grasica	3	3
Szpiczek kostny	3	3
Płuco	3	3
Serce	3	3
Przełyk	3	3
Żołądek	2	3
Jelito cienkie	3	3
Okreźnica	3	3

Rozwiązywanie problemów:

1. Brak barwienia jakichkolwiek szkiełek – sprawdzić, czy użyto odpowiedniej tkanki kontroli pozytywnej, przeciwciała i produktów do wykrywania.
2. Stabe barwienie wszystkich preparatów – sprawdzić, czy użyto odpowiedniej tkanki kontroli pozytywnej, przeciwciała i produktów do wykrywania.
3. Nadmierne tło wszystkich preparatów – może występować wysoki poziom endogennej biotyny (w przypadku stosowania produktów do wykrywania na bazie biotyny), endogenna aktywność HRP przekształcająca chromogen w kolorowy produkt końcowy (użyj bloku peroksydazy) lub nadmierne niespecyficzne interakcje białek (użyj białka bloker, taki jak roztwór blokujący na bazie surowicy lub kazeiny).
4. Skrawki tkanek zmywają szkiełka podczas inkubacji – Sprawdź szkiełka, aby upewnić się, że są naładowane dodatnio.
5. Specyficzne barwienie jest zbyt ciemne – Sprawdź protokół, aby ustalić, czy do szkiełka nałożono właściwe miano przeciwciała, a także czy określono właściwy czas inkubacji dla wszystkich odczynników. Ponadto należy upewnić się, że protokół zawiera wystarczającą liczbę etapów płukania, aby usunąć nadmiar odczynników po zakończeniu etapów inkubacji.

Bibliografia:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

109/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Polish

BIOCARE
M E D I C A L

11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. *Histochemistry* 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. *Lab Med* 1983; 14:767.
13. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *AmJ Clin Path* 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.
15. Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. *Curr Opin Immunol.* 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. *J Immunol.* 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Przeciwciała Ultraline są opracowywane wyłącznie przez Biocare Medical LLC i nie oznaczają zatwierdzenia ani poparcia przeciwciał Biocare przez Ventana Medical Systems, Inc lub Roche. Biocare, Ventana i Roche nie są w żaden sposób powiązane, stowarzyszone ani powiązane. Ventana®, BenchMark®, ultraView i OptiView są znakami towarowymi firmy Roche.

Przeciwciała serii Q zostały opracowane wyłącznie przez Biocare Medical LLC i nie oznaczają zatwierdzenia ani poparcia przeciwciał Biocare przez Leica Biosystems. Firmy Biocare i Leica Biosystems nie są w żaden sposób powiązane, stowarzyszone ani powiązane. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX i BOND-III są znakami towarowymi firmy Leica Biosystems.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Portuguese

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Uso pretendido:

Para *em vitro* Uso de diagnóstico

HLA-B [BC43] é um anticorpo monoclonal de camundongo destinado ao uso laboratorial após o diagnóstico inicial do tumor ter sido feito por histopatologia convencional usando colorações histoquímicas não imunológicas, na identificação qualitativa de HLA-B proteína por imunohistoquímica (IHC) em tecidos humanos fixados em formalina e embebidos em parafina (FFPE). A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos utilizando controles adequados e deve ser avaliada no contexto da história clínica do paciente e de outros testes de diagnóstico por um patologista qualificado como auxílio na realização de quaisquer outras determinações clínicas.

Resumo e explicação:

HLA-B é um gene que codifica uma proteína altamente polimórfica para o complexo principal de histocompatibilidade de classe I (MHC-I).¹⁵ As moléculas do MHC classe I são expressas na superfície celular, ligando-se e apresentando peptídeos antigênicos aos linfócitos T CD8+ para mediar respostas imunes contra patógenos intracelulares e cânceres.¹⁶

Princípio do Procedimento:

Este produto de anticorpo pode ser usado como anticorpo primário em testes imuno-histoquímicos de secções de tecido fixadas em formalina e embebidas em parafina. Em geral, imuno-histoquímica (IHQ) técnicas de coloração permitem a visualização de antígenos através da aplicação sequencial de um anticorpo específico para o antígeno (anticorpo primário), um anticorpo secundário para o anticorpo primário (ligação anticorpo/sonda opcional), um complexo enzimático e um substrato cromogênico com etapas de lavagem interpostas. A ativação enzimática do cromogênio resulta em um produto de reação visível no local do antígeno. A amostra pode então ser contrastada e laminada. Os resultados são interpretados usando uma luz microscópio e auxiliar no diagnóstico diferencial de processos fisiopatológicos, que podem ou não estar associado a um antígeno específico.

Materiais e métodos:

Reagentes fornecidos:

Fonte do host:Rato monoclonal

Reatividade da espécie:Humano; outras espécies não testadas.

Clone:BC43

Isótipo:IgG1 kappa

Concentração de Proteína:Consulte o rótulo do frasco para obter a concentração específica do lote.

Concentração Específica de IgG: Contate o Suporte Técnico da Biocare

Especificidade:HLA-B

Localização Celular: Membrana celular

Método:Monoclonal de camundongo purificado por afinidade

Reconstituição, mistura, diluição, titulação:

O reagente de anticorpo pré-diluído é diluído de forma ideal para utilização com os sistemas de coloração listados acima. Uma diluição adicional pode resultar na perda da coloração do antígeno. Uma diluição adicional pode

resultar na perda da coloração do antígeno. O usuário deve validar qualquer alteração desse tipo. Diferenças no processamento de tecidos e procedimentos técnicos no laboratório do usuário pode produzir variabilidade significativa nos resultados, exigindo a realização regular de controles internos (consulte a seção Controle de qualidade).

O reagente concentrado requer diluição conforme indicado na tabela acima.

Aplicações conhecidas:

Imunohistoquímica (tecidos fixados em formalina e embebidos em parafina)

Fornecido como:Solução salina tamponada, 5,9-7,4,contendo um transportador de proteína e menos de 0,1% de conservante azida de sódio. Consulte a Ficha de Dados de Segurança para obter detalhes adicionais.

Materiais e reagentes necessários, mas não fornecidos:

Lâminas de microscópio carregadas positivamente.

Controles de tecido positivos e negativos

Câmara do Deserto (ou forno de secagem semelhante)

Xileno ou substituto de xileno

Etanol ou álcool reagente

Câmara de descamufagem (painel de pressão)

Água deionizada ou destilada

Tampão de lavagem

Reagentes de pré-tratamento

Bloqueio de peroxidase

Bloco de proteína (opcional)

Sonda de detecção e polímero

Reagentes de controle negativo

Cromógenos

Hematoxilina (contracorante)

Reagente azul

Meio de montagem

Tampa de vidro

Microscópio óptico (ampliação de 40-400X)

*As configurações do produto de anticorpo estão disponíveis para uso nos instrumentos indicados na tabela acima.

Armazenamento e estabilidade:

Conservar entre 2°C a 8°C. O produto é estável até o prazo de validade impresso no rótulo do frasco, quando armazenado nessas condições. Não use após a data de validade. O armazenamento sob qualquer condição diferente das especificadas deve ser verificado. Os reagentes diluídos devem ser usados imediatamente; armazenar qualquer reagente restante entre 2°C e 8°C. A estabilidade do reagente diluído pelo utilizador não foi estabelecida pela Biocare.

Os controles positivos e negativos devem ser analisados simultaneamente com todas as amostras dos pacientes. Se for observada coloração inesperada que não pode ser explicada por variações nos procedimentos laboratoriais e houver suspeita de um problema com o anticorpo, entre em contato com o Suporte Técnico da Biocare pelo telefone 1-800-542-2002 ou através das informações de suporte técnico fornecidas em biocare.net.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

111/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Portuguese

BIOCARE
M E D I C A L

Preparação de amostras:

Tecidos fixados em formalina são adequados para uso antes da inclusão em parafina. Os tecidos ósseos devem ser descalcificados antes do processamento do tecido para facilitar o corte do tecido e evitar danos às lâminas do micróscopo.^{1,2}

Os tecidos devidamente fixados e embebidos que expressam o antígeno alvo especificado devem ser armazenados em local fresco. A Lei de Melhoria de Laboratórios Clínicos (CLIA) de 1988 exige em 42 CFR§493.1259(b) que "O laboratório deve reter as lâminas coradas por pelo menos dez anos a partir da data de exame e reter blocos de amostras por pelo menos dois anos a partir da data do exame."³

Tratamento de tecidos antes da coloração:

Execute a recuperação de epítomos induzida por calor (HIER) de acordo com o protocolo recomendado abaixo. Foi demonstrado que o uso rotineiro de HIER antes da IHC minimiza a inconsistência e padroniza a coloração.^{4,5}

Aviso e Precauções:

1. Este anticorpo contém menos de 0,1% de azida de sódio. Concentrações inferiores a 0,1% não são materiais perigosos reportáveis de acordo com U.S. 29 CFR 1910.1200, comunicação de perigo OSHA e diretiva CE 91/155/EC. Azida de sódio (NaN₃) usado como conservante é tóxico se ingerido. A azida de sódio pode reagir com encanamentos de chumbo e cobre formando azidas metálicas altamente explosivas. Após o descarte, lave com grandes volumes de água para evitar o acúmulo de azida no encanamento. (Centro de Controle de Doenças, 1976, Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional, 1976)⁶
2. As amostras, antes e depois da fixação, e todos os materiais a elas expostos devem ser manuseados como se fossem capazes de transmitir infecções e eliminados com as devidas precauções. Nunca pipete reagentes com a boca e evite o contacto da pele e das membranas mucosas com reagentes e amostras. Se os reagentes ou as amostras entrarem em contacto com áreas sensíveis, lave com água em abundância.⁷
3. A contaminação microbiana dos reagentes pode resultar num aumento de coloração inespecífica.
4. Tempos de incubação ou temperaturas diferentes dos especificados podem dar resultados errados. O usuário deve validar qualquer alteração desse tipo.
5. Não utilize o reagente após o prazo de validade impresso no frasco.
6. O reagente de anticorpo pré-diluído é diluído de forma ideal para utilização. Uma diluição adicional pode resultar na perda da coloração do antígeno.
7. A diluição do reagente de anticorpo concentrado deve ser validada antes da utilização. Qualquer diluente utilizado que não seja especificamente recomendado também deve ser validado quanto à compatibilidade e estabilidade.
8. A FDS está disponível mediante solicitação e está localizada em <http://biocare.net>.

Instruções de uso:

Protocolos de coloração recomendados para HLA-B [BC43]:

IntelliPATH FLX e uso manual:

API3289 para IntelliPATH FLX e uso manual, foi padronizado com MACH 4 sistema de detecção. Use TBS para etapas de lavagem.	
Peroxide Block:	Bloquear por 5 minutos com Peroxidized 1.
Pretreatment:	Execute a recuperação de calor usando o Reveal Decloaker. Consulte a folha de dados do Reveal Decloaker para obter instruções específicas.
Protein Block (Optional):	Incubar por 5-10 minutos em temperatura ambiente com Punisher de fundo.

Primary Antibody:	Incubar por 30 minutos em temperatura ambiente.
Detection:	Sonda: Incubar durante 10 minutos à temperatura ambiente com um polímero secundário.
	Polímero: Incubar durante 20 minutos à temperatura ambiente com um polímero terciário.
Chromogen:	Incubar durante 5 minutos à temperatura ambiente com DAB da Biocare – OU – Incubar durante 5-7 minutos à temperatura ambiente com Warp Red.
Counterstain:	Contracoloração com hematoxilina. Enxágüe com água deionizada. Aplique a solução Bluing da Tacha por 1 minuto. Enxágüe com água deionizada.

Sistema automatizado de coloração de lâminas ONCORE Pro:

OPAI3289 deve ser usado com o ONCORE Pro. Consulte o Manual do Usuário para obter instruções específicas de uso. Os parâmetros do protocolo no Editor de protocolo devem ser programados da seguinte forma:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Sra. HRP Modelo 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, pH baixo; 101°C
Block Option:	Amortecedor
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 min., 25°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3289 deve ser usado com o BenchMark ULTRA. Consulte o Manual do Usuário para obter instruções específicas de uso. Os parâmetros de protocolo recomendados são os seguintes:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minutos
Peroxidase:	Inibidor pré-primário da peroxidase
Primary Antibody:	8 minutos, 36°C

Série Q – Para Leica BOND-III:

ALI3289 deve ser usado com o Leica BOND-III. Consulte o Manual do Usuário para obter instruções específicas de uso. Os parâmetros de protocolo recomendados são os seguintes:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	Protocolo IHC F
Detection:	Refinamento de polímero de ligação
HIER:	10 minutos com ER1
Peroxide Block:	5 minutos
Marker (Primary Antibody):	15 minutos
Post Primary:	8 minutos
Polymer:	8 minutos
Mixed Chromogen Refine:	10 minutos
Hematoxylin:	5 minutos

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

112/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Portuguese

BIOCARE
M E D I C A L

Controle de qualidade:

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

Controle Positivo de Tecidos: Amídala

Os materiais de controle positivo externo devem ser amostras frescas fixadas, processadas e incorporadas o mais rápido possível, da mesma maneira que a(s) amostra(s) do paciente. Os controlos teciduais positivos são indicativos de tecidos correctamente preparados e de técnicas de coloração adequadas. Deve ser incluído em cada execução de coloração um controlo tecidual externo positivo para cada conjunto de condições de teste.

Os tecidos utilizados para os materiais de controlo positivo externo devem ser seleccionados a partir de amostras de pacientes com baixos níveis bem caracterizados de actividade alvo positiva que originam uma coloração positiva fraca. O baixo nível de positividade para controlos positivos externos foi projetado para garantir a detecção de alterações sutis na sensibilidade do anticorpo primário devido à instabilidade ou problemas com a metodologia IHC. As lâminas de controlo de tecidos disponíveis comercialmente ou as amostras processadas de forma diferente da(s) amostra(s) do paciente validam apenas o desempenho dos reagentes e não verificam a preparação do tecido.

Os controlos teciduais positivos conhecidos só devem ser utilizados para monitorizar o desempenho correcto dos tecidos processados e dos reagentes de teste, e não como auxílio na formulação de um diagnóstico específico de amostras de pacientes. Se os controlos teciduais positivos não demonstrarem coloração positiva, os resultados com as amostras de teste deverão ser considerados inválidos.

Controle Negativo de Tecidos:

Use um controle de tecido negativo (conhecido como negativo para HLA-B) fixado, processado e incorporado de maneira idêntica à(s) amostra(s) do paciente em cada execução de coloração para verificar a especificidade do anticorpo primário IHC para demonstração do antígeno alvo e para fornecer uma indicação de coloração de fundo específica (coloração falso positivo). Além disso, a variedade de diferentes tipos de células presentes na maioria das secções de tecido pode ser usados pelo laboratório como locais de controle negativo interno para verificar o desempenho do IHC especificações. Os tipos e fontes de amostras que podem ser usadas para tecido negativo os controlos estão listados na seção Características de desempenho.

Se ocorrer coloração específica (coloração falsa positiva) no controlo negativo do tecido, os resultados com as amostras do paciente deverão ser considerados inválidos.

Controle de reagente negativo inespecífico:

Use um controle de reagente negativo inespecífico no lugar do anticorpo primário com uma seção de cada amostra do paciente para avaliar coloração inespecífica e

permitem uma melhor interpretação da coloração específica no local do antígeno. Idealmente, um controle de reagente negativo contém um anticorpo Kappa HLA-B [BC43] IgG1 produzido a partir do sobrenadante da cultura de tecidos da mesma forma que o anticorpo primário, mas não exibe reatividade específica com tecidos humanos na mesma matriz/solução que o Anticorpo Biocare. Diluir um anticorpo de controle negativo na mesma concentração de imunoglobulina ou proteína que o primário diluído anticorpo usando o diluente idêntico. Se o soro fetal de vitelo for retido no anticorpo puro após o processamento, o soro fetal de vitelo numa concentração de proteína equivalente ao diluído anticorpo primário no mesmo diluente também é adequado para uso. (Consulte o reagente fornecido). O diluente sozinho pode ser utilizado como uma alternativa menos desejável aos controlos de reagentes negativos descritos anteriormente. O período de

incubação do reagente de controlo negativo deve corresponder ao do anticorpo primário.

Quando são utilizados painéis de vários anticorpos em secções em série, as áreas de coloração negativa de uma lâmina podem servir como controlo de fundo de ligação negativo/inespecífico para outros anticorpos. Para diferenciar a atividade enzimática endógena ou a ligação inespecífica de enzimas da imunorreatividade específica, tecidos adicionais do paciente podem ser corados exclusivamente com substrato-cromógeno ou complexos enzimáticos (PAP, avidina-biotina, estreptavidina) e substrato-cromógeno, respectivamente.

Verificação do ensaio:

Antes da utilização inicial de um anticorpo ou sistema de coloração num procedimento de diagnóstico, o utilizador deve verificar a especificidade do anticorpo testando-o numa série de tecidos internos com características de desempenho imuno-histoquímica conhecidas, representando tecidos positivos e negativos conhecidos. Consulte os procedimentos de controle de qualidade descritos anteriormente nesta seção da bula do produto e as recomendações de controle de qualidade do Programa de Certificação CAP® para imunohistoquímica e/ou a diretriz NCCLS IHC®. Estes procedimentos de controle de qualidade devem ser repetidos para cada novo lote de anticorpos ou sempre que houver alteração nos parâmetros do ensaio. Os tecidos listados na Seção de Características de Desempenho são adequados para verificação de ensaio.

Solução de problemas:

Siga as recomendações do protocolo específico do anticorpo de acordo com a ficha técnica fornecida. Se ocorrerem resultados atípicos, entre em contato com o Suporte Técnico da Biocare pelo telefone 1-800-542-2002.

Interpretação da coloração:

Controle Positivo de Tecidos:

O controlo tecidual positivo corado com o anticorpo indicado deve ser examinado primeiro para verificar se todos os reagentes estão a funcionar correctamente. A coloração apropriada das células alvo (como indicado acima) é indicativa de reatividade positiva. Se os controlos teciduais positivos não demonstrarem coloração positiva, quaisquer resultados com as amostras de teste deverão ser considerados inválidos. A cor do produto da reação pode variar dependendo dos cromógenos do substrato utilizados. Consulte as bulas do substrato para obter as reações de cor esperadas. Além disso, a metacromasia pode ser observada em variações do método de coloração.¹¹ Quando é utilizado um contracorante, dependendo da duração da incubação e da potência do contracorante utilizado, o contracorante resultará numa coloração dos núcleos das células. A contrastação excessiva ou incompleta pode comprometer a interpretação adequada dos resultados. Consulte o(s) protocolo(s) para obter a contracoloração recomendada.

Controle Negativo de Tecidos:

O controlo tecidual negativo deve ser examinado após o controlo tecidual positivo para verificar a especificidade da marcação do antígeno alvo pelo anticorpo primário. A ausência de coloração específica no controlo negativo de tecido confirma a falta de reactividade cruzada do anticorpo com células/componentes celulares. Se ocorrer coloração específica (coloração falsa positiva) no controlo tecidual externo negativo, os resultados com a amostra do paciente deverão ser considerados inválidos.

A coloração inespecífica, se presente, geralmente tem aparência difusa. A coloração esporádica do tecido conjuntivo também pode ser observada em secções de tecidos excessivamente fixados em formalina. Use células intactas para interpretação dos resultados de coloração. Células necróticas ou degeneradas geralmente apresentam coloração inespecífica.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

113/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

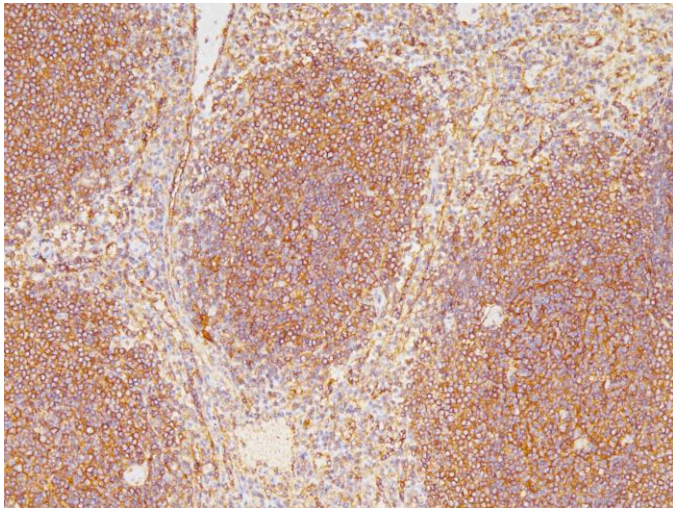
Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Portuguese

BIOCARE
M E D I C A L

Tecido do Paciente:

Examinar amostras de pacientes coradas com o anticorpo indicado durar. A intensidade da coloração positiva deve ser avaliada no contexto de qualquer coloração de fundo inespecífica do controlo de reagente negativo. Tal como acontece com qualquer teste imuno-histoquímico, um resultado negativo significa que o antígeno não foi detectado, e não que o antígeno estava ausente nas células/tecidos analisados. Se necessário, utilize um painel de anticorpos para identificar reações falso-negativas.



Baço corado com anticorpo HLA-B [BC43]

Consulte Resumo e Explicação, Limitações e Características de Desempenho para obter informações específicas sobre a imunorreatividade de anticorpos indicada.

Limitações:

Limitações Gerais:

1. Para *em vitro* Uso diagnóstico
2. Este produto é apenas para uso profissional: A imunohistoquímica é um processo de diagnóstico em múltiplas etapas que consiste em treinamento especializado na seleção dos reagentes adequados; seleção, fixação e processamento de tecidos; preparação da lâmina IHC; e interpretação dos resultados da coloração.
3. A coloração do tecido depende do manuseio e processamento do tecido antes da coloração. Fixação, congelamento, descongelamento, lavagem, secagem, aquecimento, seccionamento ou contaminação inadequados com outros tecidos ou fluidos podem produzir artefatos, aprisionamento de anticorpos ou resultados falsos negativos. Resultados inconsistentes podem ser devidos a variações nos métodos de fixação e inclusão, ou a irregularidades inerentes ao tecido.¹²
4. A contrastação excessiva ou incompleta pode comprometer a interpretação adequada dos resultados.
5. A interpretação clínica de qualquer coloração positiva ou negativa deve ser avaliada dentro do contexto da apresentação clínica, morfologia e outros critérios histopatológicos. A interpretação clínica de qualquer coloração positiva ou negativa deve ser complementada por estudos morfológicos utilizando controlos internos e externos positivos e negativos adequados, bem como outros testes de diagnóstico. É responsabilidade de um patologista qualificado que esteja familiarizado com o uso adequado de anticorpos, reagentes e métodos de IHC interpretar todas as etapas usadas para preparar e interpretar a preparação final de IHC.

6. A diluição ideal de anticorpos e os protocolos para uma aplicação específica podem variar. Estes incluem, mas não estão limitados a fixação, método de recuperação de calor, tempos de incubação, espessura da secção de tecido e kit de detecção utilizado. Devido à sensibilidade superior destes reagentes exclusivos, os tempos de incubação recomendados e os títulos listados não são aplicáveis a outros sistemas de detecção, pois os resultados podem variar. As recomendações e protocolos da ficha técnica são baseados no uso exclusivo de produtos Biocare. Em última análise, é responsabilidade do investigador determinar as condições ideais.
7. Este produto não se destina ao uso em citometria de fluxo. As características de desempenho não foram determinadas para citometria de fluxo.
8. Os tecidos de pessoas infectadas com o vírus da hepatite B e contendo antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) podem apresentar coloração inespecífica com peroxidase de rábano.¹³
9. Os reagentes podem demonstrar reações inesperadas em tecidos não testados anteriormente. A possibilidade de reações inesperadas mesmo em grupos de tecidos testados não pode ser completamente eliminada devido à variabilidade biológica da expressão do antígeno em neoplasias ou outros tecidos patológicos.¹⁴ Entre em contato com o suporte técnico da Biocare pelo telefone 1-800-542-2002 ou por meio das informações de suporte técnico fornecidas em biocare.net, com reações inesperadas documentadas.
10. Os soros normais/não imunes da mesma origem animal que os anticorpos secundários utilizados nas etapas de bloqueio podem causar resultados falso-negativos ou falso-positivos devido a autoanticorpos ou anticorpos naturais.
11. Resultados falso-positivos podem ser observados devido à ligação não imunológica de proteínas ou produtos de reação de substrato. Eles também podem ser causados por atividade de pseudo peroxidase (eritrócitos), atividade de peroxidase endógena (citocromo C) ou biotina endógena (por exemplo, fígado, mama, cérebro, rim), dependendo do tipo de imunocoloração utilizada.¹²

Limitações Específicas do Produto:

Não há limitações adicionais conhecidas.

Características de desempenho:

Sensibilidade, especificidade e reatividade cruzada estão resumidas nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Reprodutibilidade:

A reprodutibilidade do desempenho dos anticorpos foi verificada testando tecidos normais e tumorais selecionados em vários dias e vários instrumentos com vários operadores. A coloração dos tecidos selecionados foi consistente e realizada conforme esperado.

A reprodutibilidade intra-ensaio da coloração foi determinada pela coloração de cinco tecidos contendo o mesmo tecido em vários instrumentos.

A reprodutibilidade inter-ensaios da coloração foi determinada pela coloração de cinco lâminas contendo o mesmo tecido em três dias/ensaios no mesmo instrumento. Todos os testes foram aprovados com as mesmas pontuações, conforme definido pelas diretrizes internas de pontuação da Biocare.

Imunoreatividade:

As seguintes imunorreatividades positivas e negativas foram demonstradas nas Tabelas 1 e 2 abaixo.

A lista fornecida abaixo não é exaustiva, mas caracteriza os tipos de imunorreatividades observadas com o anticorpo indicado.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Portuguese

BIOCARE
M E D I C A L

Resumo dos resultados esperados:

Verificou-se que este anticorpo era imuno-reactivo com todos os tipos de tecidos em que foi testado, incluindo todos os tipos de linfomas e tecido humano normal. A coloração é predominantemente membranosa, mas também pode parecer citoplasmática em amostras de alta expressão. A coloração está presente predominantemente em células endoteliais e linfócitos, com menor prevalência em células epiteliais em alguns tecidos.

Músculo esquelético	2	3
Pele	2	2
Nervo Periférico	3	3
Células de Revestimento	2	2
Olho	3	3
Laringe	3	3

Tabela 1: A sensibilidade e a especificidade foram determinadas testando tecidos doentes fixados em formalina e embebidos em parafina.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Mesa 2: A reatividade cruzada tecidual foi determinada testando tecidos normais fixados em formalina e embebidos em parafina.

Tecido	Casos Positivos	Total de casos
Cérebro	5	6
Cerebelo	3	3
Ad-renal	3	3
Ovário	2	3
Pâncreas	3	3
Linfonodo	3	3
Traquéia	3	3
Testículo	5	5
Tireoide	3	3
Seios	2	2
Baço	4	4
Amídala	3	3
Timo	3	3
Medula óssea	3	3
Pulmão	3	3
Coração	3	3
Esôfago	3	3
Estômago	2	3
Intestino delgado	3	3
Cólon	3	3
Fígado	3	3
Glândula salivar	3	3
Rim	3	3
Próstata	3	3
Útero	3	3
Colo do útero	3	3

Solução de problemas:

1. Nenhuma coloração em nenhuma lâmina – Verifique para determinar se foram utilizados tecidos de controle positivo, anticorpos e produtos de detecção apropriados.
2. Coloração fraca de todas as lâminas – Verifique para determinar se foram utilizados tecidos de controle positivo apropriados, anticorpos e produtos de detecção.
3. Fundo excessivo de todas as lâminas – Pode haver altos níveis de biotina endógena (se estiver usando produtos de detecção à base de biotina), atividade endógena de HRP convertendo cromogênio em produto final colorido (use bloco de peroxidase) ou excesso de interação proteica não específica (use uma proteína bloqueio, como solução de bloqueio à base de soro ou caseína).
4. As secções de tecido são removidas das lâminas durante a incubação – Verifique as lâminas para garantir que estão carregadas positivamente.
5. Coloração específica demasiado escura – Verifique o protocolo para determinar se o título de anticorpos adequado foi aplicado à lâmina, bem como os tempos de incubação adequados para todos os reagentes. Além disso, certifique-se de que o protocolo tenha etapas de lavagem suficientes para remover o excesso de reagentes após a conclusão das etapas de incubação.

Referências:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Path 1980; 73:626.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody

901-3289-090623

Portuguese

BIOCARE
M E D I C A L

14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.
15. Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. *Curr Opin Immunol*. 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. *J Immunol*. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Os anticorpos da Série Q são desenvolvidos exclusivamente pela Biocare Medical LLC e não implicam aprovação ou endosso de anticorpos Biocare pela Leica Biosystems. A Biocare e a Leica Biosystems não são afiliadas, associadas ou relacionadas de forma alguma. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX e BOND-III são marcas registradas da Leica Biosystems.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Romanian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Utilizarea prevăzută:

Pentru *in vitro* Utilizare pentru diagnosticare

HLA-B [BC43] este un anticorp monoclonal de șoarece care este destinat utilizării în laborator după ce diagnosticul inițial al tumorii a fost făcut prin histopatologie convențională folosind colorări histochemice neimunologice, în identificarea calitativă a HLA-B proteină prin imunohistochimie (IHC) în țesuturi umane încorporate în parafină fixată în formalină (FFPE). Interpretarea clinică a oricărei colorări sau absența acesteia ar trebui completată de studii morfologice folosind controale adecvate și ar trebui evaluată în contextul istoricului clinic al pacientului și al altor teste de diagnostic de către un patolog calificat, ca ajutor în efectuarea oricăror alte determinări clinice.

Rezumat și explicație:

HLA-B este o genă care codifică proteină foarte polimorfă pentru complexul major de histocompatibilitate clasa I (MHC-I).¹⁵ Moleculile MHC clasa I sunt exprimate pe suprafața celulei, legând și prezentând peptide antigenice la limfocitele T CD8+ pentru a media răspunsurile imune împotriva agenților patogeni intracelulari și a cancerelor.¹⁶

Principiul procedurii:

Acest produs anticorp poate fi utilizat ca anticorp primar în testarea imunohistochimică a secțiunilor de țesut fixate cu formol, încorporate în parafină. În general, imunohistochimic (IHC) tehnicile de colorare permit vizualizarea antigenelor prin aplicarea secvențială a anticorpului specific la antigen (anticorp primar), un anticorp secundar la anticorpul primar (anticorp/sondă opțional link), un complex enzimatic și un substrat cromogen cu etape de spălare interpușe. Activarea enzimatică a cromogenului are ca rezultat un produs de reacție vizibil la locul antigenului. Eșantionul poate fi apoi contracolorat și capacul poate fi plasat. Rezultatele sunt interpretate folosind o lumină microscop și ajută la diagnosticul diferențial al proceselor fiziopatologice, care pot sau poate să nu fie asociat cu un anumit antigen.

Materiale și metode:

Reactivi furnizați:

Sursa gazdei: Șoarece monoclonal

Reactivitatea speciei: Uman; alte specii netestate.

Clonează: BC43

Izotip: IgG1 kappa

Concentrația de proteine: Consultați eticheta flaconului pentru concentrația specifică lotului.

Concentrație specifică de IgG: Contactați asistența tehnică Biocare

Specificitate: HLA-B

Localizare celulară: Membrana celulară

Metodă: Monoclonal de șoarece purificat prin afinitate

Reconstituire, amestecare, diluare, titrare:

Reactivul anticorp prediluat este diluat optim pentru utilizare cu sistemele de colorare enumerate mai sus. O diluare ulterioară poate duce la pierderea colorării cu antigen. O diluare ulterioară poate duce la pierderea colorării cu antigen. Utilizatorul trebuie să valideze orice astfel de modificare. Diferențele

în procesarea țesuturilor și procedurile tehnice în laboratorul utilizatorului poate produce o variabilitate semnificativă a rezultatelor care necesită efectuarea regulată a controalelor interne (vezi secțiunea Controlul calității).

Reactivul concentrat necesită diluare așa cum este indicat în tabelul de mai sus.

Aplicații cunoscute:

Imunohistochimie (țesuturi încorporate în parafină fixate în formol)

Furnizat ca: Soluție salină tamponată, 5,9-7,4, care conține un purtător de proteine și mai puțin de 0,1% conservant de azid de sodiu. Consultați Fișa cu date de securitate pentru detalii suplimentare.

Materiale și reactivi necesari, dar nefurnizați:

Lamele de microscop încărcate pozitiv.

Controale tisulare pozitive și negative

Camera deșertului (sau cuptor de uscare similar)

Xilen sau înlocuitor de xilen

Etanol sau alcool reactiv

Camera de decloaking (oala sub presiune)

Apă deionizată sau distilată

Tampon de spălare

Reactivi de pretratare

Bloc de peroxidază

Bloc de proteine (opțional)

Sondă de detectare și polimer

Reactivi de control negativ

Cromogene

Hematoxină (contracolor)

Reactiv de albastru

Mediu de montaj

Sticlă de acoperire

Microscop cu lumină (mărire 40-400X)

*Configurațiile produsului cu anticorpi sunt disponibile pentru utilizare pe instrumentele indicate în tabelul de mai sus.

Depozitare și stabilitate:

A se păstra la 2°C până la 8°C. Produsul este stabil până la data de expirare imprimată pe eticheta flaconului, atunci când este păstrat în aceste condiții. Nu utilizați după data de expirare. Depozitarea în orice alte condiții decât cele specificate trebuie verificată. Reactivii diluați trebuie utilizați prompt; depozitați orice reactiv rămas la 2°C până la 8°C. Stabilitatea reactivului diluat de utilizator nu a fost stabilită de Biocare.

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

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

117/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Romanian

BIOCARE
M E D I C A L

Pregătirea probei:

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

Țesuturile fixate și încorporate în mod corespunzător care exprimă antigenul țintă specificat trebuie păstrate într-un loc răcoros. Actul Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) din 1988 impune în 42 CFR§493.1259(b) că „laboratorul trebuie să rețină lamele colorate cel puțin zece ani de la data examinării și păstrarea blocurilor de specimene cel puțin doi ani de la data examinării.”³

Tratamentul țesuturilor înainte de colorare:

Efectuați recuperarea epitopului indusă de căldură (HIER) conform protocolului recomandat de mai jos. S-a demonstrat că utilizarea de rutină a HIER înainte de IHC reduce la minimum inconsistența și standardizează colorarea.^{4,5}

Avertisment și precauții:

1. Acest anticorp conține mai puțin de 0,1% azidă de sodiu. Concentrațiile mai mici de 0,1% nu sunt materiale periculoase raportabile conform U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication și Directivei CE 91/155/EC. Azida de sodiu (NaN₃) folosit ca conservant este toxic dacă este ingerat. Azida de sodiu poate reacționa cu plumbul și cuprul pentru a forma azide metalice extrem de explozive. La eliminare, clătiți cu cantități mari de apă pentru a preveni acumularea de azidă în instalații sanitare. (Centrul pentru Controlul Bolilor, 1976, Institutul Național de Securitate și Sănătate în Muncă, 1976)⁶
2. Specimenele, înainte și după fixare, și toate materialele expuse acestora trebuie manipulate ca și cum ar fi capabile să transmită infecția și eliminate cu măsurile de precauție corespunzătoare. Nu pipetați niciodată reactivii pe gură și evitați contactul pielii și mucoaselor cu reactivii și mostrele. Dacă reactivii sau mostrele vin în contact cu zone sensibile, spălați-vă cu cantități mari de apă.⁷
3. Contaminarea microbiană a reactivilor poate duce la o creștere a colorației nespecifice.
4. Timpii de incubare sau alte temperaturi decât cele specificate pot da rezultate eronate. Utilizatorul trebuie să valideze orice astfel de modificare.
5. Nu utilizați reactiv după data de expirare imprimată pe flacon.
6. Reactivul anticorp prediluat este diluat optim pentru utilizare. O diluare ulterioară poate duce la pierderea colorării cu antigen.
7. Diluția reactivului anticorp concentrat trebuie validată înainte de utilizare. Orice diluant utilizat care nu este recomandat în mod specific trebuie, de asemenea, validat pentru compatibilitate și stabilitate.
8. FDS este disponibilă la cerere și se află la <http://biocare.net>.

Instrucțiuni de folosire:

Protocoloale de colorare recomandate pentru HLA-B [BC43]:

IntelliPATH FLX și utilizare manuală:

API3289 pentru IntelliPATH FLX și utilizare manuală, a fost standardizat cu MACH 4 sistem de detectare. Utilizați TBS pentru etapele de spălare.

Peroxide Block:	Blocați timp de 5 minute cu Peroxidized 1.
Pretreatment:	Efectuați recuperarea căldurii folosind Reveal Decloaker. Consultați fișa de date Reveal Decloaker pentru instrucțiuni specifice.
Protein Block (Optional):	Incubați timp de 5-10 minute la RT cu Background Punisher.
Primary Antibody:	Se incubează timp de 30 de minute la RT.
Detection:	Sondă: Se incubează timp de 10 minute la temperatura camerei cu un polimer secundar.

	Polimer: Se incubează timp de 20 de minute la temperatura camerei cu un polimer terțiar.
Chromogen:	Incubați timp de 5 minute la RT cu DAB Biocare – SAU – Incubați timp de 5-7 minute la RT cu Warp Red.
Counterstain:	Contracolorarea cu hematoxilină. Clătiți cu apă deionizată. Aplicați soluția de albastru Tacha timp de 1 minut. Clătiți cu apă deionizată.

Sistem automat de colorare a lamelor ONCORE Pro:

OPAI3289 este destinat utilizării cu ONCORE Pro. Consultați manualul de utilizare pentru instrucțiuni specifice de utilizare. Parametrii protocolului din Editorul de protocol trebuie programați după cum urmează:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Șablonul Ms HRP 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, pH scăzut; 101°C
Block Option:	Tampon
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 min., 25°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3289 este destinat utilizării cu BenchMark ULTRA. Consultați manualul de utilizare pentru instrucțiuni specifice de utilizare. Parametrii de protocol recomandați sunt următorii:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minute
Peroxidase:	Inhibitor pre-primar de peroxidază
Primary Antibody:	8 minute, 36°C

Seria Q – Pentru Leica BOND-III:

ALI3289 este destinat utilizării cu Leica BOND-III. Consultați manualul de utilizare pentru instrucțiuni specifice de utilizare. Parametrii de protocol recomandați sunt următorii:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	Protocolul IHC F
Detection:	Rafinarea polimerului de legătură
HIER:	10 min cu ER1
Peroxide Block:	5 minute
Marker (Primary Antibody):	15 minute
Post Primary:	8 min
Polymer:	8 min
Mixed Chromogen Refine:	10 minute
Hematoxylin:	5 minute

Control de calitate:

Consultați Standardele de calitate CLSI pentru proiectarea și implementarea testelor imunohistochemice; Ghid aprobat-A doua ediție (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA SUA (www.clsi.org). 2011⁸

Control pozitiv al țesuturilor: amigdale

Materialele de control pozitiv extern trebuie să fie probe proaspete fixate, procesate și încorporate cât mai curând posibil, în același mod ca probele

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Romanian

BIOCARE
M E D I C A L

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

Țesuturile utilizate pentru materialele de control pozitiv extern trebuie selectate din mostre de pacient cu niveluri scăzute bine caracterizate ale activității țintei pozitive care dă colorare pozitivă slabă. Nivelul scăzut de pozitivitate pentru controalele pozitive externe este conceput pentru a asigura detectarea modificărilor subtile ale sensibilității anticorpilor primari din instabilitate sau probleme cu metodologia IHC. Lamelele de control al țesuturilor disponibile comercial sau mostrele procesate diferit de eșantioanele pacientului validează doar performanța reactivului și nu verifică pregătirea țesuturilor.

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

Controlul negativ al țesuturilor:

Utilizați un control de țesut negativ (cunoscut ca fiind HLA-B negativ) fixat, procesat și încorporat într-un mod identic cu eșantionul(e) pacientului cu fiecare colorare pentru a verifica specificitatea anticorpului primar IHC pentru demonstrarea antigenului țintă și pentru a oferi o indicație a colorării specifice de fond (colorare fals pozitivă). De asemenea, varietatea diferitelor tipuri de celule prezente în majoritatea secțiunilor de țesut poate să fie utilizate de către laborator ca locuri de control negativ intern pentru a verifica performanța IHC specifică. Tipurile și sursele de specimene care pot fi utilizate pentru țesutul negativ controalele sunt listate în secțiunea Caracteristici de performanță.

Dacă apare o colorare specifică (colorare fals pozitivă) în controlul negativ al țesutului, rezultatele cu mostrele pacientului trebuie considerate nevalide.

Control reactiv negativ nespecific:

Utilizați un control reactiv negativ nespecific în locul anticorpului primar cu o secțiune din fiecare specimen de pacient pentru a evalua colorarea nespecifică și permit o mai bună interpretare a colorării specifice la locul antigenului. În mod ideal, un control reactiv negativ conține un anticorp HLA-B [BC43] IgG1 Kappa produs din supernatantul culturii de țesuturi în același mod ca anticorpul primar, dar nu prezintă reactivitate specifică cu țesuturile umane în aceeași matrice/soluție ca și soluția. Anticorp Biocare. Se diluează un anticorp de control negativ la aceeași concentrație de imunoglobulină sau proteină ca și primarul diluat anticorp folosind diluant identic. Dacă serul fetal de vițel este reținut în anticorpul curat după procesare, serul fetal de vițel la o concentrație de proteine echivalentă cu cea diluată. anticorpul primar din același diluant este de asemenea adecvat pentru utilizare. (Consultați reactivul furnizat). Numai diluantul poate fi utilizat ca o alternativă mai puțin dorită față de controalele negative descrise anterior. Perioada de incubare pentru controlul reactiv negativ trebuie să corespundă cu cea a anticorpului primar.

Când sunt utilizate panouri de mai mulți anticorpi pe secțiuni în serie, zonele cu colorare negativă ale unei lame pot servi ca un control de fond negativ/nespecific de legare pentru alți anticorpi. Pentru a diferenția activitatea enzimatică endogenă sau legarea nespecifică a enzimelor de imunoreactivitatea specifică, țesuturile suplimentare ale pacientului pot fi colorate exclusiv cu substrat-cromogen sau complexe enzimatice (PAP, avidină-biotină, streptavidină) și respectiv substrat-cromogen.

Verificarea testului:

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

Depanare:

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

Interpretarea colorării:

Control pozitiv al țesuturilor:

Controlul pozitiv al țesutului colorat cu anticorpul indicat trebuie examinat mai întâi pentru a se asigura că toți reactivii funcționează corect. Colorarea adecvată a celulelor țintă (așa cum s-a indicat mai sus) indică reactivitate pozitivă. Dacă controalele pozitive ale țesuturilor nu reușesc să demonstreze o colorare pozitivă, orice rezultat cu probele de testat trebuie considerat nevalid. Culoarea produsului de reacție poate varia în funcție de cromogenii substratului utilizați. Consultați prospectele de ambalaj pentru substrat pentru reacțiile de culoare așteptate. Mai mult, metacromazia poate fi observată în variațiile metodei de colorare.¹¹

Când se folosește o contracolorare, în funcție de durata de incubare și de potența contracolorului utilizat, contracolorarea va avea ca rezultat o colorare a nucleilor celulari. Contracolorarea excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea corectă a rezultatelor. Consultați protocoalele pentru contracolorarea recomandată.

Controlul negativ al țesuturilor:

Controlul negativ al țesuturilor trebuie examinat după controlul pozitiv al țesutului pentru a verifica specificitatea etichetării antigenului țintă de către anticorpul primar. Absența colorației specifice în controlul negativ al țesutului confirmă lipsa reactivității încrucișate a anticorpilor la celule/componentele celulare. Dacă apare o colorare specifică (colorare fals pozitivă) în controlul extern negativ al țesutului, rezultatele cu specimenul pacientului trebuie considerate nevalide.

Colorația nespecifică, dacă este prezentă, are de obicei un aspect difuz. Colorarea sporadică a țesutului conjunctiv poate fi observată și în secțiuni din țesuturi fixate în exces de formol. Utilizați celule intacte pentru interpretarea rezultatelor colorării. Celulele necrotice sau degenerate se colorează adesea nespecific.

Țesutul pacientului:

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

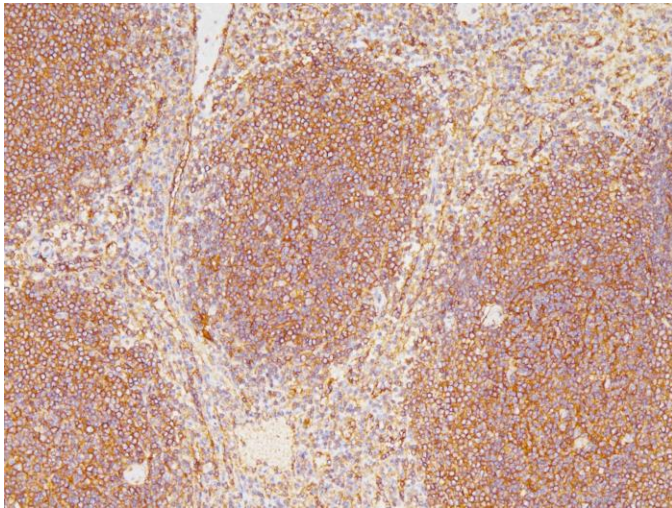
HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody

901-3289-090623

Romanian

BIOCARE
M E D I C A L



Splina colorată cu anticorp HLA-B [BC43].

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

Limitări:

Limitări generale:

1. Pentru *in vitro* Utilizare de diagnostic
2. Acest produs este doar pentru uz profesional: Imunohistochimia este un proces de diagnosticare în mai multe etape care constă în pregătire specializată în selectarea reactivilor corespunzători; selecția, fixarea și prelucrarea țesuturilor; prepararea lamei IHC; și interpretarea rezultatelor colorării.
3. Colorarea țesuturilor depinde de manipularea și prelucrarea țesutului înainte de colorare. Fixarea necorespunzătoare, înghețarea, dezghețarea, spălarea, uscarea, încălzirea, secționarea sau contaminarea cu alte țesuturi sau fluide pot produce artefacte, captarea anticorpilor sau rezultate fals negative. Rezultatele inconsecvente se pot datora variațiilor în metodele de fixare și încorporare sau neregularităților inerente în țesut.¹²
4. Contracolorarea excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea corectă a rezultatelor.
5. Interpretarea clinică a oricărei colorații pozitive sau negative trebuie evaluată în contextul prezentării clinice, al morfologiei și al altor criterii histopatologice. Interpretarea clinică a oricărei colorări pozitive sau negative ar trebui să fie completată de studii morfologice care utilizează controale interne și externe pozitive și negative adecvate, precum și alte teste de diagnosticare. Este responsabilitatea unui patolog calificat care este familiarizat cu utilizarea corectă a anticorpilor, reactivilor și metodelor IHC să interpreteze toți pașii utilizați pentru pregătirea și interpretarea preparatului final IHC.
6. Diluția optimă a anticorpilor și protocoalele pentru o anumită aplicație pot varia. Acestea includ, dar nu se limitează la fixarea, metoda de recuperare a căldurii, timpii de incubare, grosimea secțiunii de țesut și trusa de detectare utilizată. Datorită sensibilității superioare a acestor reactivi unici, timpii și titrurile de incubare recomandate enumerate nu sunt aplicabile altor sisteme de detectare, deoarece rezultatele pot varia. Recomandările și protocoalele din fișa de date se bazează pe utilizarea exclusivă a produselor Biocare. În cele din urmă, este responsabilitatea investigatorului să determine condițiile optime.
7. Acest produs nu este destinat utilizării în citometria în flux. Caracteristicile de performanță nu au fost determinate pentru citometria în flux.

8. Țesuturile de la persoane infectate cu virusul hepatitei B și care conțin antigenul de suprafață al hepatitei B (HBsAg) pot prezenta colorare nespecifică cu peroxidază de hrean.¹³
9. Reactivii pot demonstra reacții neașteptate în țesuturile netestate anterior. Posibilitatea unor reacții neașteptate chiar și în grupurile de țesuturi testate nu poate fi eliminată complet din cauza variabilității biologice a exprimării antigenului în neoplasme sau în alte țesuturi patologice.¹⁴ Contactați asistența tehnică Biocare la 1-800-542-2002 sau prin intermediul informațiilor de asistență tehnică furnizate pe biocare.net, cu reacții neașteptate documentate.
10. Serurile normale/neimune din aceeași sursă animală ca și antiserurile secundare utilizate în etapele de blocare pot provoca rezultate fals negative sau fals pozitive din cauza autoanticorpilor sau a anticorpilor naturali.
11. Rezultate fals pozitive pot fi observate din cauza legării neimunologice a proteinelor sau a produselor de reacție substrat. Ele pot fi, de asemenea, cauzate de activitatea pseudo-peroxidazei (eritrocite), activitatea peroxidazei endogene (citocromul C) sau biotina endogenă (de exemplu, ficat, sân, creier, rinichi), în funcție de tipul de imunocolor utilizat.¹²

Limitări specifice produsului:

Nu sunt cunoscute limitări suplimentare.

Caracteristici de performanță:

Sensibilitatea, specificitatea și reactivitatea încrucișată sunt rezumate în Tabelele 1 și, respectiv, 2.

Reproductibilitate:

Reproductibilitatea performanței anticorpilor a fost verificată prin testarea țesutului normal și tumoral selectat în diferite zile și diferite instrumente cu operatori multipli. Colorarea țesuturilor selectate a fost consecventă și a fost efectuată conform așteptărilor.

Reproductibilitatea colorării intra-run a fost determinată prin colorarea a cinci țesuturi care conțineau același țesut pe mai multe instrumente.

Reproductibilitatea colorării între curse a fost determinată prin colorarea a cinci lame conținând același țesut timp de trei zile/execuții pe același instrument. Toate testele au trecut cu aceleași scoruri, așa cum sunt definite de ghidurile interne de punctare ale Biocare.

Imunoreactivitate:

Următoarele imunoreactivități pozitive și negative au fost demonstrate în tabelele 1 și 2 de mai jos.

Lista furnizată mai jos nu este exhaustivă, dar caracterizează tipurile de imunoreactivități observate cu anticorpul indicat.

Rezumatul rezultatelor așteptate:

S-a constatat că acest anticorp este imunoreactiv cu toate tipurile de țesuturi pe care a fost testat, inclusiv cu toate tipurile de limfoame și țesut uman normal. Colorația este predominant membranoasă, dar poate apărea și citoplasmatică atunci când se află în probe cu expresie ridicată. Colorația este prezentă predominant în celulele endoteliale și limfocite cu prevalență mai mică în celulele epiteliale din unele țesuturi.

Tabelul 1: Sensibilitatea și specificitatea au fost determinate prin testarea țesuturilor bolnave fixate în formol, încorporate în parafină.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Romanian

BIOCARE
M E D I C A L

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Masa 2: Reactivitatea încrucișată a țesutului a fost determinată prin testarea țesuturilor normale fixate în formol, încorporate în parafină.

Țesut	Cazuri pozitive	Total de cazuri
Creierul	5	6
Cerebel	3	3
suprarenale	3	3
Ovar	2	3
Pancreas	3	3
Ganglionilor limfatici	3	3
Trahee	3	3
Testicul	5	5
Glanda tiroida	3	3
Sânul	2	2
Splină	4	4
amigdale	3	3
Timusul	3	3
Măduvă osoasă	3	3
Plămân	3	3
inima	3	3
Esofag	3	3
Stomac	2	3
Intestinul subtire	3	3
Colon	3	3
Ficat	3	3
Glanda salivara	3	3
Rinichi	3	3
Prostata	3	3
Uter	3	3
Colul uterin	3	3
Mușchi scheletic	2	3
Piele	2	2
Nervul periferic	3	3
Căptușirea celulelor	2	2
Ochi	3	3
Laringe	3	3

Depanare:

1. Nicio colorare a niciunei lame – Verificați pentru a determina dacă au fost utilizate țesuturi de control pozitiv adecvate, anticorpi și produse de detectare.
2. Colorare slabă a tuturor lamelor – Verificați pentru a determina dacă au fost utilizate țesuturi de control pozitiv adecvate, anticorpi și produse de detectare.
3. Fundal excesiv al tuturor diapozitivelor – Pot exista niveluri ridicate de biotină endogenă (dacă se utilizează produse de detecție pe bază de biotină), activitate HRP endogenă de conversie a cromogenului în produs final colorat (utilizați bloc de peroxidază) sau interacțiune proteică nespecifică în exces (utilizați o proteină) bloc, cum ar fi soluția de blocare pe bază de ser sau caseină).
4. Secțiunile de țesut spăla lamelele în timpul incubăției – Verificați lamele pentru a vă asigura că sunt încărcate pozitiv.
5. Colorare specifică prea întunecată – Verificați protocolul pentru a determina dacă pe lame a fost aplicat titrul adecvat de anticorpi, precum și timpii de incubare corespunzători pentru toți reactivii. În plus, asigurați-vă că protocolul are suficienți pași de spălare pentru a elimina excesul de reactivi după finalizarea etapelor de incubare.

Referinte:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. Curr Opin Immunol. 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. J Immunol. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Anticorpii Ultraline sunt dezvoltati exclusiv de Biocare Medical LLC și nu implică aprobarea sau aprobarea anticorpilor Biocare de către Ventana Medical Systems, Inc sau Roche. Biocare, Ventana și Roche nu sunt afiliate, asociate sau legate în niciun fel. Ventana®, BenchMark®, ultraView și OptiView sunt mărci comerciale ale Roche.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

121/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Romanian

BIOCARE
M E D I C A L

Anticorpul din seria Q sunt dezvoltat exclusiv de Biocare Medical LLC și nu implică aprobarea sau aprobarea anticorpilor Biocare de către Leica Biosystems. Biocare și Leica Biosystems nu sunt afiliate, asociate sau legate în niciun fel. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX și BOND-III sunt mărci comerciale ale Leica Biosystems.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Slovak

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Zamýšľané použitie:

Pre *in vitro* Diagnostické použitie

HLA-B [BC43] je myšacia monoklonálna protilátka, ktorá je určená na laboratórne použitie po stanovení počiatkovej diagnózy nádoru konvenčnou histopatológiou pomocou neimunologických histochemických farbív, pri kvalitatívnej identifikácii HLA-B proteín imunohistochemiou (IHC) vo formalíne fixovaných v parafíne zaliatých (FFPE) ľudských tkanivách. Klinická interpretácia akéhokoľvek zafarbenia alebo jeho neprítomnosti by mala byť doplnená morfológickými štúdiami s použitím vhodných kontrol a mala by byť vyhodnotená v kontexte pacientovej klinickej anamnézy a iných diagnostických testov kvalifikovaným patológom ako pomôcka pri vykonávaní akýchkoľvek iných klinických stanovení.

Zhrnutie a vysvetlenie:

HLA-B je vysoko polymorfný proteín kódujúci gén pre hlavný komplex histokompatibility I. triedy (MHC-I).¹⁵ Molekuly MHC triedy I sú exprimované na bunkovom povrchu, viažu sa a prezentujú antigénne peptidy CD8+ T lymfocytom, aby sprostredkovali imunitné reakcie proti intracelulárnym patogénom a rakovinám.¹⁶

Princíp postupu:

Tento protilátkový produkt sa môže použiť ako primárna protilátka pri imunohistochemickom testovaní vo formalíne fixovaných, v parafíne zaliatých tkanivových rezov. Vo všeobecnosti imunohistochemické (IHC) techniky farbenia umožňujú vizualizáciu antigénov prostredníctvom sekvenčnej aplikácie a špecifická protilátka k antigénu (primárna protilátka), sekundárna protilátka k primárnej protilátke (voliteľná väzba protilátka/sonda), enzýmový komplex a chromogénny substrát s vloženými krokmi premývania. Enzymatická aktivácia chromogénu vedie k viditeľnému reakčnému produktu v mieste antigénu. Vzorka sa potom môže kontrastne zafarbiť a kryt sa nasunie. Výsledky sa interpretujú pomocou svetla mikroskopu a pomôcky pri diferenciálnej diagnostike patofyziologických procesov, ktoré môžu resp nemusia byť spojené s konkrétnym antigénom.

Materiály a metódy:

Dodávané činidlá:

Zdroj hostiteľa: Myš monoklonálna

Reaktivita druhov: človek; iné druhy netestované.

Klonovať: BC43

Izotyp: IgG1 kappa

Koncentrácia bielkovín: Koncentráciu špecifickú pre šaržu nájdete na štítku injekčnej liekovky.

Špecifická koncentrácia IgG: Kontaktujte technickú podporu spoločnosti Biocare

Špecifickosť: HLA-B

Bunková lokalizácia: Bunková membrána

metóda: Afinitne purifikovaný myší monoklonálny

Rekonštitúcia, miešanie, riedenie, titrácia:

Predriedené protilátkové činidlo je optimálne nariadené na použitie s vyššie uvedenými farbivami systémami. Ďalšie riedenie môže viesť k strate

zafarbenia antigénu. Ďalšie riedenie môže viesť k strate zafarbenia antigénu. Používateľ musí každú takúto zmenu potvrdiť. Rozdiely v spracovaní tkaniva a technických postupoch v laboratóriu používateľa môže spôsobiť značnú variabilitu výsledkov, čo si vyžaduje pravidelné vykonávanie interných kontrol (pozri časť Kontrola kvality).

Koncentrované činidlo vyžaduje riedenie, ako je uvedené v tabuľke vyššie.

Známe aplikácie:

Imunohistochemia (tkanivá fixované v parafíne fixované vo formalíne)

Dodávané ako: Pufrovaný fyziologický roztok, 5,9 – 7,4, obsahujúci proteínový nosič a menej ako 0,1 % konzervačnej látky azidu sodného. Ďalšie podrobnosti nájdete v karte bezpečnostných údajov.

Potrebné materiály a činidlá, ktoré nie sú súčasťou dodávky:

Mikroskopické sklíčka sú kladne nabité.

Pozitívne a negatívne kontroly tkaniva

Púštna komora (alebo podobná sušiareň)

Xylén alebo náhrada xylénu

Etanol alebo reagenčný alkohol

Odmasťovacia komora (tlakový hrniec)

Deionizovaná alebo destilovaná voda

Premývací pufo

Činidlá na predúpravu

Peroxidázový blok

Proteínový blok (voliteľné)

Detekčná sonda a polymér

Negatívne kontrolné činidlá

Chromogény

Hematoxylin (kontrafarba)

Blueingovo činidlo

Montážne médium

Krycie sklo

Svetelný mikroskop (40-400x zväčšenie)

*Konfigurácie protilátkového produktu sú dostupné na použitie s nástrojmi uvedenými v tabuľke vyššie.

Skladovanie a stabilita:

Skladujte pri teplote 2°C až 8°C. Produkt je stabilný do dátumu expirácie vytlačeného na štítku injekčnej liekovky, ak sa uchováva za týchto podmienok. Nepoužívajte po dátume expirácie. Skladovanie za akýchkoľvek iných podmienok, ako sú uvedené, musí byť overené. Zriedené činidlá by sa mali použiť okamžite; akékoľvek zostávajúce činidlo skladujte pri teplote 2°C až 8°C. Stabilita užívateľom zriedeného činidla nebola stanovená spoločnosťou Biocare.

Pozitívne a negatívne kontroly by sa mali vykonávať súčasne so všetkými vzorkami pacienta. Ak spozorujete neočakávané zafarbenie, ktoré nemožno vysvetliť odchýlkami v laboratórných postupoch a máte podozrenie na problém s protilátkou, kontaktujte technickú podporu spoločnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002 alebo prostredníctvom informácií o technickej podpore poskytovaných na biocare.net.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

123/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Slovak

BIOCARE
M E D I C A L

Príprava vzorky:

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

Správne fixované a zaliate tkanivá exprimujúce špecifikovaný cieľový antigén by sa mali skladovať na chladnom mieste. Zákon o zlepšovaní klinických laboratórií (CLIA) z roku 1988 vyžaduje v 42 CFR§493.1259(b), že „Laboratórium musí uchovávať zafarbené sklíčka najmenej desať rokov od dátumu vyšetrenia a uchovávať bloky vzoriek najmenej dva roky od dátumu vyšetrenia.“³

Ošetrenie tkanív pred farbením:

Vykonajte teplom indukované vyhľadávanie epitopu (HIER) podľa odporúčaného protokolu uvedeného nižšie. Ukázalo sa, že rutinné používanie HIER pred IHC minimalizuje nekonzistentnosť a štandardizuje farbenie.^{4,5}

Varovanie a bezpečnostné opatrenia:

1. Táto protilátka obsahuje menej ako 0,1 % azidu sodného. Koncentrácie nižšie ako 0,1 % nie sú nebezpečné materiály, ktoré sa hlásia podľa U.S. Azid sodný (NaN₃) používaný ako konzervačná látka je pri požití toxický. Azid sodný môže reagovať s olovom a medeným potrubím za vzniku vysoko výbušných azidov kovov. Po likvidácii opláchnite veľkým množstvom vody, aby ste zabránili hromadeniu azidov vo vodovodnom potrubí. (Centrum pre kontrolu chorôb, 1976, Národný inštitút bezpečnosti a ochrany zdravia pri práci, 1976)⁶
2. So vzorkami pred a po fixácii a so všetkými materiálmi, ktoré sú im vystavené, by sa malo zaobchádzať tak, ako keby boli schopné prenášať infekciu, a mali by sa likvidovať podľa náležitých opatrení. Nikdy nepipetujte reagentie ústami a vyhýbajte sa kontaktu kože a slizníc s činidlami a vzorkami. Ak sa reagentie alebo vzorky dostanú do kontaktu s citlivými oblasťami, umyte ich veľkým množstvom vody.⁷
3. Mikrobiálna kontaminácia činidiel môže viesť k zvýšeniu nešpecifického zafarbenia.
4. Inkubačné časy alebo teploty iné, ako sú uvedené, môžu viesť k chybným výsledkom. Používateľ musí každú takúto zmenu potvrdiť.
5. Nepoužívajte činidlo po dátume expirácie vytlačenom na injekčnej liekovke.
6. Predriedené protilátkové činidlo je optimálne nariadené na použitie. Ďalšie riedenie môže viesť k strate zafarbenia antigénu.
7. Zriedenie koncentrovaného protilátkového činidla musí byť pred použitím validované. Akékoľvek použité riedidlo, ktoré sa špecificky neodporúča, musí byť tiež overené z hľadiska kompatibility a stability.
8. KBÚ je k dispozícii na požiadanie a nachádza sa na <http://biocare.net>.

Inštrukcie na používanie:

Odporúčané protokoly farbenia pre HLA-B [BC43]:

IntelliPATH FLX a manuálne použitie:

API3289 pre IntelliPATH FLX a manuálne použitie, bol štandardizovaný s MACH 4 detekčný systém. Na premývanie použite TBS.	
Peroxide Block:	Blokujte 5 minút peroxidom 1.
Pretreatment:	Vykonajte obnovenie tepla pomocou Reveal Decloaker. Konkrétne pokyny nájdete v údajovom liste zariadenia Reveal Decloaker.
Protein Block (Optional):	Inkubujte 5-10 minút pri teplote miestnosti pomocou zariadenia Background Punisher.
Primary Antibody:	Inkubujte 30 minút pri teplote miestnosti.
Detection:	Sonda: Inkubujte 10 minút pri teplote miestnosti so sekundárnym polymérom.

	Polymér: Inkubujte 20 minút pri teplote miestnosti s terciárnym polymérom.
Chromogen:	Inkubujte 5 minút pri RT s Biocare DAB – OR – Inkubujte 5-7 minút pri RT s Warp Red.
Counterstain:	Kontrafarba s hematoxylinom. Opláchnite deionizovanou vodou. Aplikujte Tacha's Blueing Solution na 1 minútu. Opláchnite deionizovanou vodou.

Automatizovaný systém farbenia sklíčok ONCORE Pro:

OPAI3289 je určený na použitie s ONCORE Pro. Konkrétne pokyny na použitie nájdete v používateľskej príručke. Parametre protokolu v editore protokolov by sa mali naprogramovať nasledovne:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Šablóna pani HRP 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, nízke pH; 101 °C
Block Option:	Buffer
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 min., 25 °C

BenchMark Ventana ULTRA:

AVI3289 je určený na použitie s BenchMark ULTRA. Konkrétne pokyny na použitie nájdete v používateľskej príručke. Odporúčané parametre protokolu sú nasledovné:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minút
Peroxidase:	Preprimárny inhibitor peroxidázy
Primary Antibody:	8 minút, 36 °C

Séria O – Pre Leica BOND-III:

ALI3289 je určený na použitie s Leica BOND-III. Konkrétne pokyny na použitie nájdete v používateľskej príručke. Odporúčané parametre protokolu sú nasledovné:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	Protokol IHC F
Detection:	Bond Polymer Refine
HIER:	10 minút s ER1
Peroxide Block:	5 min
Marker (Primary Antibody):	15 min
Post Primary:	8 min
Polymer:	8 min
Mixed Chromogen Refine:	10 min
Hematoxylin:	5 min

Kontrola kvality:

Pozrite si štandardy kvality CLSI pre návrh a implementáciu imunohistochemických testov; Schválená smernica – druhé vydanie (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁸

Positívna kontrola tkaniva: Tonsil

Materiály pre externú pozitívnu kontrolu by mali byť čerstvé vzorky fixované, spracované a vložené čo najskôr rovnakým spôsobom ako vzorka (vzorky) pacienta. Pozitívne kontroly tkaniva naznačujú správne pripravené tkanivá a

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Slovak

BIOCARE
M E D I C A L

správne techniky farbenia. Do každého cyklu farbenia by mala byť zahrnutá jedna pozitívna externá tkanivová kontrola pre každý súbor testovacích podmienok.

Tkanivá použité pre externé materiály pre pozitívnu kontrolu by sa mali vyberať zo vzoriek pacientov s dobre charakterizovanými nízkymi hladinami pozitívnej cieľovej aktivity, ktorá poskytuje slabé pozitívne zafarbenie. Nízka úroveň pozitívity pre externé pozitívne kontroly je navrhnutá tak, aby zabezpečila detekciu jemných zmien citlivosti primárnej protilátky z nestability alebo problémov s metodikou IHC. Komerčne dostupné tkanivové kontrolné sklíčka alebo vzorky spracované inak ako vzorka (vzorky) pacienta iba overujú účinnosť činidla a neoverujú prípravu tkaniva.

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

Negatívna kontrola tkaniva:

Použite negatívnu tkanivovú kontrolu (známe, že je HLA-B negatívna), fixovanú, spracovanú a zapustenú spôsobom identickým so vzorkou (vzorkami) pacienta pri každom cykle farbenia, aby ste overili špecifickosť primárnej protilátky IHC pre preukázanie cieľového antigénu a poskytnutie indikácie špecifického zafarbenia pozadia (falošne pozitívne farbenie). Môže to byť aj množstvo rôznych typov buniek prítomných vo väčšine tkanivových rezov byť použité laboratóriom ako interné negatívne kontrolné miesta na overenie výkonu IHC technické údaje. Typy a zdroje vzoriek, ktoré možno použiť na negatívne tkanivo ovládacie prvky sú uvedené v časti Výkonnosť charakteristiky.

Ak sa v negatívnej kontrole tkaniva vyskytne špecifické zafarbenie (falošne pozitívne zafarbenie), výsledky so vzorkami pacienta by sa mali považovať za neplatné.

Nešpecifická negatívna kontrola reagenčii:

Použite nešpecifickú negatívnu kontrolu činidla namiesto primárnej protilátky s rezom každej vzorky pacienta na vyhodnotenie nešpecifického zafarbenia a umožňujú lepšiu interpretáciu špecifického zafarbenia v mieste antigénu. V ideálnom prípade obsahuje negatívna reagenčná kontrola protilátku HLA-B [BC43] IgG1 Kappa produkovanú zo supernatantu tkanivovej kultúry rovnakým spôsobom ako primárna protilátka, ale nevykazuje žiadnu špecifickú reaktivitu s ľudskými tkanivami v rovnakej matrici/roztoku ako Biocare protilátka. Nariedte negatívnu kontrolnú protilátku na rovnakú koncentráciu imunoglobulínu alebo proteínu ako zriedená primárna protilátka protilátka s použitím rovnakého riedidla. Ak sa fetálne tel'acie sérum po spracovaní zachová v čistej protilátke, fetálne tel'acie sérum s koncentráciou proteínu ekvivalentnou zriedenému primárna protilátka v rovnakom riedidle je tiež vhodná na použitie. (Pozrite si dodané činidlo). Samotné riedidlo sa môže použiť ako menej žiaduca alternatíva k predtým opísaným negatívnym kontrolným činidlám. Inkubačná doba pre negatívnu reagenčnú kontrolu by mala zodpovedať dobe primárnej protilátky.

Keď sa na sériových rezoch použijú panely niekoľkých protilátok, negatívne zafarbené oblasti jedného sklíčka môžu slúžiť ako negatívna/nešpecifická väzbová kontrola pozadia pre iné protilátky. Na odlišenie endogénnej enzýmovej aktivity alebo nešpecifickej väzby enzýmov od špecifickej imunoreaktivity môžu byť ďalšie tkanivá pacienta zafarbené výlučne substrát-chromogén alebo enzýmovými komplexmi (PAP, avidín-biotín, streptavidín) a substrát-chromogén.

Overenie testu:

Pred prvým použitím protilátky alebo farbiaceho systému v diagnostickom postupe by si mal používateľ overiť špecifickosť protilátky testovaním na sérii vlastných tkanív so známymi imunohistochemickými charakteristikami, ktoré predstavujú známe pozitívne a negatívne tkanivá. Pozrite si postupy kontroly kvality predtým uvedené v tejto časti príbalového letáku k produktu a odporúčania kontroly kvality certifikačného programu CAP[®] pre imunohistochémiu a/alebo usmernenie NCCLS IHC[®]. Tieto postupy kontroly kvality by sa mali opakovať pre každú novú šaržu protilátok alebo vždy, keď dôjde k zmene parametrov testu. Na overenie testu sú vhodné tkanivá uvedené v časti Výkonnosť charakteristiky.

Riešenie problémov:

Postupujte podľa odporúčaní protokolu špecifického pre protilátku podľa priloženého údajového listu. Ak sa vyskytnú atypické výsledky, kontaktujte technickú podporu spoločnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002.

Interpretácia farbenia:

Pozitívna kontrola tkaniva:

Pozitívna tkanivová kontrola zafarbená indikovanou protilátkou by sa mala najskôr vyšetriť, aby sa zistilo, že všetky činidlá fungujú správne. Príslušné farbenie cieľových buniek (ako je uvedené vyššie) svedčí o pozitívnej reaktivite. Ak pozitívne kontroly tkaniva nepreukážu pozitívne zafarbenie, akékoľvek výsledky s testovanými vzorkami by sa mali považovať za neplatné. Farba reakčného produktu sa môže meniť v závislosti od použitých substrátových chromogénov. Očakávané farebné reakcie nájdete v príbalových letákoch substrátu. Ďalej je možné pozorovať metachromáziu vo variantoch spôsobu farbenia.¹¹

Keď sa použije kontrastné farbenie, v závislosti od dĺžky inkubácie a účinnosti použitého kontrastného farbenia, kontrastné farbenie povedie k zafarbeniu bunkových jadier. Nadmerné alebo neúplné kontrastné farbenie môže ohroziť správnu interpretáciu výsledkov. Odporúčané kontrastné farbenie nájdete v protokole(och).

Negatívna kontrola tkaniva:

Negatívna tkanivová kontrola by sa mala vyšetriť po pozitívnej kontrole tkaniva, aby sa overila špecifickosť označenia cieľového antigénu primárnou protilátkou. Neprítomnosť špecifického zafarbenia v negatívnej kontrole tkaniva potvrdzuje nedostatok krížovej reaktivity protilátky s bunkami/bunkovými zložkami. Ak sa v negatívnej vonkajšej kontrole tkaniva vyskytne špecifické zafarbenie (falošne pozitívne zafarbenie), výsledky so vzorkou pacienta by sa mali považovať za neplatné.

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

Tkanivo pacienta:

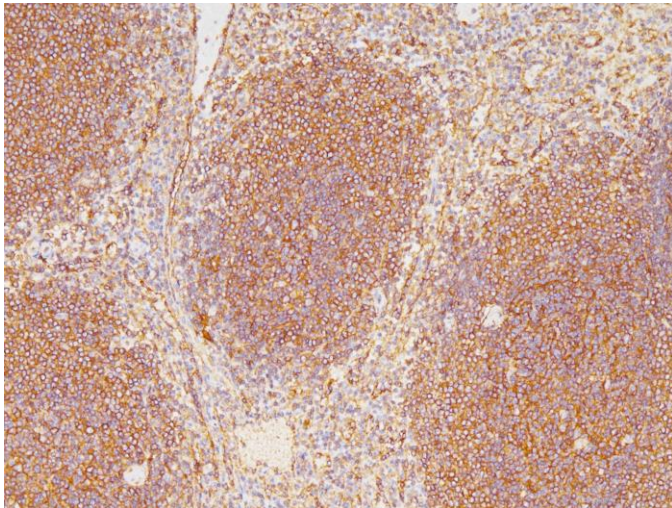
Preskúmajte vzorky pacientov zafarbené indikovanou protilátkou posledný. Intenzita pozitívneho zafarbenia by sa mala posúdiť v kontexte akéhokoľvek nešpecifického zafarbenia pozadia negatívnej kontroly s činidlom. Ako pri akomkoľvek imunohistochemickom teste, negatívny výsledok znamená, že antigén nebol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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Slovak

BIOCARE
M E D I C A L



Slezina zafarbená protilátkou HLA-B [BC43]

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

Obmedzenia:

Všeobecné obmedzenia:

1. *Pre in vitro* diagnostické použitie
2. Tento produkt je určený len na profesionálne použitie: Imunohistochemia je viackrokový diagnostický proces, ktorý pozostáva zo špecializovaného školenia vo výbere vhodných činidiel; výber tkaniva, fixácia a spracovanie; príprava podložného sklíčka IHC; a interpretácia výsledkov farbenia.
3. Farbenie tkaniva závisí od manipulácie a spracovania tkaniva pred farbením. Nesprávna fixácia, zmrazovanie, rozmrazovanie, umývanie, sušenie, zahrievanie, rezanie alebo kontaminácia inými tkanivami alebo tekutinami môže spôsobiť artefakty, zachytávanie protilátok alebo falošne negatívne výsledky. Nekonzistentné výsledky môžu byť spôsobené odchýlkami v metódach fixácie a zapustenia alebo prirodzenými nepravidlosťami v tkanive.¹²
4. Nadmerné alebo neúplné kontrastné farbenie môže ohroziť správnu interpretáciu výsledkov.
5. Klinická interpretácia akéhokoľvek pozitívneho alebo negatívneho zafarbenia by sa mala hodnotiť v kontexte klinického obrazu, morfológie a iných histopatologických kritérií. Klinická interpretácia akéhokoľvek pozitívneho alebo negatívneho zafarbenia by mala byť doplnená morfológickými štúdiami s použitím správnych pozitívnych a negatívnych vnútorných a vonkajších kontrol, ako aj iných diagnostických testov. Je zodpovednosťou kvalifikovaného patológa, ktorý je oboznámený so správnym používaním IHC protilátok, činidiel a metód, interpretovať všetky kroky použité na prípravu a interpretáciu konečného IHC preparátu.
6. Optimálne riedenie protilátky a protokoly pre špecifickú aplikáciu sa môžu líšiť. Tieto zahŕňajú, ale nie sú obmedzené na fixáciu, metódu získavania tepla, inkubačné časy, hrúbku tkanivového rezu a použitú detekčnú súpravu. Z dôvodu vyššej citlivosti týchto jedinečných činidiel nie je možné odporúčať inkubačné časy a uvedené titre aplikovať na iné detekčné systémy, pretože výsledky sa môžu líšiť. Odporúčania a protokoly údajových listov sú založené na výhradnom používaní produktov Biocare. V konečnom dôsledku je zodpovednosťou vyšetrovateľa určiť optimálne podmienky.

7. Tento produkt nie je určený na použitie v prietokovej cytometrii. Výkonnostné charakteristiky neboli stanovené pre prietokovú cytometriu.
8. Tkanivá od osôb infikovaných vírusom hepatitídy B a obsahujúce povrchový antigén hepatitídy B (HBsAg) môžu vykazovať nešpecifické zafarbenie chrenovou peroxidázou.¹³
9. Reagencie môžu vykazovať neočakávané reakcie v predtým netestovaných tkanivách. Možnosť neočakávaných reakcií ani v testovaných skupinách tkanív nie je možné úplne eliminovať z dôvodu biologickej variability expresie antigénu v novotvaroch alebo iných patologických tkanivách.¹⁴ Kontaktujte technickú podporu spoločnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002 alebo prostredníctvom informácií technickej podpory poskytnutých na biocare.net so zdokumentovanými neočakávanými reakciami.
10. Normálne/neimunitné séra z rovnakého zvieracieho zdroja ako sekundárne antiséra použité v blokovacích krokoch môžu spôsobiť falošne negatívne alebo falošne pozitívne výsledky v dôsledku autoprotilátok alebo prirodzených protilátok.
11. Falošne pozitívne výsledky môžu byť pozorované v dôsledku neimunologickej väzby proteínov alebo produktov reakcie substrátu. Môžu byť spôsobené aj pseudoperoxidázovou aktivitou (erythrocyty), endogénnou peroxidázovou aktivitou (cytochróm C) alebo endogénnym biotínom (napr. pečeň, prsia, mozog, obličky) v závislosti od typu použitého imunofarbiva.¹²

Špecifické obmedzenia produktu:

Nie sú známe žiadne ďalšie obmedzenia.

Výkonnostné charakteristiky:

Senzitivita, špecifickosť a krížová reaktivita sú zhrnuté v tabuľkách 1 a 2, v tomto poradí.

Reprodukovateľnosť:

Reprodukovateľnosť účinnosti protilátok bola overená testovaním vybraného normálneho a nádorového tkaniva v rôznych dňoch a rôznych prístrojoch s viacerými operátormi. Farbenie vybraných tkanív bolo konzistentné a uskutočnilo sa podľa očakávania.

Reprodukovateľnosť farbenia v rámci cyklu bola stanovená farbením piatich tkanív obsahujúcich rovnaké tkanivo na viacerých prístrojoch.

Reprodukovateľnosť farbenia medzi sériami bola stanovená farbením piatich sklíčok obsahujúcich rovnaké tkanivo počas troch dní/cyklov na rovnakom prístroji. Všetky testy prešli s rovnakými skóre, ako je definované v interných bodových pokynoch spoločnosti Biocare.

Imunoreaktivita:

Nasledujúce pozitívne a negatívne imunoreaktivity boli demonštrované v tabuľkách 1 a 2 nižšie.

Nižšie uvedený zoznam nie je vyčerpávajúci, ale charakterizuje typy imunoreaktivít pozorovaných pri uvedenej protilátke.

Zhrnutie očakávaných výsledkov:

Zistilo sa, že táto protilátka je imunoreaktívna so všetkými typmi tkanív, na ktorých bola testovaná, vrátane všetkých typov lymfómov a normálneho ľudského tkaniva. Farbenie je prevažne membránové, ale vo vzorkách s vysokou expresiou sa môže javiť aj ako cytoplazmatické. Farbenie je prítomné prevažne v endotelových bunkách a lymfocytoch s nižšou prevenciou v epitelálnych bunkách v niektorých tkanivách.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Slovak

BIOCARE
M E D I C A L

Stôl 1: Citlivosť a špecificita sa stanovili testovaním chorých tkanív fixovaných vo formalíne a zaliatých v parafíne.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Tabuľka 2: Krížová reaktivita tkaniva bola stanovená testovaním normálnych tkanív fixovaných vo formalíne a zaliatých v parafíne.

Tkanivo	Pozitívne prípady	Celkový počet prípadov
Cerebrum	5	6
Cerebellum	3	3
Nadobličky	3	3
Vaječník	2	3
Pankreas	3	3
Lymfatická uzlina	3	3
Trachea	3	3
semenníky	5	5
Štítna žľaza	3	3
Prsník	2	2
Slezina	4	4
Tonsil	3	3
Thymus	3	3
Kostná dreň	3	3
Lung	3	3
Srdce	3	3
Pažerák	3	3
Žalúdok	2	3
Tenké črevo	3	3
Dvojbodka	3	3
Pečeň	3	3
Slinná žľaza	3	3
obličky	3	3
Prostata	3	3
Uterus	3	3
Cervix	3	3
Kostrový sval	2	3
Koža	2	2
Periférny nerv	3	3
Obloženie buniek	2	2
Oko	3	3
Hrtan	3	3

Riešenie problémov:

1. Žiadne zafarbenie na sklíčkach – Skontrolujte, či sa použilo vhodné tkanivo pozitívnej kontroly, protilátka a detekčné produkty.
2. Slabé zafarbenie všetkých sklíčok – Skontrolujte, či sa použilo vhodné tkanivo pozitívnej kontroly, protilátka a detekčné produkty.
3. Nadmerné pozadie všetkých sklíčok – Môžu existovať vysoké hladiny endogénneho biotínu (ak používate detekčné produkty na báze biotínu), endogénna aktivita HRP premieňajúca chromogén na farebný konečný produkt (použite peroxidázový blok) alebo nadmerná nespecifická proteínová interakcia (použite proteín blok, ako je blokovací roztok na báze séra alebo kazeínu).
4. Tkanivové rezy zmyjú sklíčka počas inkubácie – Skontrolujte sklíčka, aby ste sa uistili, že sú pozitívne nabité.
5. Špecifické zafarbenie je príliš tmavé – Skontrolujte protokol a zistite, či bol na sklíčko aplikovaný správny titer protilátok, ako aj správne inkubačné časy pre všetky činidlá. Okrem toho sa uistite, že protokol obsahuje dostatok premývacích krokov na odstránenie nadbytočných činidiel po dokončení inkubačných krokov.

Referencie:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. <http://www.cap.org> (800) 323-4040.
10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. Omata M, Liew CT, Ashcavi M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. Curr Opin Immunol. 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. J Immunol. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Protílátky Ultraline sú vyvinuté výhradne spoločnosťou Biocare Medical LLC a neznamenajú schválenie alebo schválenie protílátok Biocare spoločnosťou Ventana Medical Systems, Inc alebo Roche. Biocare, Ventana a Roche nie sú nijakým spôsobom prepojené, spojené ani prepojené. Ventana®, BenchMark®, ultraView a OptiView sú ochranné známky spoločnosti Roche.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Slovak

BIOCARE
M E D I C A L

Protilátky série Q sú vyvinuté výhradne spoločnosťou Biocare Medical LLC a neznamenujú schválenie alebo schválenie protilátok Biocare spoločnosťou Leica Biosystems. Biocare a Leica Biosystems nie sú nijakým spôsobom prepojené, spojené ani prepojené. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX a BOND-III sú ochranné známky spoločnosti Leica Biosystems.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Slovenian

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Predvidena uporaba:

Za *in vitro* Diagnostična uporaba

HLA-B [BC43] je mišje monoklonsko protitelo, ki je namenjeno za laboratorijsko uporabo, potem ko je bila začetna diagnoza tumorja postavljena s konvencionalno histopatologijo z uporabo neimunoloških histokemičnih barvanj pri kvalitativni identifikaciji HLA-B beljakovin z imunohistokemijo (IHC) v človeških tkivih, fiksiranih s formalinom, vgrajenih v parafin (FFPE). Klinično razlago kakršnega koli obarvanja ali njegove odsotnosti je treba dopolniti z morfološki študijami z uporabo ustreznih kontrol in jo mora ovrednotiti kvalificirani patolog v okviru bolnikove klinične anamneze in drugih diagnostičnih testov kot pomoč pri drugih kliničnih ugotovitvah.

Povzetek in razlaga:

HLA-B je zelo polimorfen proteinski kodirni gen za glavni kompleks histokompatibilnosti razreda I (MHC-I).¹⁵ Molekule MHC razreda I se izražajo na celični površini, vežejo in predstavljajo antigenske peptide limfocitom CD8+ T, da posredujejo imunske odzive proti znotrajceličnim patogenom in rakom.¹⁶

Načelo postopka:

Ta izdelek s protitelesi se lahko uporablja kot primarno protitelo pri imunohistokemijskem testiranju s formalinom fiksiranih in v parafin vgrajenih tkivnih odsekov. Na splošno imunohistokemični (IHC) tehnike barvanja omogočajo vizualizacijo antigenov z zaporedno uporabo a specifično protitelo proti antigenu (primarno protitelo), sekundarno protitelo proti primarnemu protitelesu (neobvezno povezovalno protitelo/sonda), encimski kompleks in kromogeni substrat z vmesnimi koraki pranja. Posledica encimske aktivacije kromogena je viden reakcijski produkt na mestu antigena. Vzorec se lahko nato protibarva in prekrije. Rezultati se interpretirajo z uporabo luči mikroskopom in pomoč pri diferencialni diagnostiki patofizioloških procesov, ki lahko oz morda ni povezan z določenim antigenom.

Materiali in metode:

Priloženi reagenti:

Vir gostitelja: Mišji monoklonski

Reaktivnost vrste: Človek; druge vrste niso testirane.

Klon: BC43

Izotip: IgG1 kapa

Koncentracija beljakovin: Za koncentracijo, specifično za serijo, glejte nalepko viala.

Specifična koncentracija IgG: Obrnite se na tehnično podporo podjetja Biocare

Specifičnost: HLA-B

Celična lokalizacija: Celična membrana

metoda: Afinitetno prečiščen mišji monoklon

Rekonstitucija, mešanje, redčenje, titracija:

Predhodno razredčen reagent protiteles je optimalno razredčen za uporabo z zgoraj navedenimi sistemi obarvanja. Nadaljnje redčenje lahko povzroči izgubo obarvanja antigena. Nadaljnje redčenje lahko povzroči izgubo

obarvanja antigena. Uporabnik mora vsako takšno spremembo potrditi. Razlike v obdelavi tkiv in tehničnih postopkih v laboratoriju uporabnika lahko povzroči precejšnje razlike v rezultatih, ki zahtevajo redno izvajanje internih kontrol (glejte razdelek Nadzor kakovosti). Koncentrirani reagent je treba razredčiti, kot je navedeno v zgornji tabeli.

Znane aplikacije:

Imunohistokemija (tkiva, fiksirana s formalinom in parafinom)

Dobavljeno kot: Pufirana fiziološka raztopina, 5,9-7,4, ki vsebuje beljakovinski nosilec in manj kot 0,1 % konzervansa natrijevega azida. Za dodatne podrobnosti glejte varnostni list.

Potrebni materiali in reagenti, ki niso priloženi:

Mikroskopska stekelca pozitivno nabita.

Pozitivne in negativne kontrole tkiva

Puščavska komora (ali podobna sušilna peč)

Ksilen ali nadomestek ksilena

Etanol ali reagentni alkohol

Komora za razkrivanje (lonc pod pritiskom)

Deionizirana ali destilirana voda

Pufer za pranje

Reagenti za predobdelavo

Blok peroksidaze

Beljakovinski blok (neobvezno)

Sonda za odkrivanje in polimer

Reagenti negativne kontrole

Kromogeni

Hematoksilin (protibarvanje)

Reagent za pomodrelo

Montažni medij

Pokrívno steklo

Svetlobni mikroskop (40-400-kratna povečava)

*Konfiguracije izdelka s protitelesi so na voljo za uporabo na instrumentih, navedenih v zgornji tabeli.

Shranjevanje in stabilnost:

Shranjujte pri 2°C do 8°C. Pri shranjevanju pod temi pogoji je izdelek stabilen do datuma izteka roka uporabnosti, ki je natisnjen na nalepki viala. Ne uporabljajte po preteku roka uporabnosti. Preveriti je treba shranjevanje pod kakršnimi koli pogoji, razen navedenih. Razredčene reagente je treba uporabiti takoj; preostali reagent shranite pri 2°C do 8°C. Biocare ni ugotovil stabilnosti uporabniško razredčenega reagenta.

Pozitivne in negativne kontrole je treba opraviti hkrati z vsemi vzorci bolnikov. Če opazite nepričakovano obarvanje, ki ga ni mogoče razložiti z variacijami v laboratorijskih postopkih, in obstaja sum na težavo s protitelesi, se obrnite na tehnično podporo Biocare na 1-800-542-2002 ali prek informacij o tehnični podpori na biocare.net.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

129/150

IVD

TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Slovenian

BIOCARE
M E D I C A L

Priprava vzorca:

Tkiva fiksirana v formalinu so primerni za uporabo pred vgradnjo parafina. Kostna tkiva je treba pred obdelavo tkiva dekalificirati, da olajšamo rezanje tkiva in preprečimo poškodbe rezil mikrotoma.¹²

Pravilno fiksirana in vdelana tkiva, ki izražajo določeno tarčo antigena, morajo biti shranjena na hladnem. Zakon o izboljšanju kliničnega laboratorija (CLIA) iz leta 1988 zahteva v 42 CFR§493.1259(b), da mora laboratorij hraniti obarvana stekelca najmanj deset let od datuma pregledati in hraniti bloke vzorcev vsaj dve leti od datuma pregleda.¹³

Obdelava tkiv pred barvanjem:

Izvedite toplotno povzročeno pridobivanje epitopov (HIER) po priporočenem protokolu spodaj. Pokazalo se je, da rutinska uporaba HIER pred IHC zmanjšuje nedoslednost in standardizira barvanje.⁴⁵

Opozorilo in previdnostni ukrepi:

1. To protiteles vsebuje manj kot 0,1 % natrijevega azida. Koncentracije, nižje od 0,1 %, niso nevarni materiali, ki jih je treba prijaviti v skladu z U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard message in EC Directive 91/155/EC. Natrijev azid (NaN₃), ki se uporablja kot konzervans, je pri zaužitju strupen. Natrijev azid lahko reagira s svinčnimi in bakrenimi vodovodnimi napeljavami ter tvori zelo eksplozivne kovinske azide. Po odlaganju sperite z veliko količino vode, da preprečite kopičenje azida v vodovodnih napeljavah. (Center za nadzor bolezni, 1976, Nacionalni inštitut za varnost in zdravje pri delu, 1976)
2. Z vzorci pred in po fiksaciji ter z vsemi materiali, ki so jim izpostavljeni, je treba ravnati, kot da bi lahko prenašali okužbo, in jih odstraniti z ustreznimi varnostnimi ukrepi. Reagentov nikoli ne pipetirajte z usti in se izogibajte stiku reagentov in vzorcev s kožo in sluznicami. Če pridejo reagenti ali vzorci v stik z občutljivimi območji, jih sperite z veliko vode.⁷
3. Mikrobnna kontaminacija reagentov lahko povzroči povečanje nespecifičnega obarvanja.
4. Časi inkubacije ali temperature, ki niso navedene, lahko dajo napačne rezultate. Uporabnik mora vsako takšno spremembo potrditi.
5. Reagenta ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti, ki je natisnjen na viali.
6. Predhodno razredčen reagent protiteles je optimalno razredčen za uporabo. Nadaljnje redčenje lahko povzroči izgubo obarvanja antigena.
7. Pred uporabo je treba potrditi razredčitev koncentriranega reagenta protiteles. Vsako uporabljeno razredčilo, ki ni izrecno priporočeno, mora biti tudi potrjeno glede združljivosti in stabilnosti.
8. Varnostni list je na voljo na zahtevo in se nahaja na <http://biocare.net>.

Navodila za uporabo:

Priporočeni protokoli barvanja za HLA-B [BC43]:

IntelliPATH FLX in ročna uporaba:

API3289 za IntelliPATH FLX in ročno uporabo je bil standardiziran z MACH 4 sistem zaznavanja. Uporabite TBS za korake pranja.	
Peroxide Block:	Blokirajte 5 minut s Peroxidazed 1.
Pretreatment:	Izvedite pridobivanje toplote s programom Reveal Decloaker. Za posebna navodila glejte podatkovni list Reveal Decloaker.
Protein Block (Optional):	Inkubirajte 5-10 minut pri sobni temperaturi z Background Punisher.
Primary Antibody:	Inkubirajte 30 minut pri sobni temperaturi.
Detection:	Sonda: Inkubirajte 10 minut pri sobni temperaturi s sekundarnim polimerom.
	Polimer: Inkubirajte 20 minut pri sobni temperaturi s terciarnim polimerom.

Chromogen:	Inkubirajte 5 minut pri RT z Biocare DAB – ALI – Inkubirajte 5-7 minut pri RT z Warp Red.
Counterstain:	Kontrabarvanje s hematoksilinom. Izperite z deionizirano vodo. Nanesite raztopino Tacha's Bluing Solution za 1 minuto. Izperite z deionizirano vodo.

ONCORE Pro Avtomatski sistem za barvanje stekelc:

OPAI3289 je namenjen za uporabo z ONCORE Pro. Za posebna navodila za uporabo glejte uporabniški priročnik. Parametri protokola v urejevalniku protokolov morajo biti programirani na naslednji način:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Predloga Ms HRP 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, nizek pH; 101°C
Block Option:	Medpomnilnik
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 min., 25°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3289 je namenjen uporabi z BenchMark ULTRA. Za posebna navodila za uporabo glejte uporabniški priročnik. Priporočeni parametri protokola so naslednji:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minut
Peroxidase:	Predprimarni zaviralec peroksidaze
Primary Antibody:	8 minut, 36°C

Serijska Q – za Leica BOND-III:

ALI3289 je namenjen uporabi z Leica BOND-III. Za posebna navodila za uporabo glejte uporabniški priročnik. Priporočeni parametri protokola so naslednji:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	IHC protokol F
Detection:	Bond Polymer Refine
HIER:	10 minut z ER1
Peroxide Block:	5 min
Marker (Primary Antibody):	15 min
Post Primary:	8 min
Polymer:	8 min
Mixed Chromogen Refine:	10 min
Hematoxylin:	5 min

Nadzor kakovosti:

Glejte standarde kakovosti CLSI za načrtovanje in izvajanje imunohistokemijskih testov; Odobrene smernice – druga izdaja (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA ZDA (www.clsi.org). 2011⁸

Pozitivna kontrola tkiva: tonzil

Zunanji materiali za pozitivno kontrolo morajo biti sveži vzorci, fiksirani, obdelani in vdelani čim prej na enak način kot vzorec(-e) bolnika. Pozitivne kontrole tkiva kažejo na pravilno pripravljena tkiva in pravilne tehnike

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Slovenian

BIOCARE
M E D I C A L

barvanja. V vsak postopek barvanja je treba vključiti eno pozitivno zunanjo kontrolo tkiva za vsak niz testnih pogojev.

Tkiva, uporabljena za materiale za zunanjo pozitivno kontrolo, je treba izbrati iz bolnikovih vzorcev z dobro označenimi nizkimi ravnmi pozitivne ciljne aktivnosti, ki daje šibko pozitivno obarvanje. Nizka raven pozitivnosti za zunanje pozitivne kontrole je zasnovana tako, da zagotavlja odkrivanje subtilnih sprememb v občutljivosti primarnega protitelesa zaradi nestabilnosti ali težav z metodologijo IHC. Komercialno dostopna stekelca za kontrolo tkiva ali vzorci, obdelani drugače kot vzorec(-i) bolnika, potrjujejo samo učinkovitost reagenta in ne preverjajo priprave tkiva.

Znane pozitivne kontrole tkiv je treba uporabiti samo za spremljanje pravilnega delovanja obdelanih tkiv in testnih reagentov, ne pa kot pomoč pri oblikovanju specifične diagnoze bolnikovih vzorcev. Če pozitivne kontrole tkiva ne pokažejo pozitivnega obarvanja, je treba rezultate s preskusnimi vzorci šteti za neveljavne.

Negativna kontrola tkiva:

Za preverjanje specifičnosti primarnega protitelesa IHC za prikaz tarčnega antigena in podatek o specifičnem obarvanju ozadja (lažno pozitivno obarvanje). Tudi različne vrste celic, ki so prisotne v večini delov tkiva, lahko laboratorij uporablja kot mesta notranje negativne kontrole za preverjanje delovanja IHC specifikacije. Vrste in viri vzorcev, ki se lahko uporabijo za negativno tkivo kontrolniki so navedeni v razdelku Performance Characterists.

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

Nespecifična negativna kontrola reagenta:

Uporabite nespecifično negativno kontrolo reagenta namesto primarnega protitelesa z odsekom vsakega bolnikovega vzorca, da ocenite nespecifično obarvanje in omogočajo boljše interpretacijo specifičnega obarvanja na mestu antigena. V idealnem primeru negativna kontrola reagenta vsebuje protitelo HLA-B [BC43] IgG1 Kappa, proizvedeno iz supernatanta tkivne kulture na enak način kot primarno protitelo, vendar ne kaže specifične reaktivnosti s človeškimi tkivi v istem matriksu/raztopini kot Biocare protitelesa. Protitelo negativne kontrole razredčite na enako koncentracijo imunoglobulina ali beljakovin kot razredčeno primarno protitelesa z enakim razredčilom. Če se fetalni teležji serum po obdelavi ohrani v čistem protitelesu, se fetalni teležji serum v koncentraciji beljakovin, ki je enaka razredčeni primarno protitelo v istem razredčilu je prav tako primerno za uporabo. (Glejte priloženi reagent). Samo razredčilo se lahko uporabi kot manj zaželeno alternativa prej opisanim negativnim kontrolam reagenta. Inkubacijsko obdobje za negativno kontrolo reagenta mora ustrezati obdobju primarnega protitelesa.

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

Preverjanje testa:

Pred prvo uporabo protitelesa ali sistema obarvanja v diagnostičnem postopku mora uporabnik preveriti specifičnost protitelesa tako, da ga testira na nizu lastnih tkiv z znanimi lastnostmi imunohistokemičnega delovanja, ki predstavljajo znana pozitivna in negativna tkiva. Glejte postopke nadzora kakovosti, ki so bili predhodno opisani v tem razdelku vložka izdelka, in priporočila za nadzor kakovosti certifikacijskega programa CAP[®] za imunohistokemijo in/ali smernico NCCLS IHC[®]. Te postopke nadzora

kakovosti je treba ponoviti za vsako novo serijo protiteles ali vsakič, ko pride do spremembe parametrov testa. Tkiva, navedena v razdelku o značilnostih delovanja, so primerna za preverjanje analize.

Odpravljanje težav:

Sledite priporočilom protokola za specifična protitelesa v skladu s priloženim podatkovnim listom. Če pride do netipičnih rezultatov, se obrnite na tehnično podporo Biocare na 1-800-542-2002.

Razlaga barvanja:

Pozitivna kontrola tkiva:

Najprej je treba pregledati pozitivno kontrolo tkiva, obarvano z navedenim protitelesom, da se prepričamo, ali vsi reagenti delujejo pravilno. Ustrezno obarvanje ciljnih celic (kot je navedeno zgoraj) kaže na pozitivno reaktivnost. Če pozitivne kontrole tkiva ne pokažejo pozitivnega obarvanja, je treba vse rezultate s preskusnimi vzorci obravnavati kot neveljavne. Barva reakcijskega produkta se lahko razlikuje glede na uporabljene substratne kromogene. Za pričakovane barvne reakcije glejte navodila za embalažo substrata. Poleg tega lahko opazimo metakromazijo pri različnih metodah obarvanja.¹¹

Ko se uporabi nasprotno barvanje, bo odvisno od dolžine inkubacije in moči uporabljenega nasprotnega barvanja povzročilo obarvanje celičnih jeder. Prekomerno ali nepopolno kontrastno barvanje lahko ogrozi pravilno interpretacijo rezultatov. Glejte protokol(e) za priporočeno kontrastno barvanje.

Negativna kontrola tkiva:

Negativno tkivno kontrolo je treba pregledati po pozitivni tkivni kontroli, da se preveri specifičnost označevanja tarčnega antigena s primarnim protitelesom. Odsotnost specifičnega barvanja v negativni tkivni kontroli potrjuje pomanjkanje navzkrižne reaktivnosti protiteles na celice/celične komponente. Če pride do specifičnega obarvanja (lažno pozitivno obarvanje) pri negativni zunanji kontroli tkiva, je treba rezultate bolnikovega vzorca šteti za neveljavne.

Nespecifično obarvanje, če je prisotno, ima običajno razpršen videz. Občasno obarvanje vezivnega tkiva je mogoče opaziti tudi v odsekih tkiv, ki so preveč fiksirana s formalinom. Za razlago rezultatov obarvanja uporabite nedotaknjene celice. Nekrotične ali degenerirane celice se pogosto obarvajo nespecifično.

Bolnikovo tkivo:

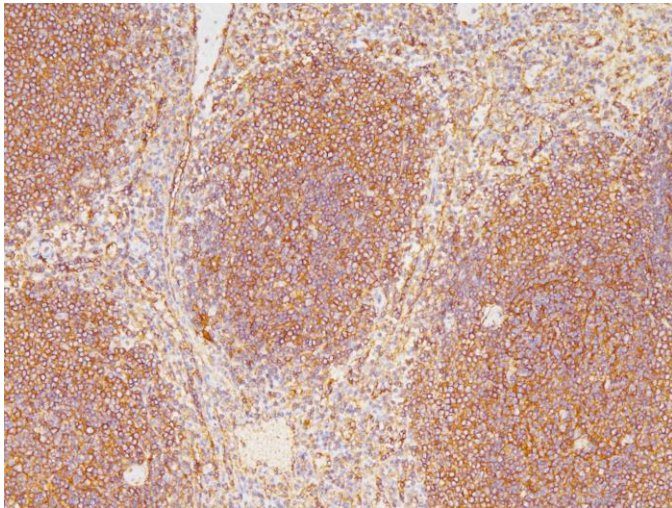
Preglejte bolnikove vzorce, obarvane z navedenim protitelesom zadnja. Intenzivnost pozitivnega obarvanja je treba oceniti v kontekstu morebitnega nespecifičnega obarvanja ozadja negativne reagentne kontrole. Kot pri vsakem imunohistokemičnem testu negativen rezultat pomeni, da antigen ni bil odkrit, ne pa, da antigena ni bilo v testiranih celicah/tkivu. Po potrebi uporabite ploščo protiteles za identifikacijo lažno negativnih reakcij.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Slovenian

BIOCARE
M E D I C A L



Vranica, obarvana s protitelesom HLA-B [BC43].

Glejte povzetek in razlago, omejitve in značilnosti delovanja za posebne informacije glede indicirane imunoreaktivnosti protiteles.

Omejitve:

Splošne omejitve:

1. *Za in vitro* diagnostična uporaba
2. Ta izdelek je samo za profesionalno uporabo: Imunohistokemija je večstopenjski diagnostični proces, ki je sestavljen iz specializiranega usposabljanja za izbiro ustreznih reagentov; izbira, fiksacija in obdelava tkiv; priprava preparata IHC; in interpretacijo rezultatov barvanja.
3. Obarvanje tkiva je odvisno od ravnanja in obdelave tkiva pred barvanjem. Nepravilna fiksacija, zamrzovanje, odmrzovanje, pranje, sušenje, segrevanje, rezanje ali kontaminacija z drugimi tkivi ali tekočinami lahko povzroči artefakte, ujetost protiteles ali lažno negativne rezultate. Neskladni rezultati so lahko posledica razlik v metodah fiksacije in vdelave ali inherentnih nepravilnosti v tkivu.¹²
4. Prekomerno ali nepopolno kontrastno barvanje lahko ogrozi pravilno interpretacijo rezultatov.
5. Klinično interpretacijo kakršnega koli pozitivnega ali negativnega obarvanja je treba ovrednotiti v okviru klinične slike, morfologije in drugih histopatoloških meril. Klinično interpretacijo kakršnega koli pozitivnega ali negativnega obarvanja je treba dopolniti z morfološki študijami z uporabo ustreznih pozitivnih in negativnih notranjih in zunanjih kontrol ter drugih diagnostičnih testov. Odgovornost kvalificiranega patologa, ki je seznanjen s pravilno uporabo protiteles, reagentov in metod IHC, je za razlago vseh korakov, uporabljenih za pripravo in razlago končnega pripravka IHC.
6. Optimalna razredčitev protiteles in protokoli za določeno aplikacijo se lahko razlikujejo. Ti vključujejo, vendar niso omejeni na fiksacijo, metodo odvzema toplote, inkubacijske čase, debelino odsekov tkiva in uporabljen komplet za odkrivanje. Zaradi vrhunske občutljivosti teh edinstvenih reagentov navedeni priporočeni inkubacijski časi in titri ne veljajo za druge detekcijske sisteme, saj se lahko rezultati razlikujejo. Priporočila in protokoli podatkovnega lista temeljijo na izključni uporabi izdelkov Biocare. Navsezadnje je odgovornost raziskovalca, da določi optimalne pogoje.
7. Ta izdelek ni namenjen uporabi v pretočni citometriji. Značilnosti delovanja za pretočno citometrijo niso bile določene.
8. Tkiva oseb, okuženih z virusom hepatitisa B in vsebujejo površinski antigen hepatitisa B (HBsAg), so lahko nespecifično obarvana s hrenovo peroksidazo.¹³

9. Reagenti lahko pokažejo nepričakovane reakcije v predhodno netestiranih tkivih. Možnosti nepričakovanih reakcij tudi v testiranih skupinah tkiv ni mogoče popolnoma odpraviti zaradi biološke variabilnosti izražanja antigenov v novotvorbah ali drugih patoloških tkivih.¹⁴ Obrnite se na tehnično podporo podjetja Biocare na 1-800-542-2002 ali prek informacij o tehnični podpori na biocare.net z dokumentiranimi nepričakovanimi reakcijami.
10. Normalni/neimunski serumi iz istega živalskega izvora kot sekundarni antiserumi, uporabljeni v korakih blokiranja, lahko povzročijo lažno negativne ali lažno pozitivne rezultate zaradi avtoproteles ali naravnih protiteles.
11. Lažno pozitivne rezultate lahko opazimo zaradi neimunološke vezave beljakovin ali reakcijskih produktov substrata. Lahko jih povzročijo tudi aktivnost psevdo peroksidaze (eritrociti), aktivnost endogene peroksidaze (citokrom C) ali endogeni biotin (npr. jetra, dojke, možgani, ledvice), odvisno od vrste uporabljenega imunskega barvanja.¹²

Posebne omejitve izdelka:

Dodatne omejitve niso znane.

Značilnosti delovanja:

Občutljivost, specifičnost in navzkrižna reaktivnost so povzeti v tabeli 1 oziroma 2.

Ponovljivost:

Ponovljivost delovanja protiteles je bila preverjena s testiranjem izbranega normalnega in tumorskega tkiva na različne dni in različnih instrumentov z več operaterji. Barvanje izbranih tkiv je bilo dosledno in izvedeno po pričakovanih.

Ponovljivost obarvanja med serijo je bila določena z obarvanjem petih tkiv, ki vsebujejo isto tkivo, na več instrumentih.

Ponovljivost obarvanja med serijami je bila določena z barvanjem petih stekelcev, ki vsebujejo isto tkivo, v treh dneh/potekih na istem instrumentu. Vsa testiranja so bila uspešno opravljena z enakimi rezultati, kot je opredeljeno v internih smernicah Biocare za točkovanje.

Imunoreaktivnost:

V tabelah 1 in 2 spodaj so bile prikazane naslednje pozitivne in negativne imunoreaktivnosti.

Spodnji seznam ni izčrpen, vendar opisuje vrste imunoreaktivnosti, opažene pri navedenem protitelesu.

Povzetek pričakovanih rezultatov:

Ugotovljeno je bilo, da je to protitelo imunoreaktivno na vse vrste tkiv, na katerih je bilo testirano, vključno z vsemi vrstami limfomov in normalnim človeškim tkivom. Barvanje je pretežno membransko, vendar se lahko pojavi tudi citoplazmatsko pri vzorcih z visoko ekspresijo. Barvanje je prisotno predvsem v endotelijskih celicah in limfocitih z manjšo razširjenostjo v epitelijskih celicah v nekaterih tkivih.

Tabela 1: Občutljivost in specifičnost sta bili določeni s testiranjem obolelih tkiv, fiksiranih v formalinu in v parafinu.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Slovenian

BIOCARE
M E D I C A L

Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Tabela 2: Navzkrižno reaktivnost tkiv so določili s testiranjem normalnih tkiv, fiksiranih s formalinom in v parafin.

Tkivo	Pozitivni primeri	Skupaj primerov
Veliki možgani	5	6
Mali možgani	3	3
Nadledvične žleze	3	3
Jajčnik	2	3
trebušna slinavka	3	3
Bezgavka	3	3
sapnik	3	3
Testis	5	5
Ščitnica	3	3
Prsi	2	2
Vranica	4	4
tonzil	3	3
Timus	3	3
Kostni mozeg	3	3
Pljuča	3	3
srce	3	3
požiralnik	3	3
želodec	2	3
Tanko črevo	3	3
Debelo črevo	3	3
Jetra	3	3
Žleza slinavka	3	3
Ledvica	3	3
Prostata	3	3
Maternica	3	3
Maternični vrat	3	3
Skeletna mišica	2	3
koža	2	2
Periferni živec	3	3
Obložne celice	2	2
Oko	3	3
Larinks	3	3

Odpravljanje težav:

1. Nobeno steklec ni obarvan – preverite, da ugotovite, ali so bila uporabljena ustrezna pozitivna kontrola, tkivo, protitelesa in izdelki za odkrivanje.
2. Šibko obarvanje vseh stekelcev – Preverite, da ugotovite, ali so bila uporabljena ustrezna pozitivna kontrola, tkivo, protitelesa in izdelki za odkrivanje.

3. Prekomerno ozadje vseh stekelcev – morda so visoke ravni endogenega biotina (če uporabljate izdelke za odkrivanje na osnovi biotina), endogena aktivnost HRP, ki pretvarja kromogen v obarvani končni produkt (uporabite blok peroksidaze) ali presežek nespecifične interakcije z beljakovinami (uporabite beljakovino blok, kot je raztopina za blokiranje na osnovi seruma ali kazeina).
4. Odrezki tkiv se med inkubacijo sperejo s stekelcev – Preverite stekelca, da zagotovite, da so pozitivno naelektrana.
5. Specifično barvanje je pretemno – Preverite protokol, da ugotovite, ali je bil na objektnem stekelcu uporabljen ustrezen titer protiteles, kot tudi ustrezne inkubacijske čase za vse reagente. Poleg tega zagotovite, da ima protokol dovolj korakov pranja, da odstranite odvečne reagente po zaključku korakov inkubacije.

Reference:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. Curr Opin Immunol. 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. J Immunol. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Protitelesa Ultraline je razvilo izključno podjetje Biocare Medical LLC in ne pomenijo odobritve ali odobritve protiteles Biocare s strani Ventana Medical Systems, Inc ali Roche. Biocare, Ventana in Roche niso kakor koli povezani, povezani ali povezani. Ventana®, BenchMark®, ultraView in OptiView so blagovne znamke družbe Roche.

Protitelesa serije Q je razvila izključno družba Biocare Medical LLC in ne pomenijo odobritve ali odobritve protiteles Biocare s strani Leica Biosystems. Biocare in Leica Biosystems nista na noben način povezana, povezana ali povezana. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX in BOND-III so blagovne znamke družbe Leica Biosystems.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

133/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Spanish

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Uso previsto:

Para *in vitro* Uso diagnóstico

HLA-B [BC43] es un anticuerpo monoclonal de ratón destinado a uso en laboratorio después de que se haya realizado el diagnóstico inicial del tumor mediante histopatología convencional utilizando tinciones histoquímicas no inmunológicas, en la identificación cualitativa de HLA-B. proteína por inmunohistoquímica (IHC) en tejidos humanos fijados con formalina e incluidos en parafina (FFPE). La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos utilizando controles adecuados y debe ser evaluada dentro del contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas de diagnóstico por un patólogo calificado como ayuda para realizar otras determinaciones clínicas.

Resumen y explicación:

HLA-B es una proteína altamente polimórfica que codifica el gen del complejo principal de histocompatibilidad de clase I (MHC-I).¹⁵ Las moléculas del MHC de clase I se expresan en la superficie celular, uniéndose y presentando péptidos antigénicos a los linfocitos T CD8+ para mediar las respuestas inmunitarias contra patógenos intracelulares y cánceres.^{dic2018}

Principio de Procedimiento:

Este producto de anticuerpo se puede utilizar como anticuerpo primario en pruebas inmunohistoquímicas de secciones de tejido fijadas con formalina e incluidas en parafina. En general, inmunohistoquímica (IHC) Las técnicas de tinción permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario contra el anticuerpo primario (enlace opcional anticuerpo/sonda), un complejo enzimático y un sustrato cromogénico con pasos de lavado interpuestos. La activación enzimática del cromógeno da como resultado un producto de reacción visible en el sitio del antígeno. Luego se puede contrañir la muestra y cubrir con un cubreobjetos. Los resultados se interpretan utilizando una luz. microscopio y ayuda en el diagnóstico diferencial de procesos fisiopatológicos, que pueden o Puede no estar asociado con un antígeno en particular.

Materiales y métodos:

Reactivos proporcionados:

Fuente del anfitrión: monoclonal de ratón

Reactividad de las especies: Humano; otras especies no probadas.

Clon: BC43

Isotipo: IgG1 kappa

Concentración de proteínas: Consulte la etiqueta del vial para conocer la concentración específica del lote.

Concentración de IgG específica: Contacte con el soporte técnico de Biocare

Especificidad: HLA-B

Localización celular: Membrana celular

Método: Monoclonal de ratón purificado por afinidad

Reconstitución, mezcla, dilución, valoración:

El reactivo de anticuerpos prediluido se diluye de manera óptima para su uso con los sistemas de tinción enumerados anteriormente. Una mayor dilución

puede provocar la pérdida de la tinción del antígeno. Una mayor dilución puede provocar la pérdida de la tinción del antígeno. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo. Diferencias en el procesamiento de tejidos y procedimientos técnicos. en el laboratorio del usuario puede producir una variabilidad significativa en los resultados, lo que requiere la realización regular de controles internos (consulte la sección Control de calidad). El reactivo concentrado requiere dilución como se indica en la tabla anterior.

Aplicaciones conocidas:

Inmunohistoquímica (tejidos incluidos en parafina y fijados con formalina)

Se suministra como: Solución salina tamponada, 5,9-7,4, que contiene un proteína portador y menos del 0,1 % de conservante de azida sódica. Consulte la Hoja de datos de seguridad para obtener detalles adicionales.

Materiales y reactivos necesarios pero no proporcionados:

Portaobjetos de microscopio cargados positivamente.

Controles de tejido positivos y negativos.

Cámara del Desierto (o horno de secado similar)

Xileno o sustituto del xileno

Etanol o alcohol reactivo

Cámara de ocultación (olla a presión)

Agua desionizada o destilada

Tampón de lavado

Reactivos de pretratamiento

Bloqueo de peroxidasa

Bloque de proteínas (opcional)

Sonda de detección y polímero.

Reactivos de control negativo

cromógenos

Hematoxilina (contratinción)

reactivo de azulado

Medio de montaje

Vidrio de protección

Microscopio óptico (aumento 40-400X)

*Las configuraciones del producto de anticuerpo están disponibles para su uso en los instrumentos indicados en la tabla anterior.

Almacenamiento y estabilidad:

Conservar entre 2°C y 8°C. El producto es estable hasta la fecha de vencimiento impresa en la etiqueta del vial, cuando se almacena en estas condiciones. No utilizar después de la fecha de caducidad. Se debe verificar el almacenamiento en cualquier condición distinta a las especificadas. Los reactivos diluidos deben utilizarse lo antes posible; almacene el reactivo restante entre 2°C y 8°C. Biocare no ha establecido la estabilidad del reactivo diluido por el usuario.

Se deben realizar controles positivos y negativos simultáneamente con todas las muestras de pacientes. Si se observa una tinción inesperada que no puede explicarse por variaciones en los procedimientos de laboratorio y se sospecha un problema con el anticuerpo, comuníquese con el soporte técnico



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

134/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Spanish

BIOCARE
M E D I C A L

de Biocare al 1-800-542-2002 o mediante la información de soporte técnico proporcionada en biocare.net.

Preparación de espécimen:

Tejidos fijados en formalina. son adecuados para su uso antes de la inclusión en parafina. Los tejidos óseos deben descalcificarse antes del procesamiento del tejido para facilitar el corte del tejido y evitar daños a las hojas del micrótopo.^{1,2}

Los tejidos correctamente fijados e incluidos que expresen el antígeno objetivo especificado deben almacenarse en un lugar fresco. La Ley de Mejora de Laboratorios Clínicos (CLIA) de 1988 exige en 42 CFR§493.1259(b) que "El laboratorio debe conservar los portaobjetos teñidos al menos diez años a partir de la fecha de examen y conservar los bloques de muestras al menos dos años después de la fecha del examen".³

Tratamiento de tejidos antes de la tinción:

Realice la recuperación de epítomos inducida por calor (HIER) según el protocolo recomendado a continuación. Se ha demostrado que el uso rutinario de HIER antes de la IHC minimiza la inconsistencia y estandariza la tinción.^{4,5}

Advertencias y precauciones:

1. Este anticuerpo contiene menos del 0,1 % de azida sódica. Las concentraciones inferiores al 0,1% no son materiales peligrosos reportables según U.S. 29 CFR 1910.1200, Comunicación de peligros de OSHA y la Directiva CE 91/155/CE. Azida de sodio (NaN₃) utilizado como conservante es tóxico si se ingiere. La azida de sodio puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre para formar azidas metálicas altamente explosivas. Al desecharlo, enjuague con grandes volúmenes de agua para evitar la acumulación de azida en las tuberías. (Centro para el Control de Enfermedades, 1976, Instituto Nacional de Seguridad y Salud Ocupacional, 1976)⁶
2. Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a ellas deben manipularse como si pudieran transmitir infecciones y eliminarse con las precauciones adecuadas. Nunca pipetee reactivos con la boca y evite el contacto de la piel y las membranas mucosas con reactivos y muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lave con abundante agua.⁷
3. La contaminación microbiana de los reactivos puede provocar un aumento de la tinción inespecífica.
4. Tiempos de incubación o temperaturas distintas a las especificadas pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.
5. No utilice el reactivo después de la fecha de vencimiento impresa en el vial.
6. El reactivo de anticuerpos prediluido se diluye de manera óptima para su uso. Una mayor dilución puede provocar la pérdida de la tinción del antígeno.
7. La dilución del reactivo de anticuerpos concentrado debe validarse antes de su uso. Cualquier diluyente utilizado que no esté específicamente recomendado también debe validarse en cuanto a compatibilidad y estabilidad.
8. La SDS está disponible previa solicitud y se encuentra en <http://biocare.net>.

Instrucciones de uso:

Protocolos de tinción recomendados para HLA-B [BC43]:

IntelliPATH FLX y uso manual:

API3289 para IntelliPATH FLX y uso manual, ha sido estandarizado con MACH 4 Sistema de detección. Utilice TBS para los pasos de lavado.

Peroxide Block: Bloquear durante 5 minutos con Peroxidized 1.

Pretreatment:	Realice la recuperación de calor usando Reveal Decloaker. Consulte la hoja de datos de Reveal Decloaker para obtener instrucciones específicas.
Protein Block (Optional):	Incubar durante 5-10 minutos a temperatura ambiente con Background Punisher.
Primary Antibody:	Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.
Detection:	Sonda: Incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente con un polímero secundario.
	Polímero: Incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente con un polímero terciario.
Chromogen:	Incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente con DAB de Biocare – O – Incubar durante 5-7 minutos a temperatura ambiente con Warp Red.
Counterstain:	Contrateñir con hematoxilina. Enjuague con agua desionizada. Aplicar la Solución Azulante de Tacha durante 1 minuto. Enjuague con agua desionizada.

Sistema automatizado de tinción de portaobjetos ONCORE Pro:

OPAI3289 está diseñado para usarse con ONCORE Pro. Consulte el Manual del usuario para obtener instrucciones de uso específicas. Los parámetros de protocolo en el Editor de protocolos deben programarse de la siguiente manera:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Sra. HRP Plantilla 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, pH bajo; 101C
Block Option:	Buffer
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 min., 25°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3289 está diseñado para usarse con BenchMark ULTRA. Consulte el Manual del usuario para obtener instrucciones de uso específicas. Los parámetros de protocolo recomendados son los siguientes:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minutos
Peroxidase:	Inhibidor preprimario de peroxidasa
Primary Antibody:	8 minutos, 36°C

Serie O – Para Leica BOND-III:

ALI3289 está diseñado para usarse con el Leica BOND-III. Consulte el Manual del usuario para obtener instrucciones de uso específicas. Los parámetros de protocolo recomendados son los siguientes:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	Protocolo IHC F
Detection:	Refinar polímero de enlace
HIER:	10 min con ER1
Peroxide Block:	5 minutos
Marker (Primary Antibody):	15 minutos
Post Primary:	8 minutos
Polymer:	8 minutos
Mixed Chromogen Refine:	10 minutos
Hematoxylin:	5 minutos

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

135/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Spanish

BIOCARE
M E D I C A L

Control de calidad:

Consulte los Estándares de calidad del CLSI para el diseño e implementación de ensayos de inmunohistoquímica; Guía aprobada-Segunda edición (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011*

Control Positivo de Tejidos: Amígdala

Los materiales de control positivo externo deben ser muestras frescas fijadas, procesadas e incluidas lo antes posible de la misma manera que las muestras del paciente. Los controles de tejido positivos son indicativos de tejidos correctamente preparados y técnicas de tinción adecuadas. En cada proceso de tinción se debe incluir un control de tejido externo positivo para cada conjunto de condiciones de prueba.

Los tejidos utilizados para los materiales de control positivo externo deben seleccionarse de muestras de pacientes con niveles bajos bien caracterizados de actividad diana positiva que proporcione una tinción positiva débil. El bajo nivel de positividad para los controles positivos externos está diseñado para garantizar la detección de cambios sutiles en la sensibilidad del anticuerpo primario debido a inestabilidad o problemas con la metodología IHC. Los portaobjetos de control de tejido disponibles comercialmente o las muestras procesadas de manera diferente a las muestras del paciente validan únicamente el rendimiento del reactivo y no verifican la preparación del tejido.

Los controles de tejido positivos conocidos solo deben utilizarse para monitorear el desempeño correcto de los tejidos procesados y los reactivos de prueba, en lugar de como ayuda para formular un diagnóstico específico de muestras de pacientes. Si los controles de tejido positivos no logran demostrar una tinción positiva, los resultados de las muestras de prueba deben considerarse inválidos.

Control de tejido negativo:

Utilice un control de tejido negativo (que se sabe que es HLA-B negativo) fijado, procesado e incluido de manera idéntica a las muestras del paciente en cada proceso de tinción para verificar la especificidad del anticuerpo primario IHC para demostración del antígeno diana y para proporcionar una indicación de tinción de fondo específica (tinción falsa positiva). Además, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de las secciones de tejido puede ser utilizado por el laboratorio como sitios de control negativo interno para verificar el desempeño de la IHC. especificaciones. Los tipos y fuentes de muestras que pueden usarse para tejido negativo. Los controles se enumeran en la sección Características de rendimiento.

Si se produce una tinción específica (tinción falsa positiva) en el control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente se deben considerar no válidos.

Control de reactivos negativos no específicos:

Utilice un control reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con una sección de cada muestra de paciente para evaluar la tinción no específica y permitir una mejor interpretación de la tinción específica en el sitio del antígeno. Idealmente, un control reactivo negativo contiene un anticuerpo HLA-B [BC43] IgG1 Kappa producido a partir del sobrenadante de cultivo de tejidos de la misma manera que el anticuerpo primario, pero no muestra reactividad específica con tejidos humanos en la misma matriz/solución que el anticuerpo. Anticuerpo biocuidado. Diluir un anticuerpo de control negativo a la misma concentración de inmunoglobulina o proteína que el anticuerpo primario diluido. anticuerpo utilizando el mismo diluyente. Si el suero fetal de ternera se retiene en el anticuerpo puro después del procesamiento, el suero fetal de ternera en una concentración de proteínas equivalente al diluido El anticuerpo primario en el mismo diluyente también es adecuado para su uso. (Consulte el reactivo proporcionado). Se puede utilizar diluyente solo como una alternativa menos deseable a los controles reactivos negativos descritos

anteriormente. El período de incubación del control reactivo negativo debe corresponder al del anticuerpo primario.

Cuando se utilizan paneles de varios anticuerpos en secciones en serie, las áreas teñidas negativamente de un portaobjetos pueden servir como control de fondo de unión negativa/no específica para otros anticuerpos. Para diferenciar la actividad enzimática endógena o la unión no específica de enzimas de la inmunorreactividad específica, se pueden teñir tejidos adicionales del paciente exclusivamente con sustrato-cromógeno o complejos enzimáticos (PAP, avidina-biotina, estreptavidina) y sustrato-cromógeno, respectivamente.

Verificación del ensayo:

Antes del uso inicial de un anticuerpo o sistema de tinción en un procedimiento de diagnóstico, el usuario debe verificar la especificidad del anticuerpo probándolo en una serie de tejidos internos con características de rendimiento inmunohistoquímico conocidas que representen tejidos positivos y negativos conocidos. Consulte los procedimientos de control de calidad descritos anteriormente en esta sección del prospecto del producto y las recomendaciones de control de calidad del Programa de Certificación CAP[®] para inmunohistoquímica y/o la guía NCCLS IHC[®]). Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse para cada nuevo lote de anticuerpos o siempre que haya un cambio en los parámetros del ensayo. Los tejidos enumerados en la sección Características de rendimiento son adecuados para la verificación del ensayo.

Solución de problemas:

Siga las recomendaciones del protocolo específico de anticuerpos según la hoja de datos proporcionada. Si se producen resultados atípicos, comuníquese con el soporte técnico de Biocare al 1-800-542-2002.

Interpretación de la tinción:

Control Positivo de Tejidos:

Primero se debe examinar el control de tejido positivo teñido con el anticuerpo indicado para comprobar que todos los reactivos funcionan correctamente. La tinción apropiada de las células diana (como se indicó anteriormente) es indicativa de reactividad positiva. Si los controles de tejido positivos no logran demostrar una tinción positiva, cualquier resultado con las muestras de prueba debe considerarse inválido. El color del producto de reacción puede variar dependiendo de los cromógenos del sustrato utilizados. Consulte los prospectos del paquete del sustrato para conocer las reacciones de color esperadas. Además, se puede observar metacromasia en variaciones del método de tinción.¹¹

Cuando se utiliza una contratinción, dependiendo de la duración de la incubación y la potencia de la contratinción utilizada, la contratinción dará como resultado una coloración de los núcleos celulares. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados. Consulte los protocolos para conocer la contratinción recomendada.

Control de tejido negativo:

El control de tejido negativo debe examinarse después del control de tejido positivo para verificar la especificidad del marcaje del antígeno diana por parte del anticuerpo primario. La ausencia de tinción específica en el control de tejido negativo confirma la falta de reactividad cruzada de anticuerpos con células/componentes celulares. Si se produce una tinción específica (tinción falsa positiva) en el control de tejido externo negativo, los resultados con la muestra del paciente se deben considerar no válidos.

La tinción inespecífica, si está presente, suele tener una apariencia difusa. También se puede observar tinción esporádica del tejido conectivo en secciones de tejidos excesivamente fijados con formalina. Utilice células



60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

136/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

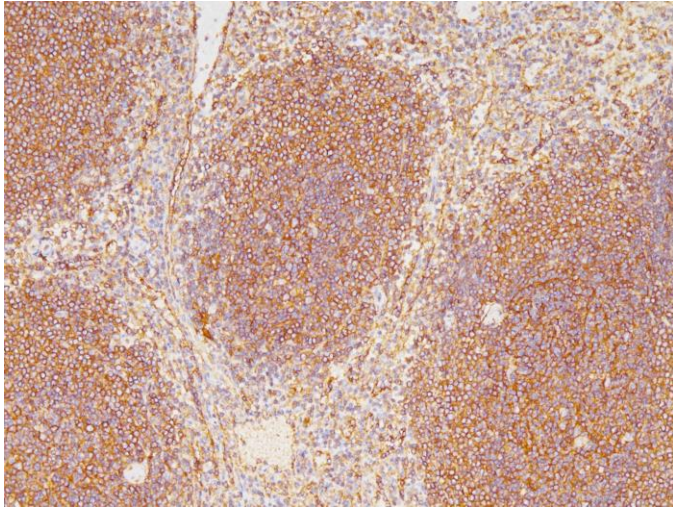
Spanish

BIOCARE
M E D I C A L

intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. Las células necróticas o degeneradas a menudo se tiñen de forma inespecífica.

Tejido del paciente:

Examinar muestras de pacientes teñidas con el anticuerpo indicado. último. La intensidad de la tinción positiva debe evaluarse en el contexto de cualquier tinción de fondo inespecífica del control de reactivo negativo. Como ocurre con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se detectó el antígeno, no que el antígeno estuviera ausente en las células/tejido analizado. Si es necesario, utilice un panel de anticuerpos para identificar reacciones falsas negativas.



Bazo teñido con anticuerpo HLA-B [BC43]

Consulte Resumen y explicación, limitaciones y características de rendimiento para obtener información específica sobre la inmunorreactividad de los anticuerpos indicada.

Limitaciones:

Limitaciones generales:

1. *Para in vitro* Uso diagnóstico
2. Este producto es sólo para uso profesional: La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico de varios pasos que consiste en una capacitación especializada en la selección de los reactivos adecuados; selección, fijación y procesamiento de tejidos; preparación del portaobjetos IHC; e interpretación de los resultados de la tinción.
3. La tinción de tejidos depende de la manipulación y procesamiento del tejido antes de la tinción. La fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento, corte o contaminación inadecuados con otros tejidos o fluidos pueden producir artefactos, atrapamiento de anticuerpos o resultados falsos negativos. Los resultados inconsistentes pueden deberse a variaciones en los métodos de fijación e inclusión, o a irregularidades inherentes dentro del tejido.¹²
4. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
5. La interpretación clínica de cualquier tinción positiva o negativa debe evaluarse dentro del contexto de la presentación clínica, la morfología y otros criterios histopatológicos. La interpretación clínica de cualquier tinción positiva o negativa debe complementarse con estudios morfológicos utilizando controles internos y externos positivos y negativos adecuados, así como otras pruebas de diagnóstico. Es responsabilidad de un patólogo calificado que esté familiarizado con el

uso adecuado de los anticuerpos, reactivos y métodos de IHC interpretar todos los pasos utilizados para preparar e interpretar la preparación IHC final.

6. La dilución óptima de anticuerpos y los protocolos para una aplicación específica pueden variar. Estos incluyen, entre otros, fijación, método de recuperación de calor, tiempos de incubación, grosor de la sección de tejido y kit de detección utilizado. Debido a la sensibilidad superior de estos reactivos únicos, los tiempos de incubación recomendados y los títulos enumerados no son aplicables a otros sistemas de detección, ya que los resultados pueden variar. Las recomendaciones y protocolos de la ficha técnica se basan en el uso exclusivo de productos Biocare. En última instancia, es responsabilidad del investigador determinar las condiciones óptimas.
7. Este producto no está diseñado para usarse en citometría de flujo. No se han determinado las características de rendimiento para la citometría de flujo.
8. Los tejidos de personas infectadas con el virus de la hepatitis B y que contienen el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) pueden presentar tinciones inespecíficas con peroxidasa de rábano picante.¹³
9. Los reactivos pueden demostrar reacciones inesperadas en tejidos no probados previamente. La posibilidad de reacciones inesperadas incluso en grupos de tejidos probados no se puede eliminar por completo debido a la variabilidad biológica de la expresión de antígenos en neoplasias u otros tejidos patológicos.¹⁴ Comuníquese con el soporte técnico de Biocare al 1-800-542-2002, o a través de la información de soporte técnico proporcionada en biocare.net, con reacciones inesperadas documentadas.
10. Los sueros normales/no inmunes de la misma fuente animal que los antisueros secundarios utilizados en los pasos de bloqueo pueden causar resultados falsos negativos o falsos positivos debido a autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
11. Se pueden observar resultados falsos positivos debido a la unión no inmunológica de proteínas o productos de reacción del sustrato. También pueden ser causados por actividad pseudo peroxidasa (eritrocitos), actividad peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (p. ej., hígado, mama, cerebro, riñón), según el tipo de inmunotinción utilizada.¹²

Limitaciones específicas del producto:

No se conocen limitaciones adicionales.

Características de presentación:

La sensibilidad, especificidad y reactividad cruzada se resumen en las Tablas 1 y 2, respectivamente.

Reproducibilidad:

La reproducibilidad del rendimiento de los anticuerpos se verificó probando tejido normal y tumoral seleccionado en varios días y varios instrumentos con múltiples operadores. La tinción de los tejidos seleccionados fue consistente y se realizó como se esperaba.

La reproducibilidad de la tinción intraensayo se determinó teñiendo cinco tejidos que contenían el mismo tejido en múltiples instrumentos.

La reproducibilidad de la tinción entre series se determinó teñiendo cinco portaobjetos que contenían el mismo tejido en tres días/secuencias en el mismo instrumento. Todas las pruebas se aprobaron con las mismas puntuaciones, según lo definido por las pautas de puntuación internas de Biocare.

Inmunoreactividad:

Las siguientes inmunoreactividades positivas y negativas se han demostrado en las Tablas 1 y 2 a continuación.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Spanish

BIOCARE
M E D I C A L

La lista que se proporciona a continuación no es exhaustiva, pero caracteriza los tipos de inmunorreactividades observadas con el anticuerpo indicado.

Resumen de resultados esperados:

Se descubrió que este anticuerpo era inmunorreactivo con todos los tipos de tejidos en los que se probó, incluidos todos los tipos de linfomas y tejido humano normal. La tinción es predominantemente membranosa, pero también puede aparecer citoplasmática en muestras de alta expresión. La tinción está presente predominantemente en células endoteliales y linfocitos con menor prevalencia en células epiteliales en algunos tejidos.

Riñón	3	3
Próstata	3	3
Útero	3	3
Cuello uterino	3	3
Músculo esquelético	2	3
Piel	2	2
Nervio periférico	3	3
Revestimiento de celdas	2	2
Ojo	3	3
Laringe	3	3

Tabla 1: La sensibilidad y la especificidad se determinaron analizando tejidos enfermos fijados en formalina e incluidos en parafina.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Tabla 2: La reactividad cruzada del tejido se determinó analizando tejidos normales fijados con formalina e incluidos en parafina.

Tejido	Casos Positivos	Casos totales
Cerebro	5	6
Cerebelo	3	3
Suprarrenal	3	3
Ovario	2	3
Páncreas	3	3
Ganglio linfático	3	3
Tráquea	3	3
Testículo	5	5
Tiroides	3	3
Mama	2	2
Bazo	4	4
Amígdala	3	3
timo	3	3
Médula ósea	3	3
Pulmón	3	3
Corazón	3	3
Esófago	3	3
Estómago	2	3
Intestino delgado	3	3
Colon	3	3
Hígado	3	3
Glándula salival	3	3

Solución de problemas:

1. Sin tinción de ningún portaobjetos: verifique que se hayan utilizado tejido de control positivo, anticuerpos y productos de detección adecuados.
2. Tinción débil de todos los portaobjetos: verifique que se hayan utilizado tejido de control positivo, anticuerpos y productos de detección adecuados.
3. Fondo excesivo en todos los portaobjetos: puede haber niveles altos de biotina endógena (si se utilizan productos de detección a base de biotina), actividad HRP endógena que convierte el cromógeno en un producto final coloreado (use un bloque de peroxidasa) o un exceso de interacción proteica no específica (use una proteína). bloqueante, como una solución bloqueadora a base de suero o caseína).
4. Las secciones de tejido se lavan de los portaobjetos durante la incubación. Revise los portaobjetos para asegurarse de que estén cargados positivamente.
5. Tinción específica demasiado oscura: consulte el protocolo para determinar si se aplicó el título de anticuerpos adecuado al portaobjetos, así como los tiempos de incubación adecuados para todos los reactivos. Además, asegúrese de que el protocolo tenga suficientes pasos de lavado para eliminar el exceso de reactivos una vez completados los pasos de incubación.

Referencias:

1. Kiernan JA. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. *Theory and Practice of Histotechnology*. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. *Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule*, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. *J Histotechnol*. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. *Biotech Histochem*. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. *Guide: Safety Management*, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.*
8. *CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011*
9. *College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry*. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. *Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.*
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. *Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.*
12. Nadji M, Morales AR. *Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.*

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Spanish

BIOCARE
M E D I C A L

13. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *AmJ Clin Path* 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.
15. Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. *Curr Opin Immunol*. 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. *J Immunol*. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Los anticuerpos Ultraline son desarrollados únicamente por Biocare Medical LLC y no implican la aprobación ni el respaldo de los anticuerpos de Biocare por parte de Ventana Medical Systems, Inc o Roche. Biocare, Ventana y Roche no están afiliados, asociados ni relacionados de ninguna manera. Ventana®, BenchMark®, ultraView y OptiView son marcas comerciales de Roche.

Los anticuerpos de la serie Q son desarrollados únicamente por Biocare Medical LLC y no implican la aprobación ni el respaldo de los anticuerpos Biocare por parte de Leica Biosystems. Biocare y Leica Biosystems no están afiliados, asociados ni relacionados de ninguna manera. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX y BOND-III son marcas comerciales de Leica Biosystems.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Swedish

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Avsedd användning:

För *in vitro* Diagnostisk användning

HLA-B [BC43] är en monoklonal musantikropp som är avsedd för laboratorieanvändning efter att den initiala diagnosen av tumör har gjorts med konventionell histopatologi med användning av icke-immunologiska histokemiska färger, i kvalitativ identifiering av HLA-B protein genom immunhistokemi (IHC) i formalinfixerade paraffinbäddade (FFPE) mänskliga vävnader. Den kliniska tolkningen av eventuell färgning eller dess frånvaro bör kompletteras med morfologiska studier med lämpliga kontroller och bör utvärderas inom ramen för patientens kliniska historia och andra diagnostiska tester av en kvalificerad patolog som ett hjälpmedel för att göra andra kliniska bestämningar.

Sammanfattning och förklaring:

HLA-B är en mycket polymorf proteinkodande gen för det stora histokompatibilitetsklass I (MHC-I)-komplexet.¹⁵ MHC klass I-molekyler uttrycks på cellytan, binder och presenterar antigena peptider till CD8+ T-lymfocyter för att mediera immunsvaret mot intracellulära patogener och cancer.¹⁶

Procedurprincip:

Denna antikropsprodukt kan användas som den primära antikroppen vid immunhistokemistestning av formalinfixerade, paraffinbäddade vävnadssnitt. I allmänhet immunhistokemiska (IHC) färgningstekniker möjliggör visualisering av antigener via sekventiell applicering av en specifik antikropp mot antigenet (primär antikropp), en sekundär antikropp mot den primära antikroppen (valfri länkantikropp/sond), ett enzymkomplex och ett kromogent substrat med mellanliggande tvättsteg. Den enzymatiska aktiveringen av kromogenen resulterar i en synlig reaktionsprodukt vid antigenstället. Provet kan sedan motfärgas och locket glider. Resultaten tolkas med hjälp av ett ljusmikroskop och hjälp vid differentialdiagnostik av patofysiologiska processer, som kan eller kanske inte är associerad med ett visst antigen.

Material och metoder:

Reagens som tillhandahålls:

Värdekälla:Mus monoklonal

Arters reaktivitet:Mänsklig; andra arter inte testade.

Klona:BC43

Isotyp:IgG1 kappa

Proteinkoncentration:Se injektionsflaskans etikett för partispecifik koncentration.

Specifik IgG-koncentration: Kontakta Biocares tekniska support

Specifitet:HLA-B

Cellulär lokalisering: Cellmembranet

Metod:Affinitetsrenad mus monoklonal

Rekonstitution, blandning, spädning, titrering:

Förutspädd antikropsreagens är optimalt utspädd för användning med ovan angivna färgningssystem. Ytterligare utspädning kan resultera i förlust av antigenfärgning. Ytterligare utspädning kan resultera i förlust av

antigenfärgning. Användaren måste validera alla sådana ändringar. Skillnader i vävnadsbearbetning och tekniska procedurer i användarens laboratorium kan ge betydande variationer i resultat som kräver regelbunden utförande av interna kontroller (se avsnittet Kvalitetskontroll).

Koncentrerat reagens kräver spädning enligt tabellen ovan.

Kända applikationer:

Immunhistokemi (formalinfixerade paraffinbäddade vävnader)

Levereras som:Bufferad saltlösning, 5,9-7,4, som innehåller en proteinbärande och mindre än 0,1 % natriumazidkonserveringsmedel. Se säkerhetsdatabladet för ytterligare information.

Material och reagens som behövs men inte tillhandahålls:

Objektglas positivt laddade.

Positiva och negativa vävnadskontroller
Desert Chamber (eller liknande torkugn)

Xylen eller xylenersättning

Etanol eller reagens alkohol

Decloaking Chamber (tryckkokare)

Avjoniserat eller destillerat vatten

Tvättbuffert

Förbehandlingsreagens

Peroxidasblock

Proteinblock (valfritt)

Detektionssond och polymer

Negativa kontrollreagenser

Kromogener

Hematoxylin (motfärgning)

Blånande reagens

Monteringsmedium

Täckglas

Ljuskroskop (40-400X förstoring)

*Konfigurationer av antikropsprodukten är tillgängliga för användning på de instrument som anges i tabellen ovan.

Lagring och stabilitet:

Förvara vid 2°C till 8°C. Produkten är stabil till det utgångsdatum som är tryckt på injektionsflaskans etikett när den förvaras under dessa förhållanden. Använd inte efter utgångsdatum. Förvaring under alla andra förhållanden än de angivna måste verifieras. Utspädda reagenser bör användas omedelbart; förvara eventuellt kvarvarande reagens vid 2°C till 8°C. Stabiliteten för användarens utspädda reagens har inte fastställts av Biocare.

Positiva och negativa kontroller bör köras samtidigt med alla patientprover. Om oväntad färgning observeras som inte kan förklaras av variationer i laboratorieprocedurer och ett problem med antikroppen misstänks, kontakta Biocares tekniska support på 1-800-542-2002 eller via den tekniska supportinformationen på biocare.net.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

140/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Swedish

BIOCARE
M E D I C A L

Provförberedelse:

Vävnader fixerade i formalin är lämpliga att använda före paraffinbäddning. Ossös vävnad bör avkalkas före vävnadsbearbetning för att underlätta vävnadsskärning och förhindra skador på mikrotombladen.^{1,2}

Korrekt fixerade och inbäddade vävnader som uttrycker det specificerade antigenmålet bör förvaras på en sval plats. Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) från 1988 kräver i 42 CFR§493.1259(b) att "Laboratoriet måste behålla färgade objektglas minst tio år från datumet för undersöka och behålla provblocken minst två år från datumet för undersökningen."³

Behandling av vävnader före färgning:

Utför Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) enligt rekommenderat protokoll nedan. Rutinmässig användning av HIER före IHC har visat sig minimera inkonsekvens och standardisera färgning.^{4,5}

Varning och försiktighetsåtgärder:

1. Denna antikropp innehåller mindre än 0,1 % natriumazid. Koncentrationer mindre än 0,1 % är inte rapporterbara farliga material enligt U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication och EG-direktiv 91/155/EC. Natriumazid (NaN₃) som används som konserveringsmedel är giftigt vid förtäring. Natriumazid kan reagera med bly- och kopparrör för att bilda högexplosiva metallazider. Vid kassering, spola med stora volymer vatten för att förhindra aziduppbyggnad i rörledningar. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976)⁶
2. Prover, före och efter fixering, och allt material som exponeras för dem ska hanteras som om de skulle kunna överföra infektion och kasseras med lämpliga försiktighetsåtgärder. Pipettera aldrig reagens genom munnen och undvik att komma i kontakt med huden och slemhinnorna med reagenser och prover. Om reagenser eller prover kommer i kontakt med känsliga områden, tvätta med rikliga mängder vatten.⁷
3. Mikrobiell kontaminering av reagenser kan resultera i en ökning av ospecifik färgning.
4. Andra inkubationstider eller temperaturer än de angivna kan ge felaktiga resultat. Användaren måste validera alla sådana ändringar.
5. Använd inte reagens efter det utgångsdatum som är tryckt på flaskan.
6. Förutspädd antikropsreagens är optimalt utspädd för användning. Ytterligare utspädning kan resultera i förlust av antigenfärgning.
7. Spädning av koncentrerad antikropsreagens måste valideras före användning. Alla spädningsmedel som inte rekommenderas specifikt måste också valideras för kompatibilitet och stabilitet.
8. Säkerhetsdatabladet är tillgängligt på begäran och finns på <http://biocare.net>.

Användningsinstruktioner:

Rekommenderade färgningsprotokoll för HLA-B [BC43]:

IntelliPATH FLX och manuell användning:

API3289 för IntelliPATH FLX och manuell användning, har standardiserats med MACH 4 detektionssystem. Använd TBS för tvättsteg.	
Peroxide Block:	Blockera i 5 minuter med Peroxidazed 1.
Pretreatment:	Utför värmeåtervinning med Reveal Decloaker. Se Reveal Decloakers datablad för specifika instruktioner.
Protein Block (Optional):	Inkubera i 5-10 minuter vid RT med Background Punisher.
Primary Antibody:	Inkubera i 30 minuter vid RT.
Detection:	Sond: Inkubera i 10 minuter vid RT med en sekundär polymer.
	Polymer: Inkubera i 20 minuter vid RT med en tertiär polymer.

Chromogen:	Inkubera i 5 minuter vid RT med Biocares DAB – ELLER – Inkubera i 5-7 minuter vid RT med Warp Red.
Counterstain:	Motfärga med hematoxylin. Skölj med avjoniserat vatten. Applicera Tacha's Blueing Solution i 1 minut. Skölj med avjoniserat vatten.

ONCORE Pro Automated Slide Staining System:

OPAI3289 är avsedd för användning med ONCORE Pro. Se användarmanualen för specifika instruktioner för användning. Protokollparametrar i Protocol Editor bör programmeras enligt följande:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Ms HRP-mall 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, lågt pH; 101 °C
Block Option:	Buffert
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 min., 25°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3289 är avsedd för användning med BenchMark ULTRA. Se användarmanualen för specifika instruktioner för användning. Rekommenderade protokollparametrar är följande:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 minuter
Peroxidase:	Pre-primär peroxidashämmare
Primary Antibody:	8 minuter, 36°C

Q-serien – För Leica BOND-III:

ALI3289 är avsedd att användas med Leica BOND-III. Se användarmanualen för specifika instruktioner för användning. Rekommenderade protokollparametrar är följande:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	IHC-protokoll F
Detection:	Bond Polymer Refine
HIER:	10 min med ER1
Peroxide Block:	5 min
Marker (Primary Antibody):	15 min
Post Primary:	8 min
Polymer:	8 min
Mixed Chromogen Refine:	10 minuter
Hematoxylin:	5 min

Kvalitetskontroll:

Se CLSI kvalitetsstandarder för design och implementering av immunhistokemianalyser; Godkänd guideline-andra upplagan (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011⁸

Positiv vävnadskontroll: Tonsill

Extern positiv kontrollmaterial bör vara färskt prover fixerade, bearbetade och inbäddade så snart som möjligt på samma sätt som patientprov/patienterna. Positiva vävnadskontroller tyder på korrekt preparerade vävnader och korrekta färgningstekniker. En positiv extern

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Swedish

BIOCARE
M E D I C A L

vävnadskontroll för varje uppsättning testbetingelser bör inkluderas i varje färgningskörning.

De vävnader som används för de externa positiva kontrollmaterialen bör väljas från patientprover med välkarakteriserade låga nivåer av den positiva målakтивiteten som ger svag positiv färgning. Den låga nivån av positivitet för externa positiva kontroller är utformad för att säkerställa upptäckt av subtila förändringar i den primära antikroppens känslighet från instabilitet eller problem med IHC-metoden. Kommersiellt tillgängliga vävnadskontrollobjektglas eller prover som bearbetats annorlunda än patientproven/patienterna validerar endast reagensprestanda och verifierar inte vävnadsberedning.

Kända positiva vävnadskontroller bör endast användas för att övervaka korrekt prestanda hos bearbetade vävnader och testreagens, snarare än som ett hjälpmedel för att formulera en specifik diagnos av patientprover. Om de positiva vävnadskontrollerna inte visar positiv färgning, bör resultaten med testproverna anses ogiltiga.

Negativ vävnadskontroll:

Använd en negativ vävnadskontroll (känd för att vara HLA-B-negativ) fixerad, bearbetad och inbäddad på ett sätt som är identiskt med patientproverna med varje färgningskörning för att verifiera specificiteten hos den primära IHC-antikroppen för demonstration av målantigenet och för att ge en indikation på specifik bakgrundsfärgning (falsk positiv färgning). Det kan också mångfalden av olika celltyper som finns i de flesta vävnadsnitt användas av laboratoriet som interna negativa kontrollplatser för att verifiera IHC:s prestanda specifikationer. Typer och källor för prover som kan användas för negativ vävnadskontrollerna listas i avsnittet Prestandaegenskaper.


Om specifik färgning (falsk positiv färgning) inträffar i den negativa vävnadskontrollen, bör resultaten med patientproverna anses ogiltiga.

Ospecifik negativ reagenskontroll:

Använd en ospecifik negativ reagenskontroll i stället för den primära antikroppen med en sektion av varje patientprov för att utvärdera ospecifik färgning och möjliggör bättre tolkning av specifik färgning på antigenstället. Helst innehåller en negativ reagenskontroll en HLA-B [BC43] IgG1 Kappa-antikropp producerad från vävnadskultursupernatant på samma sätt som den primära antikroppen men uppvisar ingen specifik reaktivitet med mänskliga vävnader i samma matris/lösning som Biocare antikropp. Späd en negativ kontrollantikropp mot samma immunoglobulin- eller proteinkoncentration som den utspädda primära antikropp med användning av identiskt utspädningsmedel. Om fetalt kalvserum hålls kvar i den rena antikroppen efter bearbetning, fetalt kalvserum i en proteinkoncentration som motsvarar den utspädda primära antikropp i samma spädningsmedel är också lämplig för användning. (Se medföljande reagens). Enbart utspädningsmedel kan användas som ett mindre önskvärt alternativ till de tidigare beskrivna negativa reagenskontrollerna. Inkubationstiden för den negativa reagenskontrollen bör motsvara den för den primära antikroppen.

När paneler med flera antikroppar används på seriella snitt, kan de negativt färgande områdena på ett objektglas fungera som en negativ/ickespecifik bindningsbakgrundskontroll för andra antikroppar. För att differentiera endogen enzymaktivitet eller ospecifik bindning av enzymer från specifik immunreaktivitet, kan ytterligare patientvävnader färgas uteslutande med substrat-kromogen eller enzymkomplex (PAP, avidin-biotin, streptavidin) respektive substrat-kromogen.

Assayverifiering:

 Biocare Medical
60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553
USA

142/150



TP v3 (12/15/2021)

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

Innan en antikropp eller färgningssystem används i ett diagnostiskt förfarande, bör användaren verifiera antikroppens specificitet genom att testa den på en serie interna vävnader med kända immunhistokemiska prestandaegenskaper som representerar kända positiva och negativa vävnader. Se kvalitetskontrollprocedurerna som tidigare beskrivits i detta avsnitt av produktbilagan och till kvalitetskontrollrekommendationerna i CAP Certification Program[®] för immunhistokemi och/eller NCCLS IHC-riktlinje[®]). Dessa kvalitetskontrollprocedurer bör upprepas för varje nytt antikroppsparti, eller närhelst det sker en förändring i analysparametrarna. Vävnader listade i avsnittet Prestandaegenskaper är lämpliga för analysverifiering.

Felsökning:

Följ de antikroppsspecifika protokollrekommendationerna enligt det medföljande databladet. Om atypiska resultat uppstår, kontakta Biocares tekniska support på 1-800-542-2002.

Tolkning av färgning:

Positiv vävnadskontroll:

Den positiva vävnadskontrollen färgad med indikerad antikropp bör undersökas först för att säkerställa att alla reagenser fungerar korrekt. Lämplig färgning av målceller (som indikerat ovan) indikerar positiv reaktivitet. Om de positiva vävnadskontrollerna inte visar positiv färgning, bör alla resultat med testproverna anses ogiltiga. Färgen på reaktionsprodukten kan variera beroende på använda substratkromogener. Se substratets bipacksedel för förväntade färgreaktioner. Vidare kan metakromasi observeras i variationer av färgningsmetoden.¹¹

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

Negativ vävnadskontroll:

Den negativa vävnadskontrollen bör undersökas efter den positiva vävnadskontrollen för att verifiera specificiteten för märkningen av målantigenet med den primära antikroppen. Frånvaron av specifik färgning i den negativa vävnadskontrollen bekräftar avsaknaden av antikroppskorsreaktivitet mot celler/cellulära komponenter. Om specifik färgning (falsk positiv färgning) inträffar i den negativa externa vävnadskontrollen, bör resultaten med patientprovet anses ogiltiga.

Ospecifik färgning, om sådan finns, har vanligtvis ett diffust utseende. Sporadisk färgning av bindväv kan också observeras i snitt från alltför formalinfixerade vävnader. Använd intakta celler för tolkning av färgningsresultat. Nekrotiska eller degenererade celler färgas ofta ospecifikt.

Patientvävnad:

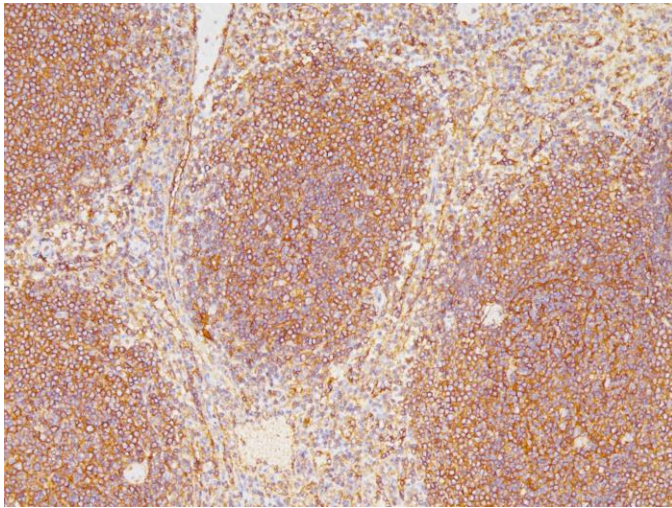
Undersök patientprover färgade med indikerad antikropp sista. Positiv färgningsintensitet bör bedömas inom ramen för eventuell ospecifik bakgrundsfärgning av den negativa reagenskontrollen. Som med alla immunhistokemiska tester betyder ett negativt resultat att antigenet inte upptäcktes, inte att antigenet saknades i cellerna/vävnaden som analyserades. Använd vid behov en panel av antikroppar för att identifiera falsknegativa reaktioner.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Swedish

BIOCARE
M E D I C A L



Mjälte färgad med HLA-B [BC43] antikropp

Se Sammanfattning och förklaring, begränsningar och prestandaegenskaper för specifik information om indikerad antikroppsimmunreaktivitet.

Begränsningar:

Allmänna begränsningar:

1. För *in vitro* diagnostisk användning
2. Denna produkt är endast avsedd för professionellt bruk: Immunhistokemi är en diagnostisk process i flera steg som består av specialiserad utbildning i val av lämpliga reagenser; vävnadsval, fixering och bearbetning; förberedelse av IHC-objektglaset; och tolkning av färgningsresultaten.
3. Vävnadsfärgning är beroende av hantering och bearbetning av vävnaden före färgning. Felaktig fixering, frysning, upptining, tvättning, torkning, uppvärmning, sektionering eller kontaminering med andra vävnader eller vätskor kan ge artefakter, antikroppsfångning eller falskt negativa resultat. Inkonsekventa resultat kan bero på variationer i fixerings- och inbäddningsmetoder, eller på inneboende oregelbundenheter i vävnaden.¹²
4. Överdriven eller ofullständig motfärgning kan äventyra korrekt tolkning av resultaten.
5. Den kliniska tolkningen av positiv eller negativ färgning bör utvärderas mot bakgrund av klinisk presentation, morfologi och andra histopatologiska kriterier. Den kliniska tolkningen av positiv eller negativ färgning bör kompletteras med morfologiska studier med korrekta positiva och negativa interna och externa kontroller samt andra diagnostiska tester. Det är en kvalificerad patolog som är bekant med korrekt användning av IHC-antikroppar, reagens och metoder som ansvarar för att tolka alla steg som används för att förbereda och tolka det slutliga IHC-preparatet.
6. Den optimala antikroppsspädningen och protokollen för en specifik tillämpning kan variera. Dessa inkluderar, men är inte begränsade till, fixering, värmeåtervinningsmetod, inkubationstider, vävnadssnitttjocklek och detektionskit som används. På grund av den överlägsna känsligheten hos dessa unika reagenser är de rekommenderade inkubationstiderna och titrarna som anges inte tillämpliga på andra detektionssystem, eftersom resultaten kan variera. Databladets rekommendationer och protokoll är baserade på exklusiv användning av Biocare-produkter. Ytterst är det utredarens ansvar att fastställa optimala förhållanden.
7. Denna produkt är inte avsedd för användning i flödescytometri. Prestandaegenskaper har inte fastställts för flödescytometri.

8. Vävnader från personer infekterade med hepatit B-virus och som innehåller hepatit B-ytantigen (HBsAg) kan uppvisa ospecifik färgning med pepparrotsperoxid.¹³
9. Reagenser kan uppvisa oväntade reaktioner i tidigare otestade vävnader. Möjligheten för oväntade reaktioner även i testade vävnadsgrupper kan inte helt elimineras på grund av biologisk variation av antigenuttryck i neoplasmer eller andra patologiska vävnader.¹⁴ Kontakta Biocares tekniska support på 1-800-542-2002, eller via den tekniska supportinformationen på biocare.net, med dokumenterade oväntade reaktioner.
10. Normala/icke-immuna sera från samma djurkälla som sekundära antisera som används i blockeringssteg kan orsaka falsknegativa eller falskt positiva resultat på grund av autoantikroppar eller naturliga antikroppar.
11. Falskt positiva resultat kan ses på grund av icke-immunologisk bindning av proteiner eller substratreaktionsprodukter. De kan också orsakas av pseudoperoxidasaktivitet (erythrocyter), endogen peroxidaktivitet (cytokrom C) eller endogent biotin (t.ex. lever, bröst, hjärna, njure) beroende på vilken typ av immunfärgning som används.¹²

Produktspecifika begränsningar:

Det finns inga ytterligare begränsningar kända.

Prestandaegenskaper:

Sensitivitet, specificitet och korsreaktivitet sammanfattas i tabellerna 1 respektive 2.

Reproducerbarhet:

Reproducerbarheten av antikroppsprestanda verifierades genom att testa utvald normal vävnad och tumörvävnad på olika dagar och olika instrument med flera operatörer. Färgning av de utvalda vävnaderna var konsekvent och utfördes som förväntat.

Intra-run reproducerbarhet av färgning bestämdes genom att färga fem vävnader innehållande samma vävnad på flera instrument.

Reproducerbarhet mellan körningar av färgning bestämdes genom att färga fem objektglas innehållande samma vävnad under tre dagar/körningar på samma instrument. Alla tester godkändes med samma poäng, som definierats av Biocares interna poängriktlinjer.

Immunreaktivitet:

Följande positiva och negativa immunreaktiviteter har visats i tabellerna 1 och 2 nedan.

Listan nedan är inte uttömmande men karakteriserar de typer av immunreaktiviteter som observerats med den angivna antikroppen.

Sammanfattning av förväntade resultat:

Denna antikropp visade sig vara immunreaktiv med alla typer av vävnader som den testades på, inklusive alla typer av lymfom och normal mänsklig vävnad. Färgningen är övervägande membranös men kan också verka cytoplasmisk i prover med högt uttryck. Färgning förekommer övervägande i endotelceller och lymfocyter med lägre prevalens i epitelceller i viss vävnad.

Bord 1: Sensitivitet och specificitet bestämdes genom att testa formalinfixerade, paraffinbäddade sjuka vävnader.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Swedish

BIOCARE
M E D I C A L

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1
Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Tabell 2: Vävnadsorsaktivitet bestämdes genom att testa formalinfixerade, paraffinbäddade normala vävnader.

Vävnad	Positiva fall	Totalt ärenden
Stora hjärnan	5	6
Lilla hjärnan	3	3
Binjuren	3	3
Äggstock	2	3
Bukspottkörteln	3	3
Lymfkörtel	3	3
Trakea	3	3
Testis	5	5
Sköldkörteln	3	3
Bröst	2	2
Mjälte	4	4
Tonsill	3	3
Bräss	3	3
Benmärg	3	3
Lunga	3	3
Hjärta	3	3
Matstrupe	3	3
Mage	2	3
Tunnarm	3	3
Kolon	3	3
Lever	3	3
Spottkörtel	3	3
Njure	3	3
Prostata	3	3
Livmoder	3	3
Cervix	3	3
Skelettmuskel	2	3
Hud	2	2
Perifer nerv	3	3
Foder celler	2	2
Öga	3	3
Struphuvud	3	3

Felsökning:

1. Ingen färgning av några objektglas – Kontrollera att lämplig positiv kontrollvävnad, antikroppar och detektionsprodukter har använts.
2. Svag färgning av alla objektglas – Kontrollera att lämplig positiv kontrollvävnad, antikroppar och detektionsprodukter har använts.
3. Överdriven bakgrund av alla objektglas – Det kan finnas höga nivåer av endogen biotin (om du använder biotinbaserade detektionsprodukter), endogen HRP-aktivitet som omvandlar kromogen till färgad slutprodukt (använd peroxidasblock) eller överskott av icke-specifik proteininteraktion (använd ett protein block, såsom serum- eller kaseinbaserad blockeringslösning).
4. Vävnadssektioner tvättar bort objektglasen under inkubationen – Kontrollera objektglasen för att säkerställa att de är positivt laddade.
5. Specifik färgning för mörk – Kontrollera protokollet för att avgöra om korrekt antikroppstiter applicerades på objektglasets, samt korrekta inkubationstider för alla reagenser. Se dessutom till att protokollet har tillräckligt med tvättsteg för att ta bort överflödigt reagens efter att inkubationsstegen har slutförts.

Referenser:

1. Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
2. Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histochemistry. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
3. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
4. Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histochemol. 1999 Sep;22(3):177-92.
5. Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
6. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
8. CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
9. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. <http://www.cap.org> (800) 323-4040.
10. O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
11. Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
12. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
13. Omata M, Liew CT, Ashcavi M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
14. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
15. Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. Curr Opin Immunol. 2020 Jun;64:137-145.
16. Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. J Immunol. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Ultraline-antikroppar utvecklas enbart av Biocare Medical LLC och innebär inte godkännande eller godkännande av Biocare-antikroppar av Ventana Medical Systems, Inc eller Roche. Biocare, Ventana och Roche är inte anslutna, associerade eller relaterade på något sätt. Ventana®, BenchMark®, ultraView och OptiView är varumärken som tillhör Roche.

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody

901-3289-090623

Swedish

BIOCARE
M E D I C A L

Antikroppar i Q-serien utvecklas enbart av Biocare Medical LLC och innebär inte godkännande eller godkännande av Biocare-antikroppar av Leica Biosystems. Biocare och Leica Biosystems är inte anslutna, associerade eller relaterade på något sätt. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX och BOND-III är varumärken som tillhör Leica Biosystems.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

145/150



TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Turkish

BIOCARE
M E D I C A L

Available Product Formats				
Format	Catalog Number	Description	Dilution	Diluent
Concentrate	ACI 3289 A, C	0.1, 1.0 mL	1:100	Van Gogh Yellow
Predilute	API 3289 AA	6.0 mL	Ready-to-use	N/A
ONCORE Pro	OPAI 3289 T60	60 tests	Ready-to-use	N/A
Q Series-- For Leica BOND-III	ALI 3289 G7	7.0 mL	Ready-to-use	N/A
UltraLine -- For BenchMark	AVI 3289 G	6.0 mL	Ready-to-use	N/A

Kullanım amacı:

İçin laboratuvar ortamında Tanısal Kullanım

HLA-B [BC43], HLA-B'nin niteliksel tanımlanmasında immünolojik olmayan histokimyasal boyalar kullanılarak geleneksel histopatoloji ile tümörün ilk tanısı konulduktan sonra laboratuvarında kullanılması amaçlanan bir fare monoklonal antikorudur. formalinle sabitlenmiş parafine gömülü (FFPE) insan dokularında immünohistokimya (IHC) ile protein. Herhangi bir lekelenmenin veya yokluğunun klinik yorumu, uygun kontrollerin kullanıldığı morfolojik çalışmalarla tamamlanmalı ve hastanın klinik geçmişi ve diğer klinik tespitlerin yapılmasına yardımcı olmak üzere kalifiye bir patolog tarafından diğer tanısal testler bağlamında değerlendirilmelidir.

Özet ve Açıklama:

HLA-B, ana doku uyumluluk sınıfı I (MHC-I) kompleksi için oldukça polimorfik bir protein kodlayan genidir.¹⁵ MHC sınıf I molekülleri hücre yüzeyinde eksprese edilir ve hücre içi patojenlere ve kanserlere karşı bağışıklık tepkilerine aracılık etmek için antijenik peptitleri CD8+ T lenfositlerine bağlar ve sunar.¹⁶

Prosedür Prensipleri:

Bu antikor ürünü, formalinle sabitlenmiş, parafine gömülmüş doku kesitlerinin immünohistokimya testlerinde birincil antikor olarak kullanılabilir. Genel olarak immünohistokimyasal (IHC) boyama teknikleri, bir ardışık uygulama yoluyla antijenlerin görselleştirilmesine izin verir antijene spesifik antikor (birincil antikor), birincil antikora ikincil bir antikor (isteğe bağlı bağlantı antikor/prob), bir enzim kompleksi ve araya giren yıkama adımlarına sahip bir kromojenik substrat. Kromojenin enzimatik aktivasyonu, antijen bölgesinde görünür bir reaksiyon ürünü ile sonuçlanır. Numune daha sonra zıt boyanabilir ve kapak kaydırılabilir. Sonuçlar bir ışık kullanılarak yorumlanır olabilecek veya patofizyolojik süreçlerin ayırıcı tanısında yardımcı olabilir. belirli bir antijenle ilişkili olmayabilir.

Malzemeler ve yöntemler:

Sağlanan Reaktifler:

Ana Bilgisayar Kaynağı:Fare monoklonal

Türlerin Reaktivitesi:İnsan; diğer türler test edilmemiştir.

Klon:BC43

İzotip:IgG1 kappa

Protein Konsantrasyonu:Lota özel konsantrasyon için flakon etiketine bakın.

Spesifik IgG Konsantrasyonu: Biocare Teknik Desteğiyle İletişime Geçin

Özgüllük:HLA-B

Hücresel Yerleştirme: Hücre zarı

Yöntem:Affinity saflaştırılmış fare monoklonal

Sulandırma, Karıştırma, Seyreltme, Titrasyon:

Önceden seyreltilmiş antikor reaktif, yukarıda listelenen boyama sistemleriyle kullanım için optimum şekilde seyreltilir. Daha fazla seyreltme, antijen boyamasının kaybına neden olabilir. Daha fazla seyreltme, antijen boyamasının kaybına neden olabilir. Kullanıcının bu tür değişiklikleri doğrulaması gerekir. Doku işleme ve teknik prosedürlerdeki farklılıklar

Kullanıcının laboratuvarındaki değişiklikler, kurum içi kontrollerin düzenli olarak yapılmasını gerektiren sonuçlarda önemli değişkenliklere neden olabilir (bkz. Kalite Kontrol bölümü). Konsantre reaktifin yukarıdaki tabloda belirttiği gibi seyreltilmesi gerekir.

Bilinen Uygulamalar:

İmmünohistokimya (formalinle sabitlenmiş parafine gömülü dokular)

Şu Şekilde Sağlanır:Tamponlu salin solüsyonu, 5.9-7.4, bir protein taşıyıcı ve %0,1'den az sodyum azid koruyucu içeren. Ek ayrıntılar için Güvenlik Veri Sayfasına bakın.

Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Malzemeler ve Reaktifler:

Mikroskop pozitif yüklü kayar.

Pozitif ve negatif doku kontrolleri

Çöl Odası (veya benzeri Kurutma fırını)

Ksilen veya ksilen ikamesi

Etanol veya reaktif alkol

Gizlenme Odası (Düdüklü tencere)

Deiyonize veya damıtılmış su

Yıkama tamponu

Ön arıtma reaktifleri

Peroksidaz bloğu

Protein bloğu (isteğe bağlı)

Algılama probu ve polimer

Negatif kontrol reaktifleri

Kromojenler

Hematoksilen (karşı boya)

Mavileştirme reaktifi

Montaj ortamı

Lamel camı

Işık Mikroskobu (40-400X büyütme)

*Antikor ürününün konfigürasyonları yukarıdaki tabloda belirtilen cihazlarda kullanım için mevcuttur.

Depolama ve Stabilite:

2°C ile 8°C arasında saklayın. Ürün, bu koşullar altında saklandığında flakon etiketi üzerinde yazılı olan son kullanma tarihine kadar stabildir. Son kullanma tarihinden sonra kullanmayınız. Belirtilenlerin dışındaki koşullar altında depolama doğrulanmalıdır. Seyreltilmiş reaktifler derhal kullanılmalıdır; kalan reaktif 2°C ila 8°C'de saklayın. Kullanıcı tarafından seyreltilen reaktifin stabilitesi Biocare tarafından belirlenmemiştir.

Pozitif ve negatif kontroller tüm hasta örnekleriyle aynı anda çalıştırılmalıdır. Laboratuvar prosedürlerindeki değişikliklerle açıklanamayan beklenmedik bir lekelenme gözlemlenirse ve antikorla ilgili bir sorundan şüpheleniliyorsa, 1-800-542-2002 numaralı telefondan veya biocare.net adresinde sağlanan teknik destek bilgileri aracılığıyla Biocare Teknik Desteğiyle iletişime geçin.

Numune hazırlama:

Formalinle sabitlenmiş dokular Parafine gömülmeden önce kullanıma uygundur. Doku kesmeyi kolaylaştırmak ve mikrotom bıçaklarının zarar

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

146/150

IVD

TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Turkish

BIOCARE
M E D I C A L

görmesini önlemek için doku işlemeden önce kemik dokuların kireçten arındırılması gerekir.^{1,2}

Belirtilen antijen hedefini ifade eden uygun şekilde sabitlenmiş ve gömülü dokular serin bir yerde saklanmalıdır. 1988 tarihli Klinik Laboratuvar İyileştirme Yasası (CLIA), 42 CFR'de§493.1259(b) uyarınca "Laboratuvar boyalı slaytları, alındığı tarihten itibaren en az on yıl saklanmalıdır. numune bloklarını inceleme tarihinden itibaren en az iki yıl boyunca saklayın."

Dokuların Boyama Öncesi Tedavisi:

Aşağıda önerilen protokole göre Isı Kaynaklı Epitop Alma (HIER) işlemini gerçekleştirin. HIER'in IHC'den önce rutin kullanımının tutarsızlığı en aza indirdiği ve boyamayı standartlaştırdığı gösterilmiştir.^{4,5}

Uyarı ve Önlemler:

1. Bu antikor %0,1'den az sodyum azit içerir. %0,1'in altındaki konsantrasyonlar, ABD 29 CFR 1910.1200, OSHA Tehlike İletişimi ve EC Direktifi 91/155/EC'ye göre raporlanması gereken tehlikeli maddeler değildir. Sodyum azid (NaN₃) koruyucu olarak kullanıldığında yutulması halinde toksiktir. Sodyum azit, kurşun ve bakır tesisatlarla reaksiyona girerek son derece patlayıcı metal azitler oluşturabilir. İmha edildikten sonra, tesisatta azit birikmesini önlemek için bol miktarda suyla yıkayın. (Hastalık Kontrol Merkezi, 1976, Ulusal Mesleki Güvenlik ve Sağlık Enstitüsü, 1976)⁶
2. Tespitten önce ve sonra numuneler ve bunlara maruz kalan tüm materyaller, enfeksiyon bulaştırabilecekmiş gibi kullanılmalı ve uygun önlemler alınarak imha edilmelidir. Reaktifleri asla ağız yoluyla pipetlemeyin ve reaktiflerin ve numunelerin cilt ve mukoza zarlarına temasından kaçınin. Reaktifler veya numuneler hassas alanlarla temas ederse bol miktarda suyla yıkayın.⁷
3. Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonu spesifik olmayan boyamanın artmasına neden olabilir.
4. Belirtilenlerin dışındaki inkübasyon süreleri veya sıcaklıklar hatalı sonuçlar verebilir. Kullanıcının bu tür değişiklikleri doğrulaması gerekir.
5. Reaktif şişenin üzerinde yazılı olan son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
6. Önceden seyreltilmiş antikor reaktif kullanım için en uygun şekilde seyreltilir. Daha fazla seyreltme, antijen boyamasının kaybına neden olabilir.
7. Konsantrasyon antikor reaktifinin seyreltilmesi kullanımdan önce doğrulanmalıdır. Özel olarak önerilmeyen herhangi bir seyreltici nin de uyumluluk ve stabilite açısından doğrulanması gerekir.
8. SDS talep üzerine sağlanır ve <http://biocare.net> adresinde bulunur.

Kullanım için talimatlar:

HLA-B [BC43] için Önerilen Boyama Protokolleri:

IntelliPATH FLX ve manuel kullanım:

IntelliPATH FLX ve manuel kullanım için API3289, MACH 4 ile standartlaştırılmıştır tespit sistemi. Adımları yıkamak için TBS kullanın.

Peroxide Block:	Peroxidized 1 ile 5 dakika süreyle bloke edin.
Pretreatment:	Reveal Decloaker'ı kullanarak ısı alımını gerçekleştirin. Özel talimatlar için Reveal Decloaker veri sayfasına bakın.
Protein Block (Optional):	Arkaplan Punisher ile oda sıcaklığında 5-10 dakika inkübe edin.
Primary Antibody:	Oda sıcaklığında 30 dakika boyunca inkübe edin.
Detection:	Prob: İkincil bir polimer ile oda sıcaklığında 10 dakika boyunca inkübe edin. Polimer: Üçüncül bir polimer ile oda sıcaklığında 20 dakika boyunca inkübe edin.

Chromogen:	Biocare'in DAB – VEYA ile oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edin. Warp Red ile oda sıcaklığında 5-7 dakika inkübe edin.
Counterstain:	Hematoksilen ile karşıt boyama. Deiyonize su ile durulayın. Tacha'nın Bluing Solüsyonunu 1 dakika boyunca uygulayın. Deiyonize su ile durulayın.

ONCORE Pro Otomatik Slayt Boyama Sistemi:

OPAI3289'un ONCORE Pro ile kullanılması amaçlanmıştır. Özel kullanım talimatları için Kullanım Kılavuzuna bakın. Protokol Düzenleyicideki protokol parametreleri aşağıdaki gibi programlanmalıdır:	
Protocol Name:	HLA-B
Protocol Template (Description):	Bayan HRP Şablonu 1
Dewaxing (DS Buffer Option):	DS2-50
Antigen Retrieval (AR Option):	AR2, düşük pH; 101C
Block Option:	Tampon
Reagent Name, Time, Temp.:	HLA-B, 60 dakika, 25°C

Ventana BenchMark ULTRA:

AVI3289, BenchMark ULTRA ile kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Özel kullanım talimatları için Kullanım Kılavuzuna bakın. Önerilen protokol parametreleri aşağıdaki gibidir:	
Template/Detection:	OptiView DAB IHC
Pretreatment Protocol:	CC1 32 dakika
Peroxidase:	Birincil Öncesi Peroksidaz İnhibitörü
Primary Antibody:	8 dakika, 36°C

Q Serisi – Leica BOND-III için:

ALI3289'un Leica BOND-III ile kullanılması amaçlanmıştır. Özel kullanım talimatları için Kullanım Kılavuzuna bakın. Önerilen protokol parametreleri aşağıdaki gibidir:	
Chromogen Staining Option	DAB
Protocol Name:	IHC Protokolü F
Detection:	Bond Polimer Rafinasyonu
HIER:	ER1 ile 10 dakika
Peroxide Block:	5 dakika
Marker (Primary Antibody):	15 dakika
Post Primary:	8 dakika
Polymer:	8 dakika
Mixed Chromogen Refine:	10 dk
Hematoxylin:	5 dakika

Kalite kontrol:

İmmünohistokimya Testlerinin Tasarımı ve Uygulanmasına ilişkin CLSI Kalite Standartlarına bakın; Onaylanmış Kılavuz-İkinci Baskı (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA ABD (www.clsi.org). 2011*

Pozitif Doku Kontrolü: Bademcik

Harici Pozitif kontrol malzemeleri, hasta numunesi/numuneleri ile aynı şekilde mümkün olan en kısa sürede sabitlenmiş, işlenmiş ve gömülmüş taze numunelerden oluşmalıdır. Pozitif doku kontrolleri, doğru hazırlanmış

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Turkish

BIOCARE
M E D I C A L

dokuların ve uygun boyama tekniklerinin göstergesidir. Her boyama işlemine, her test koşulu seti için bir pozitif dış doku kontrolü dahil edilmelidir.

Harici pozitif kontrol materyalleri için kullanılan dokular, zayıf pozitif boyama veren, iyi karakterize edilmiş düşük pozitif hedef aktivitesi seviyelerine sahip hasta numunelerinden seçilmelidir. Harici pozitif kontroller için düşük pozitiflik düzeyi, birincil antikor duyarlılığında istikrarsızlıktan veya IHC metodolojisindeki sorunlardan kaynaklanan hafif değişikliklerin tespit edilmesini sağlamak için tasarlanmıştır. Ticari olarak temin edilebilen doku kontrol slaytları veya hasta numunesinden/numunelerinden farklı şekilde işlenmiş numuneler yalnızca reaktif performansını doğrular ve doku hazırlığını doğrulamaz.

Bilinen pozitif doku kontrolleri, hasta örneklerine yönelik spesifik bir teşhisin formüle edilmesine yardımcı olmak yerine, yalnızca işlenmiş dokuların ve test reaktiflerinin doğru performansını izlemek için kullanılmalıdır. Pozitif doku kontrolleri pozitif boyama göstermezse test örnekleriyle elde edilen sonuçlar geçersiz sayılmalıdır.

Negatif Doku Kontrolü:

IHC birincil antikorunun spesifikliğini doğrulamak için her boyama çalışmasında hasta numunesi/numuneleri ile aynı şekilde sabitlenmiş, işlenmiş ve gömülmüş bir negatif doku kontrolü (HLA-B negatif olarak bilinen) kullanın. hedef antijenin gösterilmesi ve spesifik arka plan boyamasının bir göstergesinin sağlanması (yanlış pozitif boyama). Ayrıca çoğu doku kesitinde mevcut olan farklı hücre tiplerinin çeşitliliği, IHC'nin performansını doğrulamak için laboratuvarcı tarafından dahili negatif kontrol alanları olarak kullanılacaktır özellikler. Negatif doku için kullanılacak örnek türleri ve kaynakları kontroller Performans Özellikleri bölümünde listelenmiştir.

Negatif doku kontrolünde spesifik boyama (yanlış pozitif boyama) meydana gelirse hasta numuneleriyle elde edilen sonuçlar geçersiz sayılmalıdır.

Spesifik Olmayan Negatif Reaktif Kontrolü:

Spesifik olmayan boyamayı değerlendirmek için her hasta örneğinin bir bölümü ile birincil antikor yerine spesifik olmayan bir negatif reaktif kontrolü kullanın ve antijen bölgesindeki spesifik boyamanın daha iyi yorumlanmasına izin verir. İdeal olarak bir negatif reaktif kontrolü, birincil antikorla aynı şekilde doku kültürü süpernatantından üretilen bir HLA-B [BC43] IgG1 Kappa antikorunu içerir ancak aynı matris/gözetli içinde insan dokularıyla hiçbir spesifik reaktivite sergilemez. Biocare antikorunu. Negatif kontrol antikorunu, seyreltilmiş primer ile aynı immünooglobulin veya protein konsantrasyonuna seyreltin Aynı seyreltici kullanılarak antikor. Fetal buzağı serumu işlemde sonra saf antikorda kalırsa, seyreltilmiş seruma eşdeğer bir protein konsantrasyonunda fetal dana serumu Aynı seyrelticideki birincil antikor da kullanıma uygundur. (Sağlanan reaktif bakın). Tek başına seyreltici, daha önce açıklanan negatif reaktif kontrollerine daha az tercih edilen bir alternatif olarak kullanılabilir. Negatif reaktif kontrolüne yönelik kuluçka süresi, birincil antikorunkine karşılık gelmelidir.

Seri bölümlerde birkaç antikordan oluşan paneller kullanıldığında, bir slaydın negatif boyama alanları, diğer antikorlar için negatif/spesifik olmayan bağlanma arka planı kontrolü görevi görebilir. Endojen enzim aktivitesini veya enzimlerin spesifik olmayan bağlanmasını spesifik immünoreaktiviteden ayırt etmek için, ilave hasta dokuları sırasıyla substrat-kromojen veya enzim kompleksleri (PAP, avidin-biyotin, streptavidin) ve substrat-kromojen ile özel olarak boyanabilir.

Test Doğrulaması:

Bir antikorun veya boyama sisteminin bir teşhis prosedüründe ilk kullanımından önce kullanıcı, antikorun bilinen pozitif ve negatif dokuları temsil eden bilinen immünohistokimyasal performans özelliklerine sahip bir dizi

kurum içi doku üzerinde test ederek antikorun özgüllüğünü doğrulamalıdır. Ürünün bu bölümünde daha önce özetlenen kalite kontrol prosedürlerine ve CAP Sertifikasyon Programının kalite kontrol tavsiyelerine bakın.* İmmünohistokimya ve/veya NCCLS IHC kılavuzu için**). Bu kalite kontrol prosedürleri her yeni antikor lotu için veya test parametrelerinde her değişiklik olduğunda tekrarlanmalıdır. Performans Özellikleri Bölümünde listelenen dokular test doğrulaması için uygundur.

Sorun giderme:

Sağlanan veri sayfasına göre antikora özel protokol önerilerini izleyin. Tipik olmayan sonuçlar ortaya çıkarsa 1-800-542-2002 numaralı telefondan Biocare Teknik Desteğiyle iletişime geçin.

Boyamanın Yorumlanması:

Pozitif Doku Kontrolü:

Belirtilen antikorla boyanmış pozitif doku kontrolü, tüm reaktiflerin düzgün çalıştığından emin olmak için ilk önce incelenmelidir. Hedef hücrelerin uygun şekilde boyanması (yukarıda belirtildiği gibi) pozitif reaktivitenin göstergesidir. Pozitif doku kontrolleri pozitif boyama göstermezse test numuneleriyle elde edilen sonuçlar geçersiz sayılmalıdır. Reaksiyon ürününün rengi, kullanılan substrat kromojenlerine bağlı olarak değişebilir. Beklenen renk reaksiyonları için alt tabaka paketindeki eklere bakın. Ayrıca boyama yönteminin varyasyonlarında metakromazi gözlemlenebilir.¹¹ Bir karşıt boyama kullanıldığında, kuluçka süresine ve kullanılan karşıt boyamanın gücüne bağlı olarak karşıt boyama, hücre çekirdeklerinin renklenmesine neden olacaktır. Aşırı veya eksik karşıt boyama, sonuçların doğru şekilde yorumlanmasını tehlikeye atabilir. Önerilen karşıt boyama için protokol(ler)e bakın.

Negatif Doku Kontrolü:

Hedef antijenin birincil antikor tarafından etiketlenmesinin özgüllüğünü doğrulamak için pozitif doku kontrolünden sonra negatif doku kontrolü incelenmelidir. Negatif doku kontrolünde spesifik boyamanın olmaması, hücrelere/hücresele bileşenlere karşı antikor çapraz reaktivitesinin olmadığını doğrular. Negatif dış doku kontrolünde spesifik boyama (yanlış pozitif boyama) meydana gelirse hasta numunesiyle elde edilen sonuçlar geçersiz sayılmalıdır.

Spesifik olmayan boyama, mevcutsa genellikle yaygın bir görünüme sahiptir. Aşırı formalinle fikse edilmiş dokulardan alınan kesitlerde ara sıra bağ dokusunda lekelenme de gözlemlenebilir. Boyama sonuçlarının yorumlanması için sağlam hücreleri kullanın. Nekrotik veya dejeneren hücreler sıklıkla spesifik olmayan bir şekilde boyanır.

Hasta Dokusu:

Belirtilen antikorla boyanmış hasta numunelerini inceleyin son. Pozitif boyama yoğunluğu, negatif reaktif kontrolünün spesifik olmayan arka plan boyaması bağlamında değerlendirilmelidir. Herhangi bir immünohistokimyasal testte olduğu gibi, negatif sonuç, antijenin test edilen hücrelerde/dokuda bulunmadığı anlamına değil, antijenin tespit edilmediği anlamına gelir. Gerekirse yanlış negatif reaksiyonları tanımlamak için bir antikor paneli kullanın.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

148/150

IVD

TP v3 (12/15/2021)

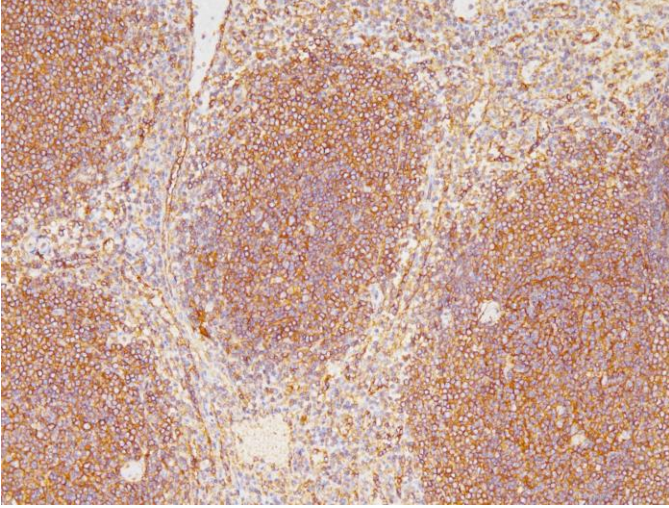
Tel: 800-799-9499 | www.biocare.net | Fax: 925-603-8080

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Turkish

BIOCARE
M E D I C A L



HLA-B [BC43] antikorlu ile boyanmış dalak

Belirtilen antikor immünoreaktivitesi ile ilgili spesifik bilgiler için Özet ve Açıklama, Sınırlamalar ve Performans Özellikleri'ne bakın.

Sınırlamalar:

Genel Sınırlamalar:

1. İçin laboratuvar ortamında teşhis Kullanımı
2. Bu ürün yalnızca profesyonel kullanım içindir: İmmünohistokimya, uygun reaktiflerin seçiminde özel eğitimden oluşan çok adımlı bir teşhis sürecidir; doku seçimi, fiksasyonu ve işlenmesi; IHC slaytının hazırlanması; ve boyama sonuçlarının yorumlanması.
3. Doku boyaması, boyamadan önce dokunun işlenmesine ve işlenmesine bağlıdır. Uygun olmayan sabitleme, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit alma veya diğer doku veya sıvıların kontaminasyonu; artefaktlara, antikor sıkışmasına veya yanlış negatif sonuçlara neden olabilir. Tutarsız sonuçlar, sabitleme ve gömme yöntemlerindeki farklılıklara veya doku içindeki doğal düzensizliklere bağlı olabilir.¹²
4. Aşırı veya eksik boyama, sonuçların doğru şekilde yorumlanmasını tehlikeye atabilir.
5. Herhangi bir pozitif veya negatif boyamanın klinik yorumu, klinik sunum, morfoloji ve diğer histopatolojik kriterler kapsamında değerlendirilmelidir. Herhangi bir pozitif veya negatif boyamanın klinik yorumu, uygun pozitif ve negatif iç ve dış kontrollerin yanı sıra diğer teşhis testlerinin kullanıldığı morfolojik çalışmalarla tamamlanmalıdır. Nihai IHC hazırlığını hazırlamak ve yorumlamak için kullanılan tüm adımları yorumlamak, IHC antikorlarının, reaktiflerinin ve yöntemlerinin doğru kullanımına aşina olan nitelikli bir patologun sorumluluğundadır.
6. Belirli bir uygulama için optimum antikor seyreltmesi ve protokolleri farklılık gösterebilir. Bunlar arasında, bunlarla sınırlı olmamak üzere, fiksasyon, ısı geri alma yöntemi, inkübasyon süreleri, doku kesiti kalınlığı ve kullanılan tespit kiti yer alır. Bu benzersiz reaktiflerin üstün hassasiyeti nedeniyle, önerilen inkübasyon süreleri ve listelenen titreler, sonuçlar farklılık gösterebileceğinden diğer tespit sistemleri için geçerli değildir. Veri sayfası önerileri ve protokolleri Biocare ürünlerinin özel kullanımına dayanmaktadır. Sonuçta optimal koşulları belirlemek araştırmacının sorumluluğundadır.
7. Bu ürünün akış sitometrisinde kullanılması amaçlanmamıştır. Akış sitometrisi için performans özellikleri belirlenmemiştir.
8. Hepatit B virüsü ile enfekte olmuş ve hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) içeren kişilerden alınan dokular, yabancı turpu peroksidazıyla spesifik olmayan boyama sergileyebilir.¹³

9. Reaktifler daha önce test edilmemiş dokularda beklenmeyen reaksiyonlar gösterebilir. Test edilen doku gruplarında bile beklenmeyen reaksiyonların olasılığı, neoplazmalarda veya diğer patolojik dokularda antijen ekspresyonunun biyolojik değişkenliği nedeniyle tamamen ortadan kaldırılamaz.¹⁴ 1-800-542-2002 numaralı telefondan veya biocare.net'te sağlanan teknik destek bilgileri aracılığıyla, belgelenmiş beklenmeyen reaksiyon(lar)la birlikte Biocare'in Teknik Desteğiyle iletişime geçin.
10. Bloklama adımlarında kullanılan ikincil antiserumlarla aynı hayvan kaynağından alınan normal/immün olmayan serumlar, otoantikolar veya doğal antikolar nedeniyle yanlış negatif veya yanlış pozitif sonuçlara neden olabilir.
11. Proteinlerin veya substrat reaksiyon ürünlerinin immünojenik olmayan bağlanması nedeniyle yanlış pozitif sonuçlar görülebilir. Ayrıca kullanılan immün boyanın türüne bağlı olarak yabancı peroksidaz aktivitesi (eritrositler), endojen peroksidaz aktivitesi (sitokrom C) veya endojen biyotin (örn. karaciğer, meme, beyin, böbrek) nedeniyle de kaynaklanabilir.¹²

Ürüne Özel Sınırlamalar:

Bilinen herhangi bir ek sınırlama yoktur.

Performans Özellikleri:

Duyarlılık, özgüllük ve çapraz reaktivite sırasıyla Tablo 1 ve 2'de özetlenmiştir.

Yeniden üretilebilirlik:

Antikor performansının tekrarlanabilirliği, seçilmiş normal ve tümör dokusunun çeşitli günlerde ve çeşitli cihazlarda birden fazla operatörle test edilmesiyle doğrulandı. Seçilen dokuların boyanması tutarlıydı ve beklendiği gibi yapıldı.

Boyamanın çalışma içi tekrarlanabilirliği, aynı dokuyu içeren beş dokunun birden fazla alet üzerinde boyanması yoluyla belirlendi.

Boyamanın çalışmalar arası tekrarlanabilirliği, aynı dokuyu içeren beş slaytın aynı cihazda üç gün/çalışmada boyanması yoluyla belirlendi. Tüm testler, Biocare'in dahili puanlama yönergelerinde tanımlandığı şekilde aynı puanlarla geçti.

İmmünoreaktivite:

Aşağıdaki pozitif ve negatif immünoreaktivite türleri aşağıdaki Tablo 1 ve 2'de gösterilmiştir.

Aşağıda verilen liste kapsamlı değildir ancak belirtilen antikorla gözlemlenen immünoreaktivite türlerini karakterize eder.

Beklenen Sonuçların Özeti:

Bu antikorun, tüm lenfoma türleri ve normal insan dokusu da dahil olmak üzere, üzerinde test edildiği tüm doku türleriyle immünoreaktif olduğu bulundu. Boyama ağırlıklı olarak membranözdür ancak yüksek ekspresyon numunelerinde sitoplazmik de görülebilir. Boyanma ağırlıklı olarak endotel hücrelerde ve lenfositlerde bulunur ve bazı dokulardaki epitelial hücrelerde daha düşük prevalansa sahiptir.

Tablo 1: Duyarlılık ve özgüllük, formalinle sabitlenmiş, parafine gömülmüş hastalıklı dokuların test edilmesiyle belirlendi.

Tissue	Positive Cases	Total Cases
Diffuse B cell Lymphoma	15	15
Mycosis fungoides	1	1

Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

149/150

IVD

TP v3 (12/15/2021)

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

HLA-B [BC43]

Concentrated and Prediluted Mouse Monoclonal Antibody
901-3289-090623

Turkish

BIOCARE
M E D I C A L

Diffuse T cell Lymphoma	5	5
Hodgkin's Lymphoma	10	10
Diffuse Large B Cell Lymphoma	6	6

Tablo 2:Doku çapraz reaktivitesi formalinle sabitlenmiş, parafine gömülmüş normal dokuların test edilmesiyle belirlendi.

Doku	Olumlu Durumlar	Toplam Vakalar
Beyin	5	6
Beyincik	3	3
Adrenal	3	3
Yumurtalık	2	3
Pankreas	3	3
Lenf Düğümü	3	3
Trakea	3	3
Testis	5	5
Tiroid	3	3
Göğüs	2	2
Dalak	4	4
Bademcik	3	3
Timus	3	3
Kemik iliği	3	3
Akciğer	3	3
Kalp	3	3
Yemek borusu	3	3
Karın	2	3
İnce bağırsak	3	3
Kolon	3	3
Karaciğer	3	3
Tükürük bezi	3	3
Böbrek	3	3
Prostat	3	3
Rahim	3	3
Serviks, rahim ağzı	3	3
İskelet kası	2	3
Deri	2	2
Periferik Sinir	3	3
Astar Hücreleri	2	2
Göz	3	3
gırtlak	3	3

Sorun giderme:

- Hiçbir slaytta lekelenme yok – Uygun pozitif kontrol dokusunun, antikorun ve tespit ürünlerinin kullanıldığını belirlemek için kontrol edin.
- Tüm slaytların zayıf boyanması – Uygun pozitif kontrol dokusunun, antikorun ve tespit ürünlerinin kullanıldığını belirlemek için kontrol edin.
- Tüm slaytların aşırı arka planı – Yüksek seviyelerde endojen biyotin (biyotin bazlı tespit ürünleri kullanılıyorsa), kromojeni renkli son ürüne

dönüştüren endojen HRP aktivitesi (peroksidaz bloğu kullanın) veya aşırı spesifik olmayan protein etkileşimi (bir protein kullanın) olabilir serum veya kazein bazlı bloke etme solüsyonu gibi blokaj).

- Doku bölümleri inkübasyon sırasında slaytları yıkar – Pozitif yüklü olduklarından emin olmak için slaytları kontrol edin.
- Spesifik boyama çok koyu – Slayda uygun antikor titresinin uygulanıp uygulanmadığını ve ayrıca tüm reaktifler için uygun inkübasyon sürelerini belirlemek için protokolü kontrol edin. Ek olarak, kuluçka adımları tamamlandıktan sonra fazla reaktifleri çıkarmak için protokolün yeterli yıkama adımına sahip olduğundan emin olun.

Referanslar:

- Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
- Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
- Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57 FR 7163, February 28, 1992.
- Shi S-R, Cote RJ, Taylor CR. J Histotechnol. 1999 Sep;22(3):177-92.
- Taylor CR, et al. Biotech Histochem. 1996 Jan;71(5):263-70.
- Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.
- CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011
- College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
- O'Leary TJ, Edmonds P, Floyd AD, Mesa-Tejada R, Robinowitz M, Takes PA, Taylor CR. Quality assurance for immunocytochemistry; Proposed guideline. MM4-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Wayne, PA. 1997;1-46.
- Koretzik K, Lemain ET, Brandt I, and Moller P. Metachromasia of 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) and its prevention in Immunoperoxidase techniques. Histochemistry 1987; 86:471-478.
- Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
- Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. AmJ Clin Path 1980; 73:626.
- Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.
- Olson E, Geng J, Raghavan M. Polymorphisms of HLA-B: influences on assembly and immunity. Curr Opin Immunol. 2020 Jun;64:137-145.
- Rizvi SM, Salam N, Geng J, et al. Distinct assembly profiles of HLA-B molecules. J Immunol. 2014 Jun 1;192(11):4967-76.

Ultraline antikorlar yalnızca Biocare Medical LLC tarafından geliştirilmiştir ve Biocare antikorlarının Ventana Medical Systems, Inc veya Roche tarafından onaylandığı veya onaylandığı anlamına gelmez. Biocare, Ventana ve Roche'un hiçbir şekilde bağlı, ilişkili veya ilişkili değildir. Ventana®, BenchMark®, ultraView ve OptiView Roche'un ticari markalarıdır.

Q Serisi antikorlar yalnızca Biocare Medical LLC tarafından geliştirilmiştir ve Biocare antikorlarının Leica Biosystems tarafından onaylandığı veya onaylandığı anlamına gelmez. Biocare ve Leica Biosystems'in hiçbir şekilde bağlantılı, ilişkili veya ilişkili değildir. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX ve BOND-III, Leica Biosystems'in ticari markalarıdır.

 Biocare Medical

60 Berry Drive
Pacheco, CA 94553

USA

150/150

IVD

TP v3 (12/15/2021)

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