

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

English

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Intended Use:

For *in vitro* Diagnostic Use

The ONCORE Pro Hematoxylin is intended for use by laboratory professional users for the visualization of cellular nuclei in formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissue sections in manual or automated procedures. It is used as a counterstain in immunohistochemical (IHC) and chromogenic in situ hybridization (CISH) applications. It may also be used for routine Hematoxylin and Eosin staining. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies and proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

## Summary and Explanation:

ONCORE Pro Hematoxylin is water-based and is specially formulated for counterstaining on Biocare's ONCORE Pro Automated Stainer. ONCORE Pro Hematoxylin stains nuclei sky-blue and provides high contrast staining for chromogenic staining procedures.

## Principle of Procedure:

This counterstain reagent when applied to pretreated formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections stains the cellular nuclei in tissue sections and cellular preparations.

## Reagents Provided:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Known Applications:

Immunohistochemistry (formalin-fixed paraffin-embedded tissues)

## Supplied As:

Hematoxylin Solution. See Safety Data Sheet for additional details.

## Reconstitution, Dilution and Mixing:

The ONCORE Pro Hematoxylin is optimized for use with Biocare antibodies and ancillary reagents and ready to use with Biocare IHC antibodies and ancillary reagents. No reconstitution, mixing, dilution, or titration is required.

## Materials and Reagents Required but Not Provided:

Microscope slides positively charged.  
Desert Chamber\* (Drying oven)  
Positive and negative tissue controls  
Xylene (Could be substituted with xylene substitute\*)  
Ethanol or reagent alcohol  
Decloaking Chamber\* (Pressure cooker)  
Deionized or distilled water  
Wash buffer\*  
Pretreatment reagents\*  
Enzyme digestion\*  
Avidin-Biotin Blocking Kit\* (Labeled streptavidin kits only)  
Peroxidase block\* (Optional)  
Protein block\* (Optional)  
Primary antibody\*  
Negative control reagents\*  
Detection kits\*  
Chromogens\*  
Bluing reagent\*

Mounting medium\*

ONCORE Pro Automated Staining Platform\*

\* Biocare Medical Products: Refer to the Biocare Medical website located at <http://biocare.net> for information regarding catalog numbers and ordering. Certain reagents listed above are based on specific applications and detection system used.

## Storage and Stability:

Store at room temperature away from light. 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. The kit reagent(s) are ready-to-use and should not be diluted. The stability of user diluted reagent has not been established by Biocare.

## 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.<sup>1,2</sup>

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."<sup>3</sup>

## 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.<sup>4,5</sup>

## Warning and Precautions:

1. Kit reagents contain less than 0.05% ProClin 300 and/or less than 1% ProClin 950. Wear gloves and protective clothing and take reasonable precautions when handling as ProClin is classified as an irritant and may cause skin contact sensitization. Avoid contact with eyes, skin, and mucous membranes.
2. Handle materials of human or animal origin as potentially biohazardous and dispose of such materials with proper precautions. In the event of exposure, follow the health directives of the responsible authorities where used.<sup>6,7</sup>
3. 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.<sup>8</sup>
4. Microbial contamination of reagents may result in an increase in nonspecific staining.
5. Incubation times or temperatures other than those specified may give erroneous results. The user must validate any such change.
6. Do not use reagent after the expiration date printed on the vial.
7. The micro-polymer detection kit reagent(s) are optimized and ready to use with Biocare antibodies and ancillary reagents. Refer to the primary antibody and other ancillary reagent instructions for use for recommended protocols and conditions for use.
8. Follow local and/or state authority requirements for method of disposal.
9. The SDS is available upon request and is located at <http://biocare.net>.
10. Report any serious incidents related to this device by contacting the local

Biocare representative and the applicable competent authority of the Member State or country where the user is located.


# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

English

**BIOCARE**  
M E D I C A L

This ONCORE Pro Hematoxylin contains components classified as indicated in the table below in accordance with the Regulation (EC) No. 1272/2008

Hazard	Code	Hazard Statement
	H315 H319	Causes skin irritation. Causes serious eye irritation.

## Instructions for Use:

The ONCORE Pro Hematoxylin reagents are optimized for use with Biocare antibodies and ancillary reagents. Refer to the primary antibody information for use for recommended protocols and conditions for use. Incubation times and temperatures will vary depending on the specific antibody protocol followed.

When using an automated staining instrument, consult the specific instrument operator manual and instructions for use for operating parameters.

## Instructions for Use:

ONCORE Pro Hematoxylin is provided in vials ready for use on the ONCORE Pro Automated Slide Stainer. Uncap the vial and place in the ONCORE Pro reagent tray. The ONCORE Pro Automated Slide Stainer will apply reagent as required in the selected protocol. Refer to the appropriate antibody data sheet for the recommended staining protocol. Refer to the ONCORE Pro Automated Slide Staining System User Manual for detailed instructions on instrument operation and additional protocol options.

## Technical Notes:

1. Filter product with a 0.4-micron filter if particulate is seen.
2. Biocare Medical uses only stains that are certified by the Biological Stain Commission. ONCORE Pro Hematoxylin is specially formulated to eliminate the necessity for differentiation of the section.

NOTE: The biggest objection to Mayer's hematoxylin as used in the past, has been that stained slides often fade after 1-3 years. This problem can be eliminated, however, when slides are washed after hematoxylin in running water for a minimum of 3-4 minutes.

NOTE: Biocare's research studies show pH of tap and DI water for rinsing slides can influence staining. pH can change from acidic to basic seasonally in different regions of the country. It has been further reported that there have been changes in tap water from the morning to the afternoon in some states. Long rinsing times after bluing may differentiate out Hematoxylin. We have modified our rinse time to 3-4 minutes, instead of the previous 7-10 minutes.

## 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). 2011<sup>9</sup>

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 reagent is suspected, contact Biocare's Technical Support at 1-800-542-2002 or via the technical support information provided on biocare.net.

## Positive Tissue Control:

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

## Negative Tissue Control:

Use a negative tissue control 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 antibody produced and prepared (i.e., diluted to same concentration using same diluent) for use 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. 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 Program<sup>10</sup> for Immunohistochemistry and/or the NCCLS IHC guideline<sup>11</sup>. 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 data sheet provided. If atypical results occur, contact Biocare's Technical Support at 1-800-542-2002.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

English

**BIOCARE**  
M E D I C A L

## **Interpretation of Staining:**

A primary antibody works in conjunction with ancillary reagents to produce a colored reaction at the antigen sites localized by the primary antibody. Background block ancillary reagents assist with reducing non-specific background staining to facilitate interpretation of the antibody-antigen specific staining reaction. Prior to interpretation of patient results, the staining of controls must be evaluated by a qualified pathologist. Negative controls are evaluated and compared to stained slides to ensure any staining observed is not a result of nonspecific interactions.

## **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.<sup>12</sup>

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.

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

## **Limitations:**

### **General Limitations:**

1. For *in vitro* diagnostic (IVD) 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 processing; preparation of the IHC slide; and interpretation of the staining results.
3. For use by physician prescription only. (Rx Only)
4. 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.<sup>12</sup>

5. Excessive or incomplete counterstaining may compromise proper interpretation of results.
6. 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.
7. The optimum protocols for a specific application can vary. These include, but are not limited to fixation, heat-retrieval method, incubation times, antibody dilution, tissue section thickness and detection kit used. Refer to the primary antibody and other ancillary reagent instructions for use for recommended protocols and conditions for use. 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.
8. This product is not intended for use in flow cytometry. Performance characteristics have not been determined for flow cytometry.
9. Tissues from persons infected with hepatitis B virus and containing hepatitis B surface antigen (HBsAg) may exhibit nonspecific staining with horseradish peroxidase.<sup>14</sup>
10. 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.<sup>15</sup> 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).
11. 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.
12. 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.<sup>13</sup>
13. A negative result means that the antigen was not detected, not that the antigen was absent in the cells or tissue examined.

### **Product Specific Limitations:**

*No additional product specific limitations.*

### **Performance Characteristics:**

Staining was performed using protocols provided in the antibody specific instructions for use or as specified. Sensitivity and specificity of staining was evaluated across a range of normal and neoplastic tissue types evaluated during development of primary antibodies.

### **Reproducibility:**

The reproducibility of Biocare's counterstain reagents is verified through a measurement of intermediate precision in which various reagent lots were tested over an extended period of time using various operators, analysts, reagent lots, tissue samples, and equipment. The staining obtained for each detection reagent evaluated was consistent and performed as expected.

### **Troubleshooting:**

1. No staining of any slides – Check to determine appropriate positive control tissue, antibody, and detection products have been used. Check for incomplete or improper wax removal or pretreatment.
2. Weak staining of all slides – Check to determine appropriate positive control tissue, antibody, and detection products have been used.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

English

**BIOCARE**  
M E D I C A L

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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. 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.
9. CLSI *Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2)* CLSI Wayne, PA USA ([www.clsi.org](http://www.clsi.org)). 2011
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. 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.
12. 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.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. *Lab Med* 1983; 14:767.
14. 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.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Dutch

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Beoogd gebruik:

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik

De ONCORE Pro Hematoxylin is bedoeld voor gebruik door professionele laboratoriumgebruikers voor de visualisatie van cellulaire kernen in in formale gefixeerde, in paraffine ingebedde (FFPE) weefselcoupes bij handmatige of geautomatiseerde procedures. Het wordt gebruikt als tegenkleuring bij immunohistochemische (IHC) en chromogene *in situ* hybridisatie (CISH) toepassingen. Het kan ook worden gebruikt voor routinematige hematoxyline- en eosinekleuring. De klinische interpretatie van eventuele kleuringen of de afwezigheid ervan moet worden aangevuld met morfologisch onderzoek en goede controles, en moet door een gekwalificeerde patholoog worden geëvalueerd binnen de context van de klinische geschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests.

## Samenvatting en uitleg:

ONCORE Pro Hematoxyline is op waterbasis en is speciaal ontwikkeld voor tegenkleuring op de ONCORE Pro Automated Stainer van Biocare. ONCORE Pro Hematoxyline kleurt kernen hemelsblauw en zorgt voor kleuring met hoog contrast voor chromogene kleuringsprocedures.

## Principe van procedure:

Wanneer dit tegenkleuringsreagens wordt aangebracht op voorbehandelde, met formale gefixeerde, in paraffine ingebedde weefselcoupes, kleurt het de celkernen in weefselcoupes en cellulaire preparaten.

## Geleverde reagentia:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Bekende toepassingen:

Immunohistochemie (formale gefixeerde in paraffine ingebedde weefsels)

## Geleverd als:

Hematoxyline-oplossing. Zie veiligheidsinformatieblad voor aanvullende details.

## Reconstitutie, verdunning en mengen:

De ONCORE Pro Hematoxylin is geoptimaliseerd voor gebruik met Biocare-antilichamen en hulpreagentia en klaar voor gebruik met Biocare IHC-antilichamen en hulpreagentia. Er is geen reconstitutie, menging, verdunning of titratie vereist.

## Vereiste maar niet meegeleverde materialen en reagentia:

Objectglasjes positief geladen.  
Desert Chamber\* (droogoven)  
Positieve en negatieve weefselcontroles  
Xyleen (kan worden vervangen door xyleensubstituut\*)  
Ethanol of reagensalcohol  
Onthullingskamer\* (Snelkookpan)  
Gedeïoniseerd of gedestilleerd water  
Wasbuffer\*  
Voorbehandelingsreagentia\*  
Enzymvertering\*

Avidin-Biotin Blocking Kit\* (alleen gelabelde streptavidine-kits)

Peroxidaseblok\* (Optioneel)

Eiwitblok\* (Optioneel)

Primair antilichaam\*

Negatieve controle reagentia\*

Detectiekits\*

Chromogenen\*

Blauwingsreagens\*

Montagemedium\*

ONCORE Pro geautomatiseerd kleuringsplatform\*

\* Biocare Medical-producten: raadpleeg de Biocare Medical-website op <http://biocare.net> voor informatie over catalogusnummers en bestellen. Bepaalde hierboven vermelde reagentia zijn gebaseerd op een specifieke toepassing en een gebruikt detectiesysteem.

## Opslag en stabiliteit:

Bewaren bij kamertemperatuur, weg van licht. Het product is stabiel tot de vervaldatum die op het etiket van de injectieflacon is gedrukt, wanneer het onder deze omstandigheden wordt bewaard. Niet gebruiken na de vervaldatum. Opslag onder andere dan de gespecificeerde omstandigheden moet worden geverifieerd. De reagens(s) uit de kit zijn gebruiksklaar en mogen niet worden verdund. De stabiliteit van door de gebruiker verdund reagens is niet vastgesteld door Biocare.

## Monstervoorbereiding:

Weefsels gefixeerd in formale zijn geschikt voor gebruik voorafgaand aan het inbedden in paraffine. Botweefsel moet voorafgaand aan weefselverwerking worden ontkalkt om het snijden van weefsel te vergemakkelijken en schade aan microtoombladen te voorkomen.<sup>1,2</sup>

Correct 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 in 42 CFR§493.1259(b) dat "Het laboratorium gekleurde objectglasjes ten minste tien jaar vanaf de datum van onderzoek en bewaar proefblokken ten minste twee jaar vanaf de datum van onderzoek."<sup>3</sup>

## Behandeling van weefsels voorafgaand aan kleuring:

Voer Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) uit volgens het onderstaande aanbevolen protocol. Er is aangetoond dat het routinematige gebruik van HIER voorafgaand aan IHC inconsistentie minimaliseert en kleuring standaardiseert.<sup>4,5</sup>

## Waarschuwing en voorzorgsmaatregelen:

1. Kitreagentia bevatten minder dan 0,05% ProClin 300 en/of minder dan 1% ProClin 950. Draag handschoenen en beschermende kleding en neem redelijke voorzorgsmaatregelen bij het hanteren, aangezien ProClin geclassificeerd is als irriterend en huidcontactsensibilisatie kan veroorzaken. Vermijd contact met ogen, huid en slijmvliezen.
2. Behandel materialen van menselijke of dierlijke oorsprong als potentieel biologisch gevaarlijk en voer dergelijke materialen met de juiste voorzorgsmaatregelen af. Volg in geval van blootstelling de gezondheidsrichtlijnen van de verantwoordelijke autoriteiten waar het wordt gebruikt.<sup>6,7</sup>
3. Specimens, voor en na fixatie, en alle materialen die eraan worden blootgesteld, moeten worden behandeld alsof ze een infectie kunnen overdragen en moeten met de juiste voorzorgsmaatregelen worden verwijderd. Pipetteer reagentia nooit met de mond en vermijd contact met de huid en slijmvliezen met reagentia en monsters. Als reagentia of monsters in contact komen met gevoelige gebieden, was deze dan met een ruime hoeveelheid water.<sup>8</sup>
4. Microbiële verontreiniging van reagentia kan resulteren in een toename van niet-specifieke kleuring.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923


Dutch

**BIOCARE**  
M E D I C A L

5. Andere incubatietijden of -temperaturen dan gespecificeerd kunnen foutieve resultaten opleveren. De gebruiker moet een dergelijke wijziging valideren.
6. Gebruik het reagens niet meer na de vervaldatum die op de flacon is gedrukt.
7. De reagens(s) van de micropolymeerdetectiekit(s) zijn geoptimaliseerd en klaar voor gebruik met Biocare-antilichamen en hulpreagentia. Raadpleeg de gebruiksaanwijzing voor het primaire antilichaam en andere hulpreagens voor de aanbevolen protocollen en gebruiksvoorwaarden.
8. Volg de lokale en/of landelijke vereisten voor de verwijderingsmethode.
9. Het veiligheidsinformatieblad is op verzoek verkrijgbaar en is te vinden op <http://biocare.net>.
10. Meld alle ernstige incidenten met betrekking tot dit apparaat door contact op te nemen met de lokale

Biocare-vertegenwoordiger en de toepasselijke bevoegde autoriteit van de lidstaat of het land waar de gebruiker zich bevindt.

Deze ONCORE Pro Hematoxylin bevat componenten die zijn geclassificeerd zoals aangegeven in de onderstaande tabel in overeenstemming met Verordening (EG) nr. 1272/2008

Gevaar	Code	Gevarenaanduiding
	H315 H319	Veroorzaakt huidirritatie. Veroorzaakt ernstige oogirritatie.

## Gebruiksaanwijzing:

De ONCORE Pro Hematoxylin-reagentia zijn geoptimaliseerd voor gebruik met Biocare-antilichamen en hulpreagentia. Raadpleeg de informatie over primaire antilichamen voor gebruik voor aanbevolen protocollen en gebruiksvoorwaarden. Incubatietijden en -temperaturen variëren afhankelijk van het gevolgde specifieke antilichaamprotocol.

Raadpleeg bij gebruik van een geautomatiseerd kleuringsinstrument de bedieningshandleiding van het specifieke instrument en de gebruiksaanwijzing voor de bedrijfsparameters.

## Gebruiksaanwijzing:

ONCORE Pro Hematoxylin wordt geleverd in flacons die klaar zijn voor gebruik op de ONCORE Pro Automated Slide Stainer. Haal de dop van het flesje en plaats het in de ONCORE Pro-reagenslade. De ONCORE Pro Automated Slide Stainer brengt reagens aan zoals vereist in het geselecteerde protocol. Raadpleeg het betreffende antilichaamgegevensblad voor het aanbevolen kleuringsprotocol. Raadpleeg de gebruikershandleiding van het ONCORE Pro Automated Slide Staining System voor gedetailleerde instructies over de werking van het instrument en aanvullende protocoolopties.

## **Technische opmerkingen:**

1. Filter het product met een filter van 0,4 micron als er deeltjes worden waargenomen.
2. Biocare Medical gebruikt alleen vlekken die gecertificeerd zijn door de Biologische Vlekkencommissie. ONCORE Pro Hematoxylin is speciaal ontwikkeld om de noodzaak voor differentiatie van de sectie te elimineren. **OPMERKING:** Het grootste bezwaar tegen Mayer's hematoxyline zoals dat in het verleden werd gebruikt, was dat gekleurde objectglaasjes vaak na 1-3 jaar vervagen. Dit probleem kan echter worden verholpen door de objectglaasjes na hematoxyline gedurende minimaal 3-4 minuten in stromend water te wassen. **OPMERKING:** De onderzoeksstudies van Biocare tonen aan dat de pH van kraan- en gedeïoniseerd water voor het spoelen van objectglaasjes de

kleuring kan beïnvloeden. De pH kan in verschillende regio's van het land per seizoen veranderen van zuur naar basisch. Verder is gemeld dat er in sommige staten van 's ochtends tot 's middags veranderingen in het kraanwater zijn opgetreden. Lange spoeltijden na het blauwen kunnen hematoxyline onderscheiden. We hebben onze spoeltijd aangepast naar 3-4 minuten, in plaats van de vorige 7-10 minuten.

## **Kwaliteitscontrole:**

Raadpleeg de CLSI-kwaliteitsnormen voor ontwerp en implementatie van immunohistochemie-assays; Goedgekeurde richtlijn-tweede editie (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA ([www.clsi.org](http://www.clsi.org)). 2011

Positieve en negatieve controles moeten gelijktijdig met alle patiëntspecimens worden uitgevoerd. Als onverwachte kleuring wordt waargenomen die niet kan worden verklaard door variaties in laboratoriumprocedures en er wordt een probleem met het reagens vermoed, neem dan contact op met de technische ondersteuning van Biocare op 1-800-542-2002 of via de technische ondersteuningsinformatie op [biocare.net](http://biocare.net).

## Positieve weefselcontrole:

Externe positieve controlematerialen moeten verse monsters zijn die zo snel mogelijk worden gefixeerd, verwerkt en ingebed op dezelfde manier als het (de) patiëntmonster(s). Positieve weefselcontroles zijn indicatief voor correct geprepareerde weefsels en juiste kleurtechnieken. In elke kleuringsrun moet één positieve externe weefselcontrole voor elke reeks testomstandigheden worden opgenomen.

De weefsels die voor de externe positieve controlematerialen worden gebruikt, moeten worden gekozen uit patiëntspecimens met goed gekarakteriseerde lage niveaus van de positieve doelactiviteit die zwakke positieve kleuring geeft. Het lage niveau van positiviteit voor externe positieve controles is zo ontworpen dat subtiele veranderingen in de gevoeligheid van het primaire antilichaam door instabiliteit of problemen met de IHC-methodologie worden gedetecteerd. In de handel verkrijgbare objectglaasjes voor weefselcontrole of monsters die op een andere manier zijn verwerkt dan het/de patiëntmonster(s), valideren alleen de werking van het reagens en verifiëren niet de weefselpreparatie.

Bekende positieve weefselcontroles mogen alleen worden gebruikt voor het bewaken van de correcte werking van bewerkte 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 kleuringsrun een negatieve weefselcontrole die is gefixeerd, verwerkt en ingebed op een manier die identiek is aan het (de) patiëntmonster(s) om de specificiteit van het IHC-primair antilichaam voor demonstratie van het doelantigeen en om een indicatie te geven van specifieke achtergrondkleuring (vals positieve kleuring). Ook kan de verscheidenheid aan verschillende celtypen die in de meeste weefselcoupes aanwezig zijn door de laboratoria worden gebruikt als interne negatieve controlelocaties om de prestaties van de IHC te verifiëren specificaties. De soorten en bronnen van monsters die kunnen worden gebruikt voor negatief weefsel bedieningselementen worden vermeld in de sectie Prestatiekenmerken.

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

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Dutch

**BIOCARE**  
M E D I C A L

## Niet-specifieke negatieve reagenscontrole:

Gebruik een niet-specifieke negatieve reagenscontrole in plaats van het primaire antilichaam met een sectie van elk patiëntenmonster om niet-specifieke kleuring te evalueren en een betere interpretatie van specifieke kleuring op de antigeenplaats mogelijk maken. Idealiter bevat een negatieve reagenscontrole een geproduceerd en bereid antilichaam (d.w.z. verdund tot dezelfde concentratie met hetzelfde verdunningsmiddel) voor gebruik op dezelfde manier als het primaire antilichaam, maar vertoont geen specifieke reactiviteit met menselijke weefsels in dezelfde matrix/oplossing als de Biocare antilichaam. 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 panelen van meerdere antilichamen worden gebruikt op seriële secties, 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 immunoreactiviteit, kunnen aanvullende patiëntweefsels uitsluitend worden gekleurd met respectievelijk substraat-chromogeen of enzymcomplexen (PAP, avidine-biotine, streptavidine) en substraat-chromogeen.

## Testverificatie:

Voorafgaand aan het eerste gebruik van een antilichaam of kleuringssysteem 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 procedures voor kwaliteitscontrole die eerder in dit gedeelte van de productbijsluiters zijn beschreven en de aanbevelingen voor kwaliteitscontrole van het CAP-certificeringsprogramma<sup>®</sup> voor Immunohistochemie en/of de NCCLS IHC-richtlijn<sup>®</sup>. Deze kwaliteitscontroleprocedures moeten worden herhaald voor elke nieuwe partij antilichamen, of telkens wanneer er een wijziging is in de assayparameters. Weefsels vermeld in de sectie Prestatiekenmerken zijn geschikt voor assayverificatie.

## **Probleemoplossen:**

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

## **Interpretatie van kleuring:**

Een primair antilichaam werkt samen met aanvullende reagentia om een gekleurde reactie te produceren op de antigeenplaatsen die door het primaire antilichaam zijn gelokaliseerd. Achtergrondblokkerende hulpreagentia helpen bij het verminderen van niet-specifieke achtergrondkleuring om de interpretatie van de antilichaam-antigeenspecifieke kleuringreactie te vergemakkelijken. Voordat patiëntresultaten worden geïnterpreteerd, moet de kleuring van controles worden beoordeeld door een gekwalificeerde patholoog. Negatieve controles worden geëvalueerd en vergeleken met gekleurde objectglaasjes om er zeker van te zijn dat de waargenomen kleuring niet het resultaat is van niet-specifieke interacties.

## Positieve weefselcontrole:

De positieve weefselcontrole die met het aangegeven antilichaam is gekleurd, moet eerst worden onderzocht om er zeker van te zijn dat alle reagentia goed werken. 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 de substraatverpakking

voor de verwachte kleurreacties. Verder kan metachromasie worden waargenomen in variaties van de kleuringmethode.<sup>1,2</sup>

Wanneer een tegenkleuring wordt gebruikt, zal de tegenkleuring, afhankelijk van de incubatieduur en de potentie 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 doellantigeen 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 (fout-positieve kleuring) optreedt bij de negatieve externe weefselcontrole, moeten de resultaten met het patiëntmonster als ongeldig worden beschouwd.

Niet-specifieke kleuring, indien aanwezig, heeft meestal een diffuus uiterlijk. Sporadische kleuring van bindweefsel kan ook worden waargenomen in secties van overmatig met formaline gefixeerde weefsels. Gebruik intacte cellen voor interpretatie van kleuringresultaten. Necrotische of gedegenererde cellen kleuren vaak niet-specifiek.

## geduldig weefsel:

Onderzoek patiëntspecimens gekleurd met aangegeven antilichaam laatst. Positieve kleuringintensiteit 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, niet dat het antigeen afwezig was in de geteste cellen/weefsels. Gebruik indien nodig een panel van antilichamen om vals-negatieve reacties te identificeren.

Raadpleeg Samenvatting en uitleg, Beperkingen en Prestatiekenmerken voor specifieke informatie over aangegeven antilichaamimmunoreactiviteit.

## **Beperkingen:**

### Algemene beperkingen:

1. Voor *in vitro* diagnostisch (IVD) gebruik
2. Dit product is uitsluitend voor professioneel gebruik: Immunohistochemie is een meerstaps diagnostisch proces dat bestaat uit gespecialiseerde training in de selectie van de juiste reagentia; weefselselectie, fixatie en verwerking; voorbereiding van de IHC-dia; en interpretatie van de kleuringresultaten.
3. Alleen voor gebruik op voorschrift van een arts. (Alleen Rx)
4. Weefselkleuring is afhankelijk van de behandeling en verwerking van het weefsel voorafgaand aan kleuring. Onjuiste fixatie, bevriezing, ontdooiing, wassen, drogen, verhitten, snijden of verontreiniging met andere weefsels of vloeistoffen kan leiden tot artefacten, insluiting van antilichamen of fout-negatieve resultaten. Inconsistente resultaten kunnen te wijten zijn aan variaties in fixatie- en inbeddingsmethoden of aan inherente onregelmatigheden in het weefsel.<sup>1,2</sup>
5. Overmatige of onvolledige tegenkleuring kan de juiste interpretatie van de resultaten in gevaar brengen.
6. De klinische interpretatie van elke positieve of negatieve kleuring moet worden beoordeeld binnen de context van klinische presentatie, morfologie en andere histopathologische criteria. De klinische interpretatie van elke positieve of negatieve kleuring moet worden aangevuld met morfologische onderzoeken met behulp van de juiste positieve en negatieve interne en externe controles, evenals andere diagnostische tests. Het is de verantwoordelijkheid van een

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Dutch

**BIOCARE**  
M E D I C A L

- 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.
- De optimale protocollen voor een specifieke toepassing kunnen variëren. Deze omvatten, maar zijn niet beperkt tot, fixatie, warmterugwinningsmethode, incubatietijden, antilichaamverdunding, dikte van weefselcoupes en gebruikte detectiekit. Raadpleeg de gebruiksaanwijzing voor het primaire antilichaam en andere hulpreagens voor de aanbevolen protocollen en gebruiksvoorwaarden. De aanbevelingen en protocollen van het datablad zijn gebaseerd op exclusief gebruik van Biocare-producten. Uiteindelijk is het de verantwoordelijkheid van de onderzoeker om optimale omstandigheden te bepalen.
  - Dit product is niet bedoeld voor gebruik bij flowcytometrie. Prestatiekenmerken zijn niet bepaald voor flowcytometrie.
  - Weefsels van personen die zijn geïnfecteerd met het hepatitis B-virus en die hepatitis B-oppervlakantigeen (HBsAg) bevatten, kunnen niet-specifieke kleuring vertonen met mierikswortelperoxidase.<sup>14</sup>
  - 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 biologische variabiliteit van antigeenexpressie in neoplasmata of andere pathologische weefsels.<sup>15</sup> Neem contact op met de technische ondersteuning van Biocare op 1-800-542-2002, of via de technische ondersteuningsinformatie op [biocare.net](http://biocare.net), met gedocumenteerde onverwachte reactie(s).
  - Normale/niet-immune sera van dezelfde dierlijke bron als secundaire antisera die in blokkeerstappen worden gebruikt, kunnen fout-negatieve of fout-positieve resultaten veroorzaken als gevolg van auto-antilichamen of natuurlijke antilichamen.
  - Vals-positieve resultaten kunnen optreden als gevolg van niet-immunologische binding van eiwitten of substraatreactieproducten. Ze kunnen ook worden veroorzaakt door pseudoperoxidase-activiteit (erythrocyten), endogene peroxidase-activiteit (cytochrom C) of endogene biotine (bijv. lever, borst, hersenen, nier), afhankelijk van het type immunokleuring dat wordt gebruikt.<sup>13</sup>
  - Een negatief resultaat betekent dat het antigeen niet werd gedetecteerd, niet dat het antigeen afwezig was in de onderzochte cellen of weefsels.

## Productspecifieke beperkingen:

*Geen aanvullende productspecifieke beperkingen.*

## Prestatiekenmerken:

Kleuring werd uitgevoerd met behulp van protocollen in de antilichaamspecifieke gebruiksaanwijzing of zoals gespecificeerd. De sensitiviteit en specificiteit van kleuring werd geëvalueerd over een reeks normale en neoplastische weefseltypen die werden geëvalueerd tijdens de ontwikkeling van primaire antilichamen.

## reproduceerbaarheid:

De reproduceerbaarheid van de tegenkleuringsreagentia van Biocare wordt geverifieerd door middel van een meting van gemiddelde precisie waarbij verschillende reagenspartijen gedurende een langere periode werden getest met behulp van verschillende operators, analisten, reagenspartijen, weefselmonsters en apparatuur. De kleuring die werd verkregen voor elk geëvalueerd detectiereagens was consistent en werd uitgevoerd zoals verwacht.

## Probleemoplossen:

- Geen kleuring van objectglasjes – Controleer of de juiste positieve controleweefsels, antilichamen en detectieproducten zijn gebruikt. Controleer op onvolledige of onjuiste wasverwijdering of voorbehandeling.

- Zwakke kleuring van alle objectglasjes – Controleer of de juiste positieve controleweefsels, antilichamen en detectieproducten zijn gebruikt.
- Overmatige achtergrond van alle objectglasjes – Er kunnen hoge niveaus van endogene 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 blokkeren, zoals een op serum of caseïne gebaseerde blokkeringsoplossing).
- Weefselcoupes worden tijdens de incubatie van de objectglasjes afgewassen – Controleer de objectglasjes om er zeker van te zijn dat ze positief geladen zijn.
- Specifieke kleuring te donker – Controleer het protocol om te bepalen of de juiste antilichaamtiter op het objectglasje 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:

- 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.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
- 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](http://www.clsi.org)). 2011
- College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](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, Ashcavi 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.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Bulgarian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Предназначение:

За *in vitro* Диагностична употреба

ONCORE Pro Hematoxylin е предназначен за използване от лабораторни професионални потребители за визуализация на клетъчни ядра във фиксирани във формалин, вградени в парафин (FFPE) тъканни срезове при ръчни или автоматизирани процедури. Използва се като контрастно оцветяване в приложения за имунохистохимична (IHC) и хромогенна *in situ* хибридизация (CISH). Може да се използва и за рутинно оцветяване с хематоксилин и еозин. Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или липсата му трябва да бъде допълнена от морфологични изследвания и подходящи контроли и трябва да бъде оценена в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични тестове от квалифициран патолог.

## Резюме и обяснение:

Този противооцветяващ реагент, когато се прилага върху предварително третиран фиксирани с формалин, вградени в парафин тъканни срезове, оцветява клетъчните ядра в тъканните срезове и клетъчните препарати.

## Осигурени реагенти:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Известни приложения:

Имунохистохимия (фиксирана във формалин тъкани, вградени в парафин)

## Доставя се като:

Разтвор на хематоксилин. Вижте Информационния лист за безопасност за допълнителни подробности.

## Разтваряне, разреждане и смесване:

ONCORE Pro Hematoxylin е оптимизиран за използване с антитела и спомагателни реагенти на Biocare и е готов за употреба с антитела и спомагателни реагенти на Biocare IHC. Не е необходимо разтваряне, смесване, разреждане или титруване.

## Необходими, но неосигурени материали и реагенти:

Микроскопски предметни стъкла са положително заредени.

Пустинна камера\* (сушилня)

Положителни и отрицателни тъканни контроли

Ксилол (може да бъде заменен със заместител на ксилол\*)

Етанол или реактив алкохол

Камера за разкриване\* (тенджер под налягане)

Дейонизирана или дестилирана вода

Измиващ буфер\*

Реагенти за предварителна обработка\*

Ензимно храносмилане\*

Комплект за блокиране на авидин-биотин\* (само етикетирани комплекти стрептавидин)

Пероксидазен блок\* (по избор)

Протеинов блок\* (по избор)

Първично анти тяло\*

Реактиви за отрицателна контрола\*

Комплекти за откриване\*

Хромогени\*

Посиняване реагент\*

Монтажна среда\*

ONCORE Pro автоматизирана платформа за оцветяване\*

\* Медицински продукти на Biocare: Вижте уебсайта на Biocare Medical, намиращ се на адрес <http://biocare.net> за информация относно каталожните номера и поръчка. Определени реагенти, изброени по-горе, се основават на конкретно приложение и използвана система за откриване.

## Съхранение и стабилност:

Съхранявайте на стайна температура далеч от светлина. 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. Реагентите от комплекта са готови за употреба и не трябва да се разреждат. Стабилността на разреждения от потребителя реагент не е установена от Biocare.

## Подготовка на пробата:

Тъканчетата, фиксирани във формалин, са подходящи за използване преди вграждане в парафин. 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.<sup>1,2</sup>

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.“<sup>3</sup>

## 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 IHC минимизира несъответствието и стандартизира оцветяването.<sup>4,5</sup>

## Предупреждение и предпазни мерки:

- Комплектът реагенти съдържа по-малко от 0,05% ProClin 300 и/или по-малко от 1% ProClin 950. Носете ръкавици и защитно облекло и вземете разумни предпазни мерки при работа, тъй като ProClin се класифицира като дразнител и може да причини сенсibiliзация при контакт с кожата. Избягвайте контакт с очите, кожата и лигавиците.
- Работете с материали от човешки или животински произход като потенциално биологично опасни и ги извърляйте с подходящи предпазни мерки. В случай на излагане, следвайте здравните директиви на отговорните органи, където се използва.<sup>6,7</sup>
- Пробите, преди и след фиксиране, и всички материали, изложени на тях, трябва да се третират като способни да предадат инфекция и да се извърлят 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.<sup>8</sup>
- Микробното замърсяване на реагентите може да доведе до увеличаване на неспецифичното оцветяване.
- Инкубационни времена или температури, различни от посочените, могат да дадат грешни резултати. Потребителят трябва да потвърди всяка такава промяна.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

9/99



TP v1 (04/07/2022)

Tel: 800-799-9499 | [www.biocare.net](http://www.biocare.net) | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923


Bulgarian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

6. Не използвайте реагент след срока на годност, отпечатан върху флакона.
7. Реагентът(ите) на комплекта за откриване на микрополимери са оптимизирани и готови за използване с антигела на Biocare и спомагателни реагенти. Обърнете се към инструкциите за първично антияло и други спомагателни реагенти за употреба за препоръчителните протоколи и условия за употреба.
8. Следвайте изискванията на местните и/или държавните органи за метода на изхвърляне.
9. ИЛБ е достъпен при поискване и се намира на <http://biocare.net>.
10. Докладвайте за всякакви сериозни инциденти, свързани с това устройство, като се свържете с местния

Представител на Biocare и съответния компетентен орган на държавата членка или държавата, където се намира потребителят.

Този ONCORE Pro Hematoxylin съдържа компоненти, класифицирани както е посочено в таблицата по-долу в съответствие с Регламент (ЕО) № 1272/2008

Опасност	Код	Изявление за опасност
	H315 H319	Предизвиква дразнене на кожата. Предизвиква сериозно дразнене на очите.

## Инструкции за употреба:

Реагентите ONCORE Pro Hematoxylin са оптимизирани за използване с антигела на Biocare и спомагателни реагенти. Обърнете се към информацията за първичните антигела за употреба за препоръчани протоколи и условия за употреба. Времената и температурите на инкубация ще варират в зависимост от следвания специфичен протокол за антигела.

Когато използвате автоматизиран инструмент за оцветяване, консултирайте се с конкретното ръководство за оператора на инструмента и инструкциите за употреба за работните параметри.

## Инструкции за употреба:

ONCORE Pro Hematoxylin се доставя във флакони, готови за употреба на автоматичния оцветител за предметни стъкла ONCORE Pro. Разтворете капачката на флакона и го поставете в таблата за реагенти ONCORE Pro. ONCORE Pro Automated Slide Stainer ще приложи реагент, както се изисква в избрания протокол. Вижте съответния лист с данни за антигела за препоръчания протокол за оцветяване. Обърнете се към ръководството за потребителя на системата за автоматично оцветяване на предметни стъкла ONCORE Pro за подробни инструкции относно работата на инструмента и допълнителните опции на протокола.

## Технически бележки:

1. Филтрирайте продукта с филтър от 0,4 микрона, ако се видят частици.
2. Biocare Medical използва само оцветители, които са сертифицирани от Комисията по биологични оцветители. ONCORE Pro Hematoxylin е специално формулиран, за да елиминира необходимостта от диференциране на секциото.

**ЗАБЕЛЕЖКА:** Най-голямото въздействие срещу хематоксилина на Майер, използван в миналото, е, че оцветените слайдове често избледняват след 1-3 години. Този проблем обаче може да бъде отстранен, когато предметните стъкла се измият след хематоксилин в течаща вода за минимум 3-4 минути.

**ЗАБЕЛЕЖКА:** Изследователските проучвания на Biocare показват, че pH на чешмяната и DI вода за изплакване на предметни стъкла може да повлияе на оцветяването. pH може да се променя от киселинно към основно сезонно в различните региони на страната. Освен това се съобщава, че в някои щати има промени в чешмяната вода от сутринта до следобед. Дългото време на изплакване след посиняване може да различа хематоксилин. Променихте времето за изплакване на 3-4 минути, вместо предишните 7-10 минути.

## 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 САЩ ([www.clsi.org](http://www.clsi.org)). 2011 г.

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 реагента, свържете се с техническата поддръжка на Biocare на 1-800-542-2002 или чрез информацията за техническа поддръжка, предоставена на [biocare.net](http://biocare.net).

## Положителен тъканен контрол:

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 проектирано така, че да осигури откриване на фини промени в чувствителността на първичното антияло 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, фиксирана, обработена и вградена по начин, идентичен с пробата(ите) на пациента при всяко оцветяване, за да проверите специфичността на ИНС първичното антияло за демонстрация на целевия антиген и за предоставяне на индикация за специфично фонов 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 тъканна контролите са изброени в раздела Характеристики на ефективността.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Bulgarian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

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 контрола на реагента съдържа произведено и приготвено анти тяло (т.е. разрежено до същата концентрация с помощта на същия разреждател) за използване по същия начин като първичното анти тяло, но не проявява специфична реактивност с човешки тъкани в същата матрица/разтвор като Bioscare анти тяло. 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 IHC 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 Характеристики 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 Bioscare на 1-800-542-2002.

## **Тълкуване на оцветяването:**

Първичното анти тяло работи във връзка със спомагателни реагенти, за да произведе цветна реакция в антигенните места, локализиращи първичното анти тяло. Спомагателните реагенти за фоново блокиране подпомагат намаляването на неспецифичното фоново оцветяване, за да се улесни тълкуването на реакцията на специфично оцветяване анти тяло-антиген. Преди тълкуване на резултатите от пациента, оцветяването на контролите трябва да бъде оценено от квалифициран патолог. Отрицателните контроли се оценяват и сравняват с оцветени слайдове, за да се гарантира, че всяко наблюдавано оцветяване не е резултат от неспецифични взаимодействия.

## 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 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 метакромазията може да се наблюдава при вариации на метода на оцветяване.<sup>12</sup>

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 анти тяло. Липсата на специфично оцветяване в отрицателната тъканна контрола потвърждава липсата на кръстосана реактивност на анти тела 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 анти тяло 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 анти тела за идентифициране на фалшиво-отрицателни реакции.

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

## **Ограничения:**

### Общи ограничения:

1. *Заинвитро* диагностична (IVD) 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. За употреба само по лекарско предписание. (Само Rx)
4. 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

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Bulgarian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

доведе до артефакти, улавяне на антитела или фалшиво отрицателни резултати. Непоследователните резултати може да се дължат на вариации в методите за фиксиране и вграждане или на присъщи нередности в тъканта.<sup>12</sup>

- Прекомерното или непълно контрастно оцветяване може да компрометира правилното тълкуване на резултатите.
- 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 антитела, реагенти и методи, е да интерпретира всички стъпки, използвани за подготовка и тълкуване на крайния IHC препарат.
- Оптималните протоколи за конкретно приложение могат да варират. Те включват, но не се ограничават до фиксация, метод за извличане на топлина, времена на инкубация, разреждане на анти тяло, дебелина на тъканния участък и използван комплект за откриване. Обърнете се към инструкциите за първично антитяло и други спомагателни реагенти за употреба за препоръчителните протоколи и условия за употреба. Препоръките и протоколите в информационния лист се основават на изключителното използване на продуктите Biocare. В крайна сметка отговорност на изследователя е да определи оптималните условия.
- Този продукт не е предназначен за използване в поточна цитометрия. Характеристиките на ефективността не са определени за поточна цитометрия.
- 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.<sup>14</sup>
- 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.<sup>15</sup> 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.
- 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 автоантитела или естествени антитела.
- Могат да се наблюдават фалшиви положителни резултати поради неимунологично свързване на протеини или продукти на субстратна реакция. Те могат също да бъдат причинени от псевдопероксидазна активност (еритроцити), ендогенна пероксидазна активност (цитохром С) или ендогенен биотин (напр. черен дроб, гърди, мозък, бъбрек) в зависимост от вида на използваното имунооцветяване.<sup>13</sup>
- Отрицателен резултат означава, че антигенът не е бил открит, а не че антигенът е отсъствал в изследваните клетки или тъкан.

## Специфични за продукта ограничения:

Няма допълнителни специфични за продукта ограничения.

## Характеристики на изпълнение:

Оцветяването се извършва, като се използват протоколи, предоставени в специфичните инструкции за употреба на анти тялото или както е посочено. Чувствителността и специфичността на оцветяването бяха оценени в редица нормални и неопластични тъканни типове, оценени по време на развитието на първични антитела.

## Възпроизводимост:

Възпроизводимостта на реагентите за противооцветяване на Biocare се проверява чрез измерване на междинна прецизност, при което различни партиди реагенти са тествани за продължителен период от време с помощта на различни оператори, анализатори, партиди реагенти, тъканни проби и оборудване. Оцветяването, получено за всеки оценен реагент за откриване, беше последователно и извършено според очакванията.

## Отстраняване на неизправности:

- Няма оцветяване на предметни стъкла – Проверете, за да определите, че са използвани подходящи тъкани за положителна контрола, антитела и продукти за откриване. Проверете за непълно или неправилно отстраняване или предварителна обработка.
- Слабо оцветяване на всички предметни стъкла – Проверете, за да определите, че са използвани подходящи тъкани за положителна контрола, антитела и продукти за откриване.
- 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 излишно неспецифично протеиново взаимодействие (използвайте протеин блок, като блокиращ разтвор на базата на серум или казеин).
- Тъканните срезове се измиват от предметните стъкла по време на инкубацията – Проверете предметните стъкла, за да се уверите, че са положително заредени.
- 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:

- 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.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
- 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.
- Koretzki 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.

## ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Bulgarian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Croatian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Namjena:

Za *in vitro* dijagnostička upotreba

ONCORE Pro Hematoxylin namijenjen je za korištenje od strane profesionalnih laboratorijskih korisnika za vizualizaciju staničnih jezgri u formalinom fiksiranim, parafinom ugrađenim (FFPE) dijelovima tkiva u ručnim ili automatiziranim postupcima. Koristi se kao kontraboja u primjenama imunohistokemijske (IHC) i kromogene *in situ* hibridizacije (CISH). Također se može koristiti za rutinsko bojenje hematoksilinom i eozinom. Kliničko tumačenje bilo kakvog bojenja ili njegovog izostanka trebalo bi nadopuniti morfološkim studijama i odgovarajućim kontrolama te bi ga kvalificirani patolog trebao procijeniti u kontekstu kliničke povijesti pacijenta i drugih dijagnostičkih testova.

## Sažetak i objašnjenje:

ONCORE Pro Hematoxylin je na bazi vode i posebno je formuliran za kontrastno bojenje na Biocare ONCORE Pro automatskom bojleru. ONCORE Pro Hematoxylin boji jezgre u nebesko plavo i pruža visoko kontrastno bojenje za postupke kromogenog bojenja.

## Princip postupka:

Ovaj reagens za suprotno bojenje kada se nanese na prethodno obrađene isječke tkiva fiksirane formalinom, u parafinu, boji stanične jezgre u isječcima tkiva i staničnim pripravcima.

## Priloženi reagensi:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Poznate primjene:

Imunohistokemija (tkiva fiksirana formalinom i parafinom)

## Isporučuje se kao:

Otopina hematoksilina. Pogledajte Sigurnosno-tehnički list za dodatne pojedinosti.

## Rekonstitucija, razrjeđivanje i miješanje:

ONCORE Pro Hematoxylin je optimiziran za korištenje s Biocare antitijelima i pomoćnim reagensima i spreman je za upotrebu s Biocare IHC antitijelima i pomoćnim reagensima. Nije potrebna rekonstitucija, miješanje, razrjeđivanje ili titracija.

## Materijali i reagensi koji su potrebni ali nisu isporučeni:

Mikroskopska stakalca pozitivno nabijena.  
Pustinjska komora\* (pećnica za sušenje)  
Pozitivne i negativne kontrole tkiva  
Ksilen (može se zamijeniti zamjenom za ksilen\*)  
Etanol ili reagens alkohol  
Komora za skidanje maske\* (lonac pod pritiskom)  
Deionizirana ili destilirana voda  
Pufer za pranje\*  
Reagensi za prethodnu obradu\*  
Enzimaska probava\*

Komplet za blokiranje avidin-biotina\* (samo setovi označeni streptavidinom)

Blok peroksidaze\* (izborno)

Proteinski blok\* (izborno)

Primarno antitijelo\*

Reagensi negativne kontrole\*

Kompleti za otkrivanje\*

Kromogeni\*

Reagens za plavljenje\*

Medij za montažu\*

ONCORE Pro automatizirana platforma za bojenje\*

\* Biocare Medical Products: Za informacije o kataloškim brojevima i naručivanju pogledajte web stranicu Biocare Medical koja se nalazi na <http://biocare.net>. Određeni gore navedeni reagensi temelje se na specifičnoj primjeni i korištenom sustavu detekcije.

## Skladištenje i stabilnost:

Čuvati na sobnoj temperaturi daleko od svjetlosti. Proizvod je stabilan do datuma 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. Reagens(i) kompleta je spreman za upotrebu i ne smije se razrjeđivati. Biocare nije utvrdio stabilnost reagensa razrijeđenog korisnikom.

## Priprema uzorka:

Maramice fiksirane u formalinu prikladne su za upotrebu prije ugradnje u parafin. Koštana tkiva treba dekalificirati prije obrade tkiva kako bi se olakšalo rezanje tkiva i spriječilo oštećenje oštrica mikrotoma.<sup>1,2</sup>

Ispravno fiksirana i ugrađena tkiva koja ekspiriraju specificirani ciljni 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.”<sup>3</sup>

## 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.<sup>4,5</sup>

## Upozorenje i mjere opreza:

- Komplet reagensa sadrži manje od 0,05% ProClin 300 i/ili manje od 1% ProClin 950. Nosite rukavice i zaštitnu odjeću i poduzmite razumne mjere opreza pri rukovanju jer je ProClin klasificiran kao nadražujući i može izazvati preosjetljivost u kontaktu s kožom. Izbjegavajte kontakt s očima, kožom i sluznicom.
- Rukujte materijalima ljudskog ili životinjskog podrijetla kao potencijalno biološki opasnim i odlažite ih uz odgovarajuće mjere opreza. U slučaju izlaganja, slijedite zdravstvene upute nadležnih tijela gdje se upotrebljava.<sup>6,7</sup>
- 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 reagensne 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.<sup>8</sup>
- 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.
- Reagensi kompleta za detekciju mikropolimera optimizirani su i spremni za upotrebu s Biocare antitijelima i pomoćnim reagensima. Za preporučene

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Croatian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

protokole i uvjete za upotrebu pogledajte upute za uporabu primarnog protutijela i drugih pomoćnih reagensa.


8. Slijedite zahtjeve lokalnih i/ili državnih vlasti za način zbrinjavanja.

9. STL je dostupan na zahtjev i nalazi se na <http://biocare.net>.

10. Prijavite sve ozbiljne incidente u vezi s ovim uređajem kontaktiranjem lokalnog

Predstavnik Biocare i odgovarajuće nadležno tijelo države članice ili države u kojoj se korisnik nalazi.

Ovaj ONCORE Pro Hematoxylin sadrži komponente klasificirane kako je navedeno u donjoj tablici u skladu s Uredbom (EZ) br. 1272/2008

Opasnost	Kodirati	Oznaka opasnosti
	H315 H319	Izaziva iritaciju kože. Uzrokuje ozbiljnu iritaciju očiju.

## Upute za korištenje:

ONCORE Pro Hematoxylin reagensi optimizirani su za upotrebu s Biocare antitijelima i pomoćnim reagensima. Pogledajte informacije o primarnim antitijelima za upotrebu za preporučene protokole i uvjete za upotrebu. Vrijeme inkubacije i temperature variraju će ovisno o protokolu s određenim antitijelima.

Kada koristite automatizirani instrument za bojenje, provjerite radne parametre u posebnom priručniku za rukovanje instrumentom i uputama za uporabu.

## Upute za korištenje:

ONCORE Pro Hematoxylin isporučuje se u bočicama spremnim za upotrebu na ONCORE Pro automatskom uređaju za bojenje stakalca. Otvorite bočicu i stavite je u ONCORE Pro ladicu za reagense. ONCORE Pro Automated Slide Stainer nanijet će reagens prema potrebi u odabranom protokolu. Za preporučeni protokol bojenja pogledajte odgovarajući list s podacima o antitijelima. Detaljne upute o radu instrumenta i dodatnim opcijama protokola potražite u korisničkom priručniku ONCORE Pro automatskog sustava za bojenje stakalca.

## Tehničke napomene:

1. Filtrirajte proizvod filtrom od 0,4 mikrona ako se vide čestice.

2. Biocare Medical koristi samo boje koje je certificiralo Povjerenstvo za biološke boje. ONCORE Pro Hematoxylin posebno je formuliran kako bi se uklonila potreba za razlikovanjem rezova.

NAPOMENA: Najveći prigovor Mayerovom hematoksilinu koji se koristio u prošlosti bio je taj da obojena stakalca često izbljeduju nakon 1-3 godine. Međutim, ovaj se problem može eliminirati ako se stakalca nakon hematoksilina isperu u tekućoj vodi najmanje 3-4 minute.

NAPOMENA: Biocareova istraživanja pokazuju da pH vode iz slavine i DI vode za ispiranje stakalca može utjecati na bojenje. pH se može promijeniti od kiselog do bazičnog sezonski u različitim regijama zemlje. Nadalje je objavljeno da je u nekim državama došlo do promjena u vodi iz slavine od jutra do poslijepodneva. Dugo vrijeme ispiranja nakon plavljenja može razlikovati Hematoksilin. Izmijenili smo vrijeme ispiranja na 3-4 minute, umjesto prethodnih 7-10 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](http://www.clsi.org)). 2011.

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 reagensom, obratite se Biocareovoj tehničkoj podršci na 1-800-542-2002 ili putem informacija o tehničkoj podršci na [biocare.net](http://biocare.net).

## Pozitivna kontrola tkiva:

Materijali za vanjsku pozitivnu kontrolu trebaju biti svježiji 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 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 ciljane aktivnosti koja daje slabo pozitivno bojenje. Niska razina pozitivnosti za vanjske pozitivne kontrole dizajnirana je tako da osigura 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 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. U idealnom slučaju, negativna kontrola reagensa sadrži proizvedeno i pripremljeno protutijelo (tj. razrijeđeno na istu koncentraciju pomoću istog razrjeđivača) za upotrebu na isti način kao primarno protutijelo, ali ne pokazuje specifičnu reaktivnost s ljudskim tkivima u istoj matrici/otopini kao Biocare antitijelo. 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

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Croatian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

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<sup>10</sup> za imunohistokemiju i/ili NCCLS IHC smjernice<sup>11</sup>. Ove postupke kontrole kvalitete treba ponoviti za svaku novu seriju antitijela ili kad god dođe do promjene parametara testa. Tkiva navedena u odjeljku Karakteristike izvedbe prikladna su za provjeru analize.

## 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:

Primarno protutijelo djeluje zajedno s pomoćnim reagensima kako bi proizvelo obojenu reakciju na mjestima antigena lokaliziranim primarnim protutijelom. Pomoćni reagensi za blok pozadine pomažu u smanjenju nespecifičnog pozadinskog bojenja kako bi se olakšalo tumačenje reakcije specifičnog bojenja antitijelo-antigen. Prije tumačenja rezultata pacijenta, bojenje kontrola mora procijeniti kvalificirani patolog. Negativne kontrole se procjenjuju i uspoređuju s obojenim stakalcima kako bi se osiguralo da uočeno bojenje nije rezultat nespecifičnih interakcija.

## 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.<sup>12</sup>

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 ciljnih 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.

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

## Ograničenja:

### Opća ograničenja:

1. *Zain vitro* dijagnostička (IVD) 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. Za korištenje samo prema liječničkom receptu. (Samo Rx)
4. 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.<sup>13</sup>
5. Pretjerano ili nepotpuno kontrastno bojenje može ugroziti pravilno tumačenje rezultata.
6. 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 pripravka.
7. Optimalni protokoli za određenu aplikaciju mogu varirati. To uključuje, ali nije ograničeno na fiksaciju, metodu povrata topline, vrijeme inkubacije, razrjeđivanje antitijela, debljinu presjeka tkiva i korišteni pribor za otkrivanje. Za preporučene protokole i uvjete za upotrebu pogledajte upute za uporabu primarnog protutijela i drugih pomoćnih reagensa. Preporuke i protokoli u podatkovnom listu temelje se na isključivoj uporabi Biocare proizvoda. U konačnici, odgovornost je istraživača da odredi optimalne uvjete.
8. Ovaj proizvod nije namijenjen za upotrebu u protočnoj citometriji. Radne karakteristike nisu utvrđene za protočnu citometriju.
9. Tkiva osoba zaraženih virusom hepatitisa B i koja sadrže površinski antigen hepatitisa B (HBsAg) mogu pokazivati nespecifično obojenje peroksidazom hrena.<sup>14</sup>
10. 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.<sup>15</sup> Obratite se Biocare tehničkoj podršci na 1-800-542-2002 ili putem informacija o tehničkoj podršci na biocare.net, uz dokumentirane neočekivane reakcije.
11. 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.
12. 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.<sup>13</sup>
13. Negativan rezultat znači da antigen nije detektiran, a ne da antigena nije bilo u ispitivanim stanicama ili tkivu.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Croatian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

## Specifična ograničenja proizvoda:

Nema dodatnih specifičnih ograničenja proizvoda.

## Karakteristike izvedbe:

Bojanje je provedeno korištenjem protokola navedenih u uputama za uporabu specifičnih za antitijela ili kako je navedeno. Osjetljivost i specifičnost bojenja procijenjena je u nizu tipova normalnih i neoplastičnih tkiva procijenjenih tijekom razvoja primarnih protutijela.

## Ponovljivost:

Ponovljivost Biocareovih reagensa za protubojenje potvrđena je mjerenjem srednje preciznosti u kojem su različite serije reagensa testirane tijekom duljeg vremenskog razdoblja korištenjem različitih operatera, analitičara, serija reagensa, uzoraka tkiva i opreme. Bojanje dobiveno za svaki procijenjeni reagens za detekciju bilo je dosljedno i izvedeno prema očekivanjima.

## Rješavanje problema:

1. Nema bojanja niti na jednom predmetnom stakalcu – Provjerite jesu li korištena odgovarajuća pozitivna kontrola tkiva, antitijela i proizvoda za otkrivanje. Provjerite postoji li nepotpuno ili nepravilno uklanjanje ili prethodna obrada voska.
2. Slabo bojenje svih stakalca – Provjerite je li korišteno odgovarajuće tkivo pozitivne kontrole, antitijela i proizvodi za otkrivanje.
3. 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).
4. Dijelovi tkiva ispiru se sa stakalca tijekom inkubacije – Provjerite stakalca kako biste bili sigurni da su pozitivno nabijena.
5. Specifično bojenje pretamno – Provjerite protokol kako biste utvrdili je li na stakalcu primijenjen ispravan titar protutijela, kao i ispravna vremena inkubacije za sve reagens. Osim toga, osigurajte da protokol ima dovoljno koraka ispiranja za uklanjanje viška reagensa nakon završetka koraka 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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. 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.
9. 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
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Czech

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Zamýšlené použití:

*Pro in vitro* Diagnostické použití

ONCORE Pro Hematoxylin je určen pro použití profesionálními laboratorními uživateli pro vizualizaci buněčných jader v řezech tkání fixovaných ve formalínu, zalitých v parafínu (FFPE) v manuálních nebo automatických postupech. Používá se jako kontrastní barvivo v imunohistochemických (IHC) a chromogenních in situ hybridizačních (CISH) aplikacích. Může být také použit pro rutinní barvení hematoxylinem a eosinem. Klinická interpretace jakéhokoli zbarvení nebo jeho nepřítomnosti by měla být doplněna morfologickými studiemi a řádnými kontrolami a měla by být vyhodnocena v kontextu pacientovy klinické anamnézy a dalších diagnostických testů kvalifikovaným patologem.

## Shrnutí a vysvětlení:

ONCORE Pro Hematoxylin je na vodní bázi a je speciálně vytvořen pro kontrastní barvení na ONCORE Pro Automated Stainer od Biocare. ONCORE Pro Hematoxylin barví jádra nebesky modře a poskytuje vysoce kontrastní barvení pro postupy chromogenního barvení.

## Princip postupu:

Toto kontrastní činidlo při aplikaci na předem upravené tkáňové řezy fixované formalínem a zalité v parafínu barví buněčná jádra v řezech tkání a buněčných preparátech.

## Dodávaná činidla:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Znamé aplikace:

Imunohistochemie (tkáňe zalité v parafínu fixované formalínem)

## Dodáváno jako:

Roztok hematoxylinu. Další podrobnosti viz Bezpečnostní list.

## Rekonstituce, ředění a míchání:

ONCORE Pro Hematoxylin je optimalizován pro použití s protilátkami Biocare a pomocnými činidly a je připraven k použití s protilátkami Biocare IHC a pomocnými činidly. Není nutná žádná rekonstituce, míchání, ředění nebo titrace.

## Požadovaný materiál a činidla, která nejsou součástí dodávky:

Mikroskopická skříčka kladně nabitá.  
Pouštní komora\* (sušící pec)  
Pozitivní a negativní tkáňové kontroly  
Xylen (Ize nahradit xylenovou náhradou\*)  
Ethanol nebo reagenční alkohol  
Decloaking Chamber\* (Tlakový hrnc)  
Deionizovaná nebo destilovaná voda  
Promývací pufr\*  
Činidla pro předúpravu\*  
Enzymové trávení\*  
Avidin-Biotin Blocking Kit\* (pouze označené streptavidinové sady)  
Peroxidázový blok\* (volitelné)

Proteinový blok\* (Volitelné)

Primární protilátka\*

Negativní kontrolní činidla\*

Detekční sady\*

Chromogeny\*

Blueingovo činidlo\*

Montážní médium\*

Automatizovaná barvicí platforma ONCORE Pro\*

\* Biocare Medical Products: Informace týkající se katalogových čísel a objednávek naleznete na webových stránkách Biocare Medical na adrese <http://biocare.net>. Některá výše uvedená činidla jsou založena na specifické aplikaci a použitím detekčním systémem.

## Skladování a stabilita:

Skladujte při pokojové teplotě mimo dosah světla. Při skladování za těchto podmínek je přípravek stabilní do data expirace vytištěného na štítku lahvičky. Nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti. Skladování za jakýchkoliv jiných než uvedených podmínek musí být ověřeno. Činidla soupravy jsou připravena k použití a neměla by se ředit. Stabilita uživatelem nařazeného činidla nebyla společností Biocare stanovena.

## Příprava vzorku:

Tkáňe fixované 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.<sup>1,2</sup>

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 „Laborator musí uchovávat obarvená sklíčka nejméně deset let od data vyšetření a uchovávat bloky vzorků nejméně dva roky od data vyšetření.“<sup>3</sup>

## Ošetření tkání 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.<sup>4,5</sup>

## Upozornění a bezpečnostní opatření:

- Činidla soupravy obsahují méně než 0,05 % ProClin 300 a/nebo méně než 1 % ProClin 950. Při manipulaci používejte rukavice a ochranný oděv a přijměte přiměřená opatření, protože ProClin je klasifikován jako dráždivý a může způsobit senzibilizaci při styku s kůží. Zabraňte kontaktu s očima, kůží a sliznicemi.
- Zacházejte s materiály lidského nebo zvířecího původu jako s potenciálně biologicky nebezpečnými a likvidujte je s náležitými opatřeními. V případě expozice se řiďte zdravotními směrnici odpovědných úřadů, kde byly použity.<sup>6,7</sup>
- Se vzorky před a po fixaci a se všemi materiály, které jim byly vystaveny, by se mělo zacházet jako s těmi, které mohou přenášet infekci, a likvidujte je podle náležitých opatření. 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.<sup>8</sup>
- Mikrobiální kontaminace reagentií může vést ke zvýšení nespecifického zbarvení.
- Jiné než specifikované doby inkubace nebo teploty mohou vést k chybným výsledkům. Uživatel musí každou takovou změnu potvrdit.
- Nepoužívejte činidlo po uplynutí doby použitelnosti vytištěné na lahvičce.
- Činidla mikropolymerové detekční soupravy jsou optimalizována a připravena k použití s protilátkami Biocare a pomocnými činidly. Doporučené protokoly a podmínky použití naleznete v pokynech k použití primární protilátky a dalších pomocných činidel.
- Dodržujte požadavky místních a/nebo státních úřadů na způsob likvidace.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Czech


**BIOCARE**  
M E D I C A L

9. Bezpečnostní list je k dispozici na vyžádání a je umístěn na <http://biocare.net>.

10. Ohlaste jakékoli vážné incidenty související s tímto zařízením kontaktováním místního

Zástupce společnosti Biocare a příslušný příslušný orgán členského státu nebo země, kde se uživatel nachází.

Tento ONCORE Pro Hematoxylin obsahuje složky klasifikované tak, jak je uvedeno v tabulce níže v souladu s Nařízením (ES) č. 1272/2008

Nebezpečí	Kód	Prohlášení o nebezpečnosti
	H315 H319	Způsobuje podráždění kůže. Způsobuje vážné podráždění očí.

## Návod k použití:

Reagencie ONCORE Pro Hematoxylin jsou optimalizovány pro použití s protilátkami Biocare a pomocnými reagenciemi. Doporučené protokoly a podmínky použití naleznete v informacích o primárních protilátkách. Inkubační doby a teploty se budou lišit v závislosti na specifickém protokolu protilátek.

Při použití automatického barvicího přístroje si provozní parametry prostudujte v návodu k obsluze konkrétního přístroje a v návodu k použití.

## Návod k použití:

ONCORE Pro Hematoxylin je dodáván v lahvičkách připravených k použití na ONCORE Pro Automated Slide Stainer. Odvíčejte lahvičku a umístěte ji do zásobníku na činidla ONCORE Pro. ONCORE Pro Automated Slide Stainer aplikuje reagencie podle požadavků zvoleného protokolu. Doporučený protokol barvení naleznete v příslušném datovém listu protilátek. Podrobné pokyny k obsluze přístroje a doplňkovým možnostem protokolu naleznete v uživatelské příručce k automatizovanému systému barvení sklíček ONCORE Pro.

## Technické poznámky:

1. Filtrujte produkt 0,4-mikrometrovým filtrem, pokud jsou vidět částice.  
2. Biocare Medical používá pouze mořidla, která jsou certifikována komisí Biological Stain Commission. ONCORE Pro Hematoxylin je speciálně vytvořen tak, aby eliminoval nutnost diferenciací sekce.

**POZNÁMKA:** Největší námitka proti Mayerovu hematoxylinu používanému v minulosti byla ta, že obarvená sklíčka často po 1-3 letech vyblednou. Tento problém však lze odstranit, když se sklíčka po hematoxylinu omývají v tekoucí vodě po dobu minimálně 3-4 minut.

**POZNÁMKA:** Výzkumné studie společnosti Biocare ukazují, že pH vody z vodovodu a deionizované vody pro oplachování sklíček může ovlivnit zbarvení. pH se může v různých oblastech země sezónně měnit z kyselého na zásadité. Dále bylo hlášeno, že v některých státech došlo od rána do odpoledne ke změnám ve vodovodní vodě. Dlouhé doby oplachování po zmodrání mohou odlišit hematoxylin. Upravili jsme dobu máchání na 3-4 minuty místo předchozích 7-10 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](http://www.clsi.org)). 2011<sup>o</sup>

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 činidlem, kontaktujte technickou podporu společnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002 nebo prostřednictvím informací o technické podpoře na webu [biocare.net](http://biocare.net).

## Pozitivní tkáňová kontrola:

Materiály pro externí pozitivní kontrolu by měly být čerstvé vzorky fixované, zpracované a zalité co nejdříve stejným způsobem jako vzorky pacienta. Pozitivní 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 pro externí pozitivní kontroly je navržena tak, aby zajistila detekci jemných změn citlivosti primárních protilátek z nestability nebo problémů s IHC metodikou. Komerčně dostupná tkáňová kontrolní sklíčka nebo vzorky zpracované odlišně od vzorku (vzorků) pacienta pouze ověřují účinnost reagencí a neověřují přípravu tkáň.

Známé 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 fixovanou, zpracovanou a zalitou stejným způsobem jako vzorek (vzorky) pacienta s každým barvením, 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 používána laboratoří 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 negativní reagenční kontrola obsahuje protilátku vyrobenou a připravenou (tj. naředěnou na stejnou koncentraci za použití stejného ředidla) pro použití stejným způsobem jako primární protilátka, ale nevykazuje žádnou specifickou reaktivitu s lidskými tkáněmi ve stejné matici/roztoku jako Biocare protilátka. Samotné ředidlo může být použito jako méně žádaná 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

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Czech

**BIOCARE**  
M E D I C A L

nebo komplexy 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 tkáně. Viz postupy kontroly kvality dříve uvedené v této části příbalové informace k produktu a doporučení kontroly kvality certifikačního programu CAP<sup>®</sup> pro imunohistochemii a/nebo doporučení NCCLS IHC<sup>11</sup>. Tyto postupy kontroly kvality by se měly opakovat pro každou novou šarži protilátek nebo kdykoli dojde ke změně parametrů testu. Tkáně uvedené v části Výkonnostní 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:

Primární protilátka funguje ve spojení s pomocnými činidly a vytváří barevnou reakci na místech antigenu lokalizovaných primární protilátkou. Pomocné reagensie blokující pozadí pomáhají redukovat nespecifické barvení pozadí, aby se usnadnila interpretace reakce barvení specifická protilátka-antigen. Před interpretací výsledků pacienta musí barvení kontrol vyhodnotit kvalifikovaný patolog. Negativní kontroly se vyhodnotí a porovnají s obarvenými sklíčky, aby se zajistilo, že jakékoli pozorované zbarvení není výsledkem nespecifických interakcí.

## 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.<sup>12</sup>

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 tkáně 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 reagensií. 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.

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 (IVD) Použití
2. Tento produkt je určen pouze pro profesionální použití: Imunohistochemie je víceústupňový 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. Pro použití pouze na lékařský předpis. (Pouze Rx)
4. 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.<sup>12</sup>
5. Nadměrné nebo neúplné kontrastní barvení může ohrozit správnou interpretaci výsledků.
6. 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.
7. Optimální protokoly pro konkrétní aplikaci se mohou lišit. Mezi ně patří mimo jiné fixace, metoda získávání tepla, inkubační doby, ředění protilátek, tloušťka řezu tkáně a použitá detekční souprava. Doporučené protokoly a podmínky použití naleznete v pokynech k použití primární protilátky a dalších pomocných činidel. Doporučení a protokoly datových listů jsou založeny na výhradním použití produktů Biocare. V konečném důsledku je odpovědností vyšetřovatele určit optimální podmínky.
8. Tento produkt není určen pro použití v průtokové cytometrii. Výkonnostní charakteristiky nebyly pro průtokovou cytometrii stanoveny.
9. Tkáně osob infikovaných virem hepatitidy B a obsahující povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg) mohou vykazovat nespecifické barvení křenuovou peroxidázou.<sup>13</sup>
10. Reagensie mohou vykazovat neočekávané reakce v dřívě 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.<sup>15</sup> 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.
11. Normální/neimunitní séra ze stejného zvířecího zdroje jako sekundární antiséra použitá v blokacích krocích mohou způsobit falešně negativní nebo falešně pozitivní výsledky v důsledku autoprotilátek nebo přirozených protilátek.
12. Falešně pozitivní výsledky mohou být pozorovány v důsledku neimunologické vazby proteinů nebo produktů reakce substrátu. Mohou

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Czech

**BIOCARE**  
M E D I C A L

- 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.<sup>13</sup>
13. Negativní výsledek znamená, že antigen nebyl detekován, nikoli že antigen ve vyšetřovaných buňkách nebo tkáni chyběl.

#### Specifická omezení produktu:

*Žádná další specifická omezení produktu.*

#### **Výkonnostní charakteristiky:**

Barvení bylo provedeno pomocí protokolů poskytnutých v pokynech pro použití specifických pro protilátku nebo jak je uvedeno. Citlivost a specifická barvení byla hodnocena v celé řadě normálních a neoplastických typů tkání hodnocených během vývoje primárních protilátek.

#### Reprodukovatelnost:

Reprodukovatelnost činidel pro kontrastní barviva Biocare se ověřuje měřením střední přesnosti, při kterém byly různé šarže činidel testovány po delší dobu pomocí různých operátorů, analytiků, šarží činidel, vzorků tkání a vybavení. Barvení získané pro každé hodnocené detekční činidlo bylo konzistentní a provedlo se podle očekávání.

#### **Odstraňování problémů:**

1. Žádné barvení sklíček – Zkontrolujte, zda byly použity vhodné pozitivní kontrolní tkáň, protilátky a detekční produkty. Zkontrolujte neúplné nebo nesprávné odstranění vosku nebo předúpravu.
2. Slabé zabarvení všech sklíček – Zkontrolujte, zda byly použity vhodné pozitivní kontrolní tkáň, 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 titr protilátek, a také správné inkubační doby pro všechna činidla. Dále zajistěte, aby protokol obsahoval dostatek promývacích kroků k odstranění přebytkých 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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. 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.
9. 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

10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. 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.
12. 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.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Danish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Anvendelsesformål:

Til *in vitro* Diagnostisk brug

ONCORE Pro Hematoxylin er beregnet til brug af professionelle laboratoriebrugere til visualisering af cellulære kerner i formalinfixerede, paraffinindlejrede (FFPE) vævssnit i manuelle eller automatiserede procedurer. Det bruges som modfarvning i immunhistokemiske (IHC) og kromogene *in situ* hybridisering (CISH) applikationer. Det kan også bruges til rutinemæssig hæmatoxylin- og eosinfarvning. Den kliniske fortolkning af enhver farvning eller dens fravær bør suppleres af morfologiske undersøgelser og korrekte kontroller og bør evalueres i sammenhæng med patientens kliniske historie og andre diagnostiske test af en kvalificeret patolog.

## Sammenfatning og forklaring:

ONCORE Pro Hematoxylin er vandbaseret og er specielt formuleret til modfarvning på Biocare's ONCORE Pro Automated Stainer. ONCORE Pro Hematoxylin farver kerner himmelblå og giver højkontrastfarvning til kromogene farvningsprocedurer.

## Procedureprincip:

Dette modfarvningsreagens, når det påføres på forbehandlede formalinfixerede, paraffinindlejrede vævssektioner, farver cellekerner i vævssektioner og cellulære præparater.

## Medfølgende reagenser:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Kendte applikationer:

Immunhistokemi (formalinfixeret paraffinindlejret væv)

## Leveres som:

Hæmatoxylinopløsning. Se sikkerhedsdatabladet for yderligere detaljer.

## Rekonstitution, fortynding og blanding:

ONCORE Pro Hematoxylin er optimeret til brug med Biocare-antistoffer og hjælpereagenser og klar til brug med Biocare IHC-antistoffer og hjælpereagenser. Ingen rekonstitution, blanding, fortynding eller titrering er påkrævet.

## Nødvendige, men ikke medfølgende materialer og reagenser:

Objektglas til mikroskop positivt ladet.  
Ørkenkammer\* (tørreovn)  
Positive og negative vævskontroller  
Xylen (Kunne erstattes med xylenestatning\*)  
Ethanol eller reagens alkohol  
Afdækningskammer\* (trykkoger)  
Deioniseret eller destilleret vand  
Vaskebuffer\*  
Forbehandlingsreagenser\*  
Enzymfordøjelse\*  
Avidin-Biotin Blocking Kit\* (kun mærkede streptavidin-sæt)  
Peroxidaseblok\* (valgfrit)

Proteinblok\* (valgfrit)  
Primært antistof\*  
Negative kontrolreagenser\*  
Detektionssæt\*  
Kromogener\*  
Blåreagens\*  
Monteringsmedium\*

ONCORE Pro automatiseret farvningsplatform\*

\* Biocare Medical Products: Se Biocare Medicals websted på <http://biocare.net> for at få oplysninger om katalognumre og bestilling. Visse reagenser anført ovenfor er baseret på specifik anvendelse og det anvendte detektionssystem.

## Opbevaring og stabilitet:

Opbevares ved stuetemperatur væk fra lys. 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. Kit-reagenserne er klar til brug og bør ikke fortyndes. Stabiliteten af brugerfortyndet reagens er ikke blevet fastslået af Biocare.

## 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.<sup>1,2</sup>

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."<sup>3</sup>

## 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.<sup>4,5</sup>

## Advarsel og forholdsregler:

1. Kit-reagenser indeholder mindre end 0,05 % ProClin 300 og/eller mindre end 1 % ProClin 950. Bær handsker og beskyttelsestøj og tag rimelige forholdsregler ved håndtering, da ProClin er klassificeret som irriterende og kan forårsage hudkontaktsensibilisering. Undgå kontakt med øjne, hud og slimhinder.
2. Håndter materialer af menneskelig eller animalsk oprindelse som potentielt biofarlige og bortskaft sådanne materialer med passende forholdsregler. I tilfælde af eksponering, følg sundhedsdirektiverne fra de ansvarlige myndigheder, hvor det anvendes.<sup>6,7</sup>
3. 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.<sup>8</sup>
4. Mikrobiel kontaminering af reagenser kan resultere i en stigning i uspecifik farvning.
5. Andre inkubationstider eller temperaturer end de angivne kan give fejlagtige resultater. Brugeren skal validere enhver sådan ændring.
6. Brug ikke reagens efter den udløbsdato, der er trykt på hætteglasset.
7. Mikropolymerdetektionsreagenserne er optimeret og klar til brug med Biocare-antistoffer og hjælpereagenser. Se instruktionerne til det primære antistof og andre hjælpereagenser til brug for anbefalede protokoller og betingelser for brug.
8. Følg lokale og/eller statslige myndigheders krav til bortskaffelsesmetode.
9. SDS er tilgængeligt efter anmodning og findes på <http://biocare.net>.

 Biocare Medical

60 Berry Drive  
Pacheco, CA 94553  
USA

22/99



TP v1 (04/07/2022)

Tel: 800-799-9499 | [www.biocare.net](http://www.biocare.net) | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60  
6827 AT Arnhem  
The Netherlands

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923


Danish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

10. Rapportér alle alvorlige hændelser relateret til denne enhed ved at kontakte den lokale

Biocare-repræsentant og den relevante kompetente myndighed i den medlemsstat eller det land, hvor brugeren befinder sig.

Denne ONCORE Pro Hematoxylin indeholder komponenter klassificeret som angivet i tabellen nedenfor i overensstemmelse med forordning (EF) nr. 1272/2008

Fare	Kode	Faresætning
	H315 H319	Forårsager hudirritation. Forårsager alvorlig øjenirritation.

## Brugsanvisning:

ONCORE Pro Hematoxylin-reagenser er optimeret til brug med Biocare-antistoffer og hjælpereagenser. Se de primære antistofoplysninger til brug for anbefalede protokoller og betingelser for brug. Inkubationstider og temperaturer vil variere afhængigt af den specifikke antistofprotokol, der følges.

Når du bruger et automatiseret farvningsinstrument, skal du se den specifikke betjeningsvejledning til instrumentet og brugsanvisningen for driftsparametre.

## Brugsanvisning:

ONCORE Pro Hematoxylin leveres i hætteglas klar til brug på ONCORE Pro Automated Slide Stainer. Tag låget af hætteglasset og anbring det i ONCORE Pro-reagensbakken. ONCORE Pro Automated Slide Stainer vil påføre reagens efter behov i den valgte protokol. Se det relevante antistofdatatabel for den anbefalede farvningsprotokol. Se ONCORE Pro Automated Slide Staining System User Manual for detaljerede instruktioner om instrumentbetjening og yderligere protokolmuligheder.

## Tekniske noter:

1. Filtrér produktet med et 0,4 mikron filter, hvis der ses partikler.
2. Biocare Medical bruger kun pletter, der er certificeret af Biological Stain Commission. ONCORE Pro Hematoxylin er specielt formuleret til at eliminere nødvendigheden af differentiering af sektionen.  
BEMÆRK: Den største indvending mod Mayers hæmatoxylin, som brugt tidligere, har været, at farvede objektglas ofte falmer efter 1-3 år. Dette problem kan dog elimineres, når objektglassene vaskes efter hæmatoxylin i rindende vand i minimum 3-4 minutter.  
BEMÆRK: Biocares forskningsundersøgelser viser, at pH-værdien af postevand og DI-vand til skylning af objektglas kan påvirke farvning. pH kan ændre sig fra sur til basisk sæsonmæssigt i forskellige regioner af landet. Det er yderligere blevet rapporteret, at der har været ændringer i postevandet fra morgen til eftermiddag i nogle stater. Lange skylletider efter blåning kan differentiere hæmatoxylin. Vi har ændret vores skylletid til 3-4 minutter i stedet for de tidligere 7-10 minutter.

## 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). 2011<sup>2</sup>

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 reagenset, skal du kontakte Biocares tekniske support på 1-800-542-2002 eller via den tekniske supportinformation, der findes på biocare.net.

## Positiv vævskontrol:

Eksterne positive kontrolmaterialer skal være friske prøver fikseret, behandlet og indlejret så hurtigt som muligt på samme måde som patientprøven/patienterne. Positive vævskontroller er tegn på korrekt forberedt væv og korrekte farvningsteknikker. En positiv ekstern vævskontrol 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 mållaktivitet, der giver svag positiv farvning. Det lave niveau af positivitet for eksterne positive kontroller er designet til at sikre påvisning af subtile ændringer i det primære antistoffølsomhed 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 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 mållantigenet 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.

## Uspecifik 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 antistof produceret og forberedt (dvs. fortyndet til samme koncentration ved brug af samme fortyndingsmiddel) til brug på samme måde som det primære antistof, men udviser ingen specifik reaktivitet med humant væv i samme matrix/opløsning som Biocare antistof. 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:

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Danish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Før den første brug af et antistof eller farvningssystem 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 kvalitetskontrolbefalingerne fra CAP-certificeringsprogrammet<sup>10</sup> til immunhistokemi og/eller NCCLS IHC guideline<sup>11</sup>. Disse kvalitetskontrolprocedurer bør gentages for hvert nyt antistoflot, eller når der er en ændring i assayparametrene. Væv, der er angivet i afsnittet Ydelsesegenskaber, 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:

Et primært antistof arbejder sammen med hjælpereagenser for at frembringe en farvet reaktion på antigenstederne lokaliseret af det primære antistof. Baggrundsblok-hjælpereagenser hjælper med at reducere ikke-specifik baggrundsfarvning for at lette fortolkningen af den antistof-antigen-specifikke farvningsreaktion. Inden fortolkning af patientresultater skal farvningen af kontroller evalueres af en kvalificeret patolog. Negative kontroller evalueres og sammenlignes med farvede objektglas for at sikre, at enhver observeret farvning ikke er et resultat af uspecifikke interaktioner.

## 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 indlæggessedler for forventede farvereaktioner. Yderligere kan metakromasi observeres i variationer af farvningsmetoden.<sup>12</sup>

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 komplicere 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.

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

## Begrænsninger:

### Generelle begrænsninger:

1. *Til in vitro* diagnostisk (IVD) 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. Kun til brug efter lægerecept. (Kun Rx)
4. 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.<sup>13</sup>
5. Overdreven eller ufuldstændig modfarvning kan komplicere korrekt fortolkning af resultater.
6. 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.
7. De optimale protokoller til en specifik applikation kan variere. Disse omfatter, men er ikke begrænset til fiksering, varmehentningsmetode, inkubationstider, antistoffortynding, vævssnitthævelse og det anvendte detektionskit. Se instruktionerne til det primære antistof og andre hjælpereagenser til brug for anbefalede protokoller og betingelser for brug. Databladets anbefalinger og protokoller er baseret på eksklusiv brug af Biocare-produkter. I sidste ende er det efterforskerens ansvar at bestemme optimale forhold.
8. Dette produkt er ikke beregnet til brug i flowcytometri. Ydeevnekarakteristika er ikke blevet bestemt for flowcytometri.
9. Væv fra personer inficeret med hepatitis B-virus og indeholdende hepatitis B-overfladeantigen (HBsAg) kan udvise uspecifik farvning med peberrodsperoxidase.<sup>14</sup>
10. 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.<sup>15</sup> Kontakt Biocares tekniske support på 1-800-542-2002 eller via de tekniske supportoplysninger, der er angivet på biocare.net, med dokumenterede uventede reaktioner.
11. 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.
12. 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.<sup>13</sup>
13. Et negativt resultat betyder, at antigenet ikke blev påvist, ikke at antigenet var fraværende i de undersøgte celler eller væv.

### Produktspecifikke begrænsninger:

*Ingen yderligere produktspecifikke begrænsninger.*

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Danish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

## Ydelseskarakteristika:

Farvning blev udført ved hjælp af protokoller, der er angivet i de antistofspecifikke brugsanvisninger eller som specificeret. Sensitivitet og specificitet af farvning blev evalueret på tværs af en række normale og neoplastiske vævstyper evalueret under udvikling af primære antistoffer.

## Reproducerbarhed:

Reproducerbarheden af Biocares modfarvningsreagenser verificeres gennem en måling af mellemprecision, hvor forskellige reagenslots blev testet over en længere periode ved hjælp af forskellige operatører, analytikere, reagenslots, vævsprøver og udstyr. Farvningen opnået for hvert detektionsreagens, der blev evalueret, var konsistent og udført som forventet.

## Fejlfinding:

1. Ingen farvning af nogen objektglas – Tjek for at fastslå, om der er brugt passende positivt kontrolvæv, antistof og detektionsprodukter. Tjek for ufuldstændig eller ukorrekt voksfjernelse eller forbehandling.
2. Svag farvning af alle objektglas – Tjek for at fastslå, om der er anvendt passende positivt kontrolvæv, antistof og detektionsprodukter.
3. Overdreven baggrund af alle objektglas - Der kan være høje niveauer af endogen biotin (hvis der bruges biotinbaserede detektionsprodukter), endogen HRP-aktivitet, der omdanner kromogen til farvet slutprodukt (brug peroxidaseblok) eller overskydende uspecifik proteininteraktion (brug et protein blokering, såsom serum- eller kaseinbaseret blokeringsopløsning).
4. Vævssektioner vasker objektglas af under inkubation – Tjek objektglas for at sikre, at de er positivt ladede.
5. 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:

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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. 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.
9. 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
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. 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.
12. 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.

13. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Estonian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Mõeldud kasutamiseks:

Sest *in vitro* Diagnostiline kasutamine

ONCORE Pro Hematoxylin on mõeldud kasutamiseks professionaalsetele laborikasutajatele raku tuumade visualiseerimiseks formaliiniga fikseeritud, parafiiniga manustatud (FFPE) koelõikudes käsitsi või automatiseeritud protseduurides. Seda kasutatakse vastuvärvina immunohistokeemilistes (IHC) ja kromogeense *in situ* hübriidsatsiooni (CISH) rakendustes. Seda võib kasutada ka tavapäraseks hematoksüliini ja eosini värvimiseks. Mis tahes värvimise või selle puudumise kliinilist tõlgendamist peaksid täiendama morfoloogilised uuringud ja nõuetekohased kontrollid ning kvalifitseeritud patoloog peaks seda hindama patsiendi kliinilise ajaloo ja muude diagnostiliste testide kontekstis.

## Kokkuvõte ja selgitus:

ONCORE Pro Hematoxylin on veepõhine ja on spetsiaalselt loodud Biocare'i ONCORE Pro automatiseeritud värvimismasinaga värvimiseks. ONCORE Pro Hematoxylin värvib tuumad taevasiniseks ja tagab kõrge kontrastsusega värvimise kromogeensete värvimisprotseduuride jaoks.

## Menetluse põhimõte:

Eeltöödeldatud formaliiniga fikseeritud, parafiiniga manustatud koelõikudele kantuna värvib see vastuvärvimisreaktiiv koelõikudes ja rakupreparaatides raku tuumad.

## Kaasasolevad reaktiivid:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Tuntud rakendused:

Immunohistokeemia (formaliiniga fikseeritud parafiiniga kaetud koed)

## Tarnitakse järgmiselt:

Hematoksüliini lahus. Lisateabe saamiseks vaadake ohutuskaarti.

## Lahustamine, lahjendamine ja segamine:

ONCORE Pro Hematoxylin on optimeeritud kasutamiseks koos Biocare antikehade ja abireagentidega ning valmis kasutamiseks koos Biocare IHC antikehade ja abireaktiividega. Lahustamine, segamine, lahjendamine ega tiirimine pole vajalik.

## Vajalikud materjalid ja reaktiivid, mis ei ole kaasas:

Mikroskoobi slaidid on positiivselt laetud.

Desert Chamber\* (kuivatusahi)

Positiivsed ja negatiivsed koekontrollid

Ksüleen (võib asendada ksüleeni asendajaga\*)

Etanool või reaktiivalkohol

Deklaratsioonikamber\* (survepliit)

Deioniseeritud või destilleeritud vesi

pesupuhver\*

Eeltöötlusreaktiivid\*

Ensüümi seedimine\*

Avidin-Biotin Blocking Kit\* (ainult märgistatud streptavidiini komplektid)

Peroksidaasi blokk\* (valikuline)

Valguplokk\* (valikuline)

Primaarne antikeha\*

Negatiivsed kontrollreaktiivid\*

Tuvastamiskomplektid\*

Kromogeenid\*

Sinistamise reaktiiv\*

Paigaldusvahend\*

Automatiseeritud värvimisplatvorm ONCORE Pro\*

\* Biocare Medical Products: katalooginumbrite ja tellimise kohta teabe saamiseks vaadake Biocare Medicali veebisaiti aadressil <http://biocare.net>. Teatud ülaltoodud reaktiivid põhinevad konkreetsetel kasutusel ja kasutataval tuvastamissüsteemil.

## Säilitamine ja stabiilsus:

Hoida toatemperatuuril valguse eest kaitstult. Toode on sellistes tingimustes säilitamisel stabiilne kuni viaali etiketile trükitud aegumiskuupäevani. Ärge kasutage pärast aegumiskuupäeva. Säilitamist muudes tingimustes kui ette nähtud tuleb kontrollida. Komplekti reaktiiv(id) on kasutusvalmis ja neid ei tohi lahjendada. Biocare ei ole kindlaks teinud kasutaja lahjendatud reaktiivi stabiilsust.

## 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.<sup>1,2</sup>

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 prooviplokkid vähemalt kaks aastat alates uurimise kuupäevast.“<sup>3</sup>

## 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.<sup>4,5</sup>

## Hoiatus ja ettevaatusabinõud:

1. Komplekti reaktiivid sisaldavad vähem kui 0,05% ProClin 300 ja/või vähem kui 1% ProClin 950. Kandke kindaid ja kaitseriietust ning võtke käsitsemisel kasutusele mõistlikud ettevaatusabinõud, kuna ProClin on klassifitseeritud ärritavaks ja võib põhjustada nahakontakti ülitundlikkust. Vältida kokkupuudet silmade, naha ja limaskestadega.
2. Käsitsege inim- või loomset päritolu materjale kui potentsiaalselt bioloogilisel ohtlike materjale ja kõrvaldage need materjalid nõuetekohaste ettevaatusabinõudega. Kokkupuute korral järgige kasutamise korral vastutavate asutuste tervisejuhiseid.<sup>6,7</sup>
3. Proove enne ja pärast fikseerimist ning kõiki nendega kokkupuutuvaid materjale tuleb käsitada nii, nagu need oleksid võimelised 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.<sup>8</sup>
4. Reaktiivide mikroobne saastumine võib põhjustada mittespetsiifilise värvumise suurenemist.
5. Määratletud erinevad inkubatsiooniajad või temperatuurid võivad anda ekslikke tulemusi. Kasutaja peab kõik sellised muudatused kinnitama.
6. Ärge kasutage reaktiivi pärast viaalile trükitud kõlblikkusaega.
7. Mikropölvimeeride tuvastamise komplekti reaktiiv(id) on optimeeritud ja valmis kasutamiseks koos Biocare'i antikehade ja abireaktiividega. Soovitatavate protokollide ja kasutustingimuste kohta vaadake esmase antikeha ja teiste lisareaktiivide kasutusjuhiseid.
8. Järgige kõrvaldamismeetodi osas kohalike ja/või riigiasutuste nõudeid.
9. Ohutuskaart on saadaval nõudmisel ja asub aadressil <http://biocare.net>.

 Biocare Medical

60 Berry Drive  
Pacheco, CA 94553  
USA

26/99



TP v1 (04/07/2022)

Tel: 800-799-9499 | [www.biocare.net](http://www.biocare.net) | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60  
6827 AT Arnhem  
The Netherlands

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923


Estonian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

10. Teatage kõigist selle seadmega seotud tõsistest juhtumitest, võttes ühendust kohaliku

Biocare'i esindaja ja selle liikmesriigi või riigi asjakohane pädev asutus, kus kasutaja asub.

See ONCORE Pro Hematoxylin sisaldab komponente, mis on klassifitseeritud allolevas tabelis näidatud vastavalt määrusele (EÜ) nr 1272/2008

Oht	Kood	Ohuavaldus
	H315 H319	Põhjustab nahaärritust. Põhjustab tõsist silmade ärritust.

## Kasutusjuhend:

ONCORE Pro Hematoxylin reaktiivid on optimeeritud kasutamiseks koos Biocare'i antikehade ja abireaktiividega. Soovitavate protokollide ja kasutustingimuste kohta leiate teavet esmaste antikehade kasutamise kohta. Inkubatsiooniajad ja temperatuurid varieeruvad sõltuvalt järgitavast spetsiifilisest antikehade protokollist.

Automaatse värvimisinstrumendi kasutamisel lugege tööparameetrite kohta konkreetse instrumendi kasutusjuhendit ja kasutusjuhendit.

### Kasutusjuhend:

ONCORE Pro hematoksüliin on saadaval vialides, mis on ONCORE Pro automatiseeritud slaidivärvimismasinaga kasutamiseks valmis. Eemaldage vial ja asetage ONCORE Pro reaktiivi salve. Automated Slide Stainer ONCORE Pro rakendab reaktiivi vastavalt valitud protokollile. Soovitatud värvimisprotokollile leiate vastava antikeha andmelehel. Üksikasjalikud juhised instrumendi kasutamise ja täiendavate protokollivalikute kohta leiate ONCORE Pro automatiseeritud slaidivärvimissüsteemi kasutusjuhendist.

### Tehnilised märkused:

- Kui näete tahkeid osakesi, filtreerige toode 0,4-mikronilise filtriga.
  - Biocare Medical kasutab ainult plekke, mis on sertifitseeritud bioloogilise plekkide komisjoni poolt. ONCORE Pro Hematoxylin on spetsiaalselt loodud selleks, et vältida vajadus sektsioonide eristamiseks.
- MÄRKUS. Suurim vastuväide Mayeri hematoksüliinile, mida varem kasutati, on olnud see, et määratud objektiklaasid tuhuvad sageli 1–3 aasta pärast. Selle probleemi saab aga kõrvaldada, kui slide pestakse pärast hematoksüliini kasutamist jooksvas vees vähemalt 3-4 minutit.
- MÄRKUS. Biocare'i uuringud näitavad, et slaidide loputamiseks kasutatava kraani- ja DI-vee pH võib mõjutada värvimist. pH võib riigi erinevates piirkondades hooajaliselt muutuda happelisest aluseliseks. Lisaks on teatatud, et mõnes osariigis on hommikust pärastlõunani kraanivesi muutunud. Pikad loputusajad pärast siniseks muutmist võivad hematoksüliinil eristada. Oleme muutnud oma loputusaega 3-4 minutiks senise 7-10 minuti asemel.

### 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. aastal<sup>1</sup>

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

### Positiivne koekontroll:

Välised positiivse kontrolli materjalid peaksid olema värsked proovid, mis on fikseeritud, töödeldud ja sisestatud võimalikult kiiresti samamoodi nagu patsiendi proovid. Positiivsed koekontrollid näitavad õigesti ettevalmistatud kudesid ja õigeid värvimistehnikaid. Igasse värvimistsükklisse tuleks lisada üks positiivne väline koekontroll iga katsetingimuste komplekti kohta.

Väliste positiivsete kontrollmaterjalide jaoks kasutatavad koed tuleks valida patsiendi proovidest, millel on hästi iseloomustatud madal positiivse sihtaktiivsuse tase, mis annab nõrga positiivse värvumise. Väliste positiivsete kontrollide madal positiivse tase on loodud selleks, et tagada ebastabiilsusest või IHC meetodikaga seotud probleemidest tingitud peente 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, mis on fikseeritud, töödeldud ja sisestatud 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 reagenti kontrolli koos iga patsiendi proovi osaga, et hinnata mittespetsiifilist värvimist ja võimaldavad paremini tõlgendada spetsiifilist värvumist antigeeni saidil. Ideaalis sisaldab negatiivne reaktiivi kontroll antikeha, mis on toodetud ja valmistatud (st lahjendatud sama kontsentratsioonini, kasutades sama lahjendit) kasutamiseks samal viisil kui esmane antikeha, kuid sellel ei ole spetsiifilist reaktiivivõimet inimese kudede samas maatriksis/lahuses kui Biocare. antikeha. 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 täiendavaid patsiendi kudesid värvida ainult substraat-kromogeeni või ensüümi kompleksidega (PAP, avidiin-biotiin, streptavidiin) ja substraat-kromogeeniaga.

### Testi kinnitamine:

Enne antikeha või värvimissüsteemi esmakordset kasutamist diagnostilises protseduuris peaks kasutaja kontrollima antikeha spetsiifilisust, testides seda mitmel ettevõttesisesel kudedel, millel on teadaolevad

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Estonian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

immunohistokeemilised omadused, mis esindavad teadaolevaid positiivseid ja negatiivseid kudesid. Vaadake eelnevalt selles tootelehe jaotises kirjeldatud kvaliteedikontrolli protseduure ja CAP sertifitseerimisprogrammi kvaliteedikontrolli soovitusi.<sup>10</sup> immunohistokeemia ja/või NCCLS IHC juhiste jaoks.<sup>11</sup> Neid kvaliteedikontrolli protseduure tuleks korrata iga uue antikehapartii puhul või alati, kui analüüsiparameetrid muutuvad. Katse kontrollimiseks sobivad koed, mis on loetletud jaotises Performance Characteristics.

## Veotsing:

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

## Värvimise tõlgendamine:

Primaarne antikeha toimib koos abireagentidega, tekitades värvilise reaktsiooni primaarse antikeha poolt lokaliseeritud antigeeni saitidel. Taustaploki abireandid aitavad vähendada mittespetsiifilist taustavärvimist, et hõlbustada antikeha-antigeeni spetsiifilise värvimisreaktsiooni tõlgendamist. Enne patsiendi tulemuste tõlgendamist peab kvalifitseeritud patoloog kontrollide värvimist hindama. Negatiivseid kontrole hinnatakse ja võrreldakse värvitud objektiklaasidega, et tagada, et täheldatud värvumine ei ole mittespetsiifiliste interaktsioonide tagajärg.

## 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 aluspinnal pakendi infolehti. Lisaks võib metakromaatid täheldada värvimismeetodi variatsioonides.<sup>12</sup>

Kui kasutatakse vastuvärvi, olenevalt kasutatud vastuvärvi inkubatsiooni pikkusest ja tihedusest, põhjustab vastuvärvimine raku tuumade värvuse. Liigne või mittetäielik vastuvärvimine võib kahjustada tulemuste õiget tõlgendamist. Soovitatud vastuvärvimise kohta vaadake protokollid/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 väljumisega. Sidekoe juhuslikku värvimist võib täheldada ka liigselt formaliiniga 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.

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

## Piirangud:

### Üldised piirangud:

1. *Sest in vitro* diagnostika (IVD) kasutamine
2. See toode on mõeldud ainult professionaalseks kasutamiseks: Immunohistokeemia on mitmeastmeline diagnostiline protsess, mis koosneb sobivate reaktiivide valimisest erikoolitusest; kudede valik, fikseerimine ja töötlemine; IHC slaidi ettevalmistamine; ja värvimistulemuste tõlgendamine.
3. Kasutamiseks ainult arsti retsepti alusel. (Ainult Rx)
4. Kudede värvimine sõltub koe käsitsemisest ja töötlemisest enne värvimist. Ebaõige fikseerimine, külmutamine, sulatamine, pesemine, kuivatamine, kuumutamine, lõikamine või saastumine teiste kudede või vedelikega võib põhjustada artefakte, antikehade kinnijäämist või valenegatiivseid tulemusi. Ebajärjekindlad tulemused võivad olla tingitud fikseerimis- ja kinnistamismeetodite erinevustest või koe omastest ebakorrapärasustest.<sup>12</sup>
5. Liigne või mittetäielik vastuvärvimine võib kahjustada tulemuste õiget tõlgendamist.
6. 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.
7. Konkreetse rakenduse optimaalsed protokollid võivad erineda. Nende hulka kuuluvad (kuid mitte ainult) fikseerimine, kuumuse taastamise meetod, inkubatsiooniajad, antikehade lahjendamine, koelõike paksus ja kasutatud tuvastamiskomplekt. Soovitatavate protokollide ja kasutustingimuste kohta vaadake esmase antikeha ja teiste lisareaktiivide kasutusjuhiseid. Andmelehe soovitused ja protokollid põhinevad ainult Biocare toodete kasutamisel. Lõppkokkuvõttes vastutab uurija optimaalsete tingimuste kindlaksmääramise eest.
8. See toode ei ole ette nähtud kasutamiseks voolutsütomeetrias. Voolutsütomeetria jõudlusnäitajaid ei ole määratud.
9. B-hepatiidi viirusega nakatunud ja B-hepatiidi pinnaantigeeni (HBsAg) sisaldavate inimeste kudedel võib ilmneda määrdõika peroksüdaasiga mittespetsiifiline värvumine.<sup>14</sup>
10. 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.<sup>15</sup> Dokumenteeritud ootamatu(te) reaktsiooni(de)ga võtke ühendust Biocare'i tehnilise toega numbril 1-800-542-2002 või veebisaidil biocare.net pakutava tehnilise toe teabe kaudu.
11. Normaalsed/mitteimmuunseid seerumid, mis pärinevad samast loomsest allikast kui blokeerimisetappides kasutatavad sekundaarsed antiseerumid, võivad autoantikehade või looduslike antikehade tõttu põhjustada valenegatiivseid või valepositiivseid tulemusi.
12. Valepositiivseid tulemusi võib näha valkude või substraadi reaktsiooniproductide 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.<sup>13</sup>
13. Negatiivne tulemus tähendab, et antigeeni ei tuvastatud, mitte seda, et uuritud rakkudes või koes antigeen puudus.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Estonian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

## Tootepõhised piirangud:

*Täiendavaid tootespetsiifilisi piiranguid pole.*

## **Toimivusomadused:**

Värvimine viidi läbi, kasutades protokolle, mis on esitatud antikehaspetsiifilistes kasutusjuhistes või vastavalt täpsustatule. Värvimise tundlikkust ja spetsiifilisust hinnati mitmesuguste normaalsete ja neoplastiliste koetüüpide puhul, mida hinnati primaarseste antikehade väljatootamise ajal.

## Reprodutseeritavus:

Biocare'i vastuvärvide reaktiivide reprodutseeritavust kontrollitakse keskmise täpsusega mõõtmise teel, mille käigus testiti erinevaid reaktiivpartiidid pikema aja jooksul erinevate operaatorite, analüütikute, reaktiivpartiidide, koeproovide ja seadmete abil. Iga hinnatud tuvastamisreagenti värvimine oli järjepidev ja viidi läbi ootuspäraselt.

## **Veotsing:**

1. Objektiklaasid ei värvunud – Kontrollige, kas on kasutatud sobivat positiivset kontrollkudet, antikeha ja tuvastamisprodukte. Kontrollige, kas vaha eemaldamine või eeltöötlemine on puudulik või vale.
2. Kõigi objektiklaaside nõrk värvumine – Kontrollige, kas on kasutatud sobivat positiivset kontrollkudet, antikeha ja tuvastamistooteid.
3. 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).
4. Koeosad pesevad slaididelt inkubeerimise ajal maha – Kontrollige slaide, et veenduda, et need on positiivselt laetud.
5. 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:**

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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. 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.
9. 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
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. <http://www.cap.org> (800) 323-4040.
11. 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.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Finnish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Käyttötarkoitus:

varten *in vitro* Diagnostinen käyttö

ONCORE Pro Hematoxylin on tarkoitettu laboratorioammattikäyttäjien käyttöön solutumien visualisointiin formaliinilla kiinnitetyissä, parafiiniin upotetuissa (FFPE) kudosleikkeissä manuaalisissa tai automatisoiduissa toimenpiteissä. Sitä käytetään vastavärjänä immunohistokemiallisissa (IHC) ja kromogeenisissa *in situ* -hybridisaatiosovelluksissa (CISH). Sitä voidaan käyttää myös rutiinonomaiseen hematoksyliini- ja eosiinivärjykseen. Minkä tahansa värjäytymisen tai sen puuttumisen kliinistä tulkintaa tulisi täydentää morfologisilla tutkimuksilla ja asianmukaisilla kontrolleilla, ja pätevä patologin tulee arvioida potilaan kliinisen historian ja muiden diagnostisten testien yhteydessä.

## Yhteenveto ja selitys:

ONCORE Pro Hematoxylin on vesipohjainen, ja se on erityisesti suunniteltu vastavärjykseen Biocaren ONCORE Pro Automated Stainerilla. ONCORE Pro Hematoxylin värjää ytimet taivaansiniseksi ja tarjoaa korkeakontrastisen värjäyksen kromogeenisiin värjäystoimenpiteisiin.

## Menettelyn periaate:

Tämä vastavärjäysreagenssi, kun sitä käytetään esikäsitellyille formaliinilla kiinnitetyille, parafiiniin upotetuille kudosleikkeille, värjää kudosleikkeiden ja soluvalmisteiden soluytimet.

## Mukana toimitetut reagenssit:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Tunnetut sovellukset:

Immunohistokemia (formaliinilla kiinnitetyt parafiiniin upotetut kudokset)

## Toimitettu nimellä:

Hematoksyliiniliuos. Katso lisätietoja käyttöturvallisuustiedotteesta.

## Liuottaminen, laimennus ja sekoittaminen:

ONCORE Pro Hematoxylin on optimoitu käytettäväksi Biocare-vasta-aineiden ja apureagenssien kanssa ja valmis käytettäväksi Biocare IHC -vasta-aineiden ja apureagenssien kanssa. Käyttövalmiiksi saattamista, sekoittamista, laimentamista tai titrausta ei tarvita.

## Tarvittavat materiaalit ja reagenssit, joita ei toimiteta:

Mikroskoopin objektilasit ovat positiivisesti varattuja.

Desert Chamber\* (kuivausuuni)

Positiiviset ja negatiiviset kudoksetrollit

Ksyleeni (voidaan korvata ksyleenin korvikkeella\*)

Etanoli tai reagenssialkoholi

Peittokammio\* (painekeitin)

Deionisoitu tai tislattu vesi

Pesupuskuri\*

Esikäsitelyreagenssit\*

Entsyymisulatus\*

Avidin-Biotin Blocking Kit\* (vain merkityt streptavidinisarjat)

Peroksidaasi esto\* (valinnainen)

Proteiiniblokki\* (valinnainen)

Primaarinen vasta-aine\*

Negatiiviset kontrollireagenssit\*

Tunnistussarjat\*

Kromogeenit\*

Sinitysreagenssi\*

Asennusväline\*

ONCORE Pro automaattinen värjäysalusta\*

\* Biocare Medical Products: Lisätietoja luettelonumeroista ja tilauksesta on Biocare Medicalin verkkosivustolla osoitteessa <http://biocare.net>. Tiedot edellä luetellut reagenssit perustuvat tiettyyn sovellukseen ja käytettyyn tunnistusjärjestelmään.

## Varastointi ja vakaus:

Säilytä huoneenlämmössä valolta suojassa. Tuote säilyy näissä olosuhteissa säilytettyinä injektiopullon etikettiin painettuun viimeiseen käyttöpäivään asti. Älä käytä viimeisen käyttöpäivän jälkeen. Varastointi muissa kuin määritellyissä olosuhteissa on tarkistettava. Sarjan reagenssi(t) ovat käyttövalmiita, eikä niitä saa laimentaa. Biocare ei ole vahvistanut käyttäjän laimennettua reagenssin stabiilisuutta.

## Näytteen valmistus:

Formaliiniin kiinnitetyt kudokset soveltuvat käytettäväksi ennen parafiiniin upottamista. Luukudokset tulee poistaa kalkki ennen kudosten käsittelyä kudoksen leikkaamisen helpottamiseksi ja mikrotomin terien vaurioitumisen estämiseksi.<sup>1,2</sup>

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 värjätty objektilasit vähintään kymmenen vuotta tutkia ja säilyttää näytekappaleet vähintään kaksi vuotta tutkimuspäivästä."<sup>3</sup>

## Kudosten hoito ennen värjäystä:

Suorita Heat Induced Epitoope Retrieval (HIER) alla suositellun protokollan mukaisesti. HIER:n rutiinonomaisen käytön ennen IHC:tä on osoitettu minimoivan epäjohtonmukaisuudet ja standardoivan värjäytymistä.<sup>4,5</sup>

## Varoitukset ja varotoimet:

1. Sarjan reagenssit sisältävät alle 0,05 % ProClin 300:aa ja/tai alle 1 % ProClin 950:tä. Käytä käsitellessäsi ja suojavaatetusta ja noudata kohtuullisia varotoimia käsitellessäsi, koska ProClin on luokiteltu ärsyttäväksi ja voi aiheuttaa ihokosketusherkistymistä. Vältä joutumista silmiin, iholle ja limakalvoille.

2. Käsittele ihmis- tai eläinperäisiä materiaaleja mahdollisesti biologisesti vaarallisina ja hävitä tällaiset materiaalit asianmukaisin varotoimin. Noudata altistumistapauksessa vastaavien viranomaisten antamia terveysmääräyksiä.<sup>6,7</sup>

3. Näytteitä ennen kiinnitystä ja sen jälkeen sekä kaikkia niille altistettuja materiaaleja tulee käsitellä ikään kuin ne voisivat siirtää 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.<sup>8</sup>

4. Reagenssien mikrobikontaminaatio voi johtaa epäspesifisen värjäytymisen lisääntymiseen.

5. Muut kuin ilmoitetut inkubointiajat tai lämpötilat voivat antaa virheellisiä tuloksia. Käyttäjän on vahvistettava kaikki tällaiset muutokset.

6. Älä käytä reagenssia pulloon painetun viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.

7. Mikropolymerien tunnistussarjan reagenssi(t) on optimoitu ja valmis käytettäväksi Biocare-vasta-aineiden ja apureagenssien kanssa. Katso

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Finnish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

suositellut protokollat ja käyttöolosuhteet ensisijaisen vasta-aineen ja muiden apureagenssien käyttöohjeista.


8. Noudata paikallisten ja/tai valtion viranomaisten vaatimuksia hävitysmenetelmistä.

9. Käyttöturvallisuustiedote on saatavilla pyynnöstä, ja se sijaitsee osoitteessa <http://biocare.net>.

10. Ilmoita kaikista tähän laitteeseen liittyvistä vakavista tapahtumista ottamalla yhteyttä paikalliseen

Biocaren edustaja ja sen jäsenvaltion tai maan toimivaltainen viranomainen, jossa käyttäjä sijaitsee.

Tämä ONCORE Pro Hematoxylin sisältää komponentteja, jotka on luokiteltu alla olevan taulukon mukaisesti asetuksen (EY) N:o 1272/2008 mukaisesti.

Vaara	Koodi	Vaaralauseke
	H315 H319	Ärsyttää ihoa. Ärsyttää voimakkaasti silmiä.

## Käyttöohjeet:

ONCORE Pro Hematoxylin -reagenssit on optimoitu käytettäväksi Biocare-vasta-aineiden ja apureagenssien kanssa. Katso suositellut protokollat ja käyttöolosuhteet ensisijaisen vasta-aineiden tiedoista. Inkubointiajat ja -lämpötilat vaihtelevat noudatetun spesifisen vasta-aineprotokollan mukaan.

Kun käytät automaattista värjäysinstrumenttia, katso laitteen käyttöoppaasta ja käyttöohjeista käyttöparametreja.

## Käyttöohjeet:

ONCORE Pro Hematoxylin toimitetaan injektiopulloissa, jotka ovat valmiina käytettäväksi ONCORE Pro Automated Slide Stainerissa. Avaa pullon korkki ja aseta se ONCORE Pro -reagenssialustalle. ONCORE Pro Automated Slide Stainer levittää reagenssia valitun protokollan mukaisesti. Katso suositeltu värjäysprotokolla sopivasta vasta-ainetietolomakkeesta. Katso ONCORE Pro Automated Slide Staining System -käyttöoppaasta yksityiskohtaiset ohjeet instrumentin käytöstä ja lisäprotokollavaihtoehtoista.

## Tekniset huomautukset:

- Suodata tuote 0,4 mikronin suodattimella, jos siinä näkyy hiukkasia.
- Biocare Medical käyttää vain Biological Stain Commissionin sertifioimia tahroja. ONCORE Pro Hematoxylin on erityisesti suunniteltu poistamaan osien eriyttämisen välttämättömyys.

HUOMAA: Suurin vastalause Mayerin hematoksyliinille, jota käytettiin aiemmin, on ollut se, että värjätyt objektilasit haalistuvat usein 1-3 vuoden kuluttua. Tämä ongelma voidaan kuitenkin eliminoida, kun objektilasit pestään hematoksyliinin jälkeen juoksevassa vedessä vähintään 3-4 minuuttia.

HUOMAA: Biocaren tutkimustutkimukset osoittavat, että vesijohtoveden pH-arvot ja DI-veden huuhelvedet voivat vaikuttaa värjäytymiseen. pH voi muuttua happamasta emäksiseksi kausittain maan eri alueilla. Lisäksi on raportoitu, että joissakin osavaltioissa vesijohtovedessä on tapahtunut muutoksia aamusta iltopäivään. Pitkät huuheluaajat sinistykseen jälkeen voivat erottaa hematoksyliinin. Olemme muuttaneet huuheluaikaamme 3-4 minuuttiin aiemman 7-10 minuutin sijaan.

## Laadunvalvonta:

Katso CLSI-laatustandardit immunohistokemiallisten määritysten suunnittelua ja toteutusta varten; Hyväksytty Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA ([www.clsi.org](http://www.clsi.org)). 2011<sup>3</sup>

Positiiviset ja negatiiviset kontrollit tulee suorittaa samanaikaisesti kaikkien potilasnäytteiden kanssa. Jos havaitaan odottamatonta värjäytymistä, jota ei voida selittää laboratoriomenetelmien vaihteluilla, ja epäilet, että reagenssissa on ongelma, ota yhteyttä Biocaren tekniseen tukeen numeroon 1-800-542-2002 tai [biocare.net](http://biocare.net)-sivustolla olevien teknisen tuen tietojen kautta.

## Positiivinen kudoskontrolli:

Ulkoisten positiivisten kontrollimateriaalien 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 on kiinnitetty, käsitelty ja upotettu identtisellä tavalla potilasnäytteiden kanssa joka värjäysajossa varmistaaksesi IHC:n primaarisen vasta-aineen spesifisyyden. Kohdeantigeenin osoittamiseen ja spesifisen taustavärjäytymisen osoittamiseen (väärä positiivinen värjäys). Myös useimmat eri solutyypit, joita esiintyy useimmissa kudosteissa, voivat laboratorio käyttää niitä sisäisinä negatiivisina kontrollipaikkoina IHC:n suorituskyvyn tarkistamiseen tekniset tiedot. Näytetyypit ja -lähteet, joita voidaan käyttää negatiiviseen kudokseen säätimet on lueteltu Suorituskykyominaisuudet-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 tulkinannon antigeenikohdassa. Ihannetapauksessa negatiivinen reagenssikontrolli sisältää vasta-aineen, joka on tuotettu ja valmistettu (eli laimennettu samaan konsentraatioon käyttäen samaa laimennusainetta) käytettäväksi samalla tavalla kuin ensisijainen vasta-aine, mutta sillä ei ole spesifistä reaktiivisuutta ihmiskudosten kanssa samassa matriisissa/liuoksessa kuin Biocare. vasta-aine. Pelkkää laimennusainetta voidaan käyttää vähemmän toivottavana vaihtoehtona aiemmin kuvatuille negatiivisille reagenssikontrolleille. Negatiivisen reagenssikontrollin inkubaatioajan tulee vastata primaarisen vasta-aineen inkubaatioaikaa.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Finnish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Kun sarjaleikkeissä käytetään useiden vasta-aineiden paneeleja, yhden objektin negatiivisesti värjättyneet 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 suorituskyvyominaisuudet tunnetaan ja jotka edustavat tunnettuja positiivisia ja negatiivisia kudoksia. Tutustu laadunvalvontamenettelyihin, jotka on kuvattu aiemmin tässä tuoteselosteen osassa ja CAP-sertifiointiohjelman laadunvalvontasuosituksissa.<sup>10</sup> Immunohistokemiaa ja/tai NCCLS IHC -ohjetta varten<sup>11</sup>. Nämä laadunvalvontatoimenpiteet on toistettava jokaiselle uudelle vasta-aineerälle tai aina, kun määrittämissä tapahtuu muutoksia. Suorituskyvyominaisuudet-osiossa luetellut kudokset soveltuvat määrityksen todentamiseen.

## Ongelmien kartoittaminen:

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

## Värjäyksen tulkinta:

Primaarinen vasta-aine toimii yhdessä apureagenssien kanssa tuottaen värillisen reaktion primaarisen vasta-aineen paikantamisessa antigeenikohtissa. Taustalohkon apureagenssit auttavat vähentämään epäspesifistä taustavärjäytymistä vasta-aine-antigeenispesifisen värjäysreaktion tulkinnan helpottamiseksi. Ennen potilastulosten tulkintaa pätevän patologin on arvioitava kontrollien värjäys. Negatiiviset kontrollit arvioidaan ja niitä verrataan värjättyihin objektilaseihin sen varmistamiseksi, että havaittu värjäytyminen ei ole seurausta epäspesifisestä vuorovaikutuksesta.

## Positiivinen kuduskontrolli:

Osoitetuilla vasta-aineilla värjätty positiivinen kuduskontrolli tulee ensin tutkia sen varmistamiseksi, että kaikki reagenssit toimivat oikein. Kohdesolujen asianmukainen värjäys (kuten edellä on osoitettu) osoittaa positiivista reaktiivisuutta. Jos positiiviset kuduskontrollit eivät osoita positiivista värjäytymistä, testinäytteillä saatuja tuloksia on pidettävä virheellisinä.

Reaktiotuotteen väri voi vaihdella riippuen käytetyistä substraattikromogeenista. Katso odotetut värireaktiot alustan pakkauslaseista. Lisäksi metakromiaa voidaan havaita värjäysmenetelmän muunnelmissa.<sup>12</sup>

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

## Negatiivinen kuduskontrolli:

Negatiivinen kuduskontrolli tulee tutkia positiivisen kuduskontrollin jälkeen primaarisen vasta-aineen kohdeantigeenin leiman spesifisyyden varmistamiseksi. Spesifisen värjäytymisen puuttuminen negatiivisessa kuduskontrollissa vahvistaa vasta-aineen ristireaktiivisuuden puuttumisen soluja/solukomponentteja kohtaan. Jos negatiivisessa ulkoisessa kuduskontrollissa 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 kiinnitetyistä kudoksista. Käytä ehjiä soluja värjäystulosten tulkittamiseen. Nekroottiset tai rappeutuneet solut värjättyvät 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 soluista/kudoksesta. Käytä tarvittaessa vasta-ainepaneelia tunnistaaksesi väärät negatiiviset reaktiot.

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

## Rajoitukset:

### Yleiset rajoitukset:

1. varten *in vitro* diagnostinen (IVD) 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. Vain lääkärin määräyksestä käytettäväksi. (vain Rx)
4. 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 negatiivista tuloksia. Epäjohdonmukaiset tulokset voivat johtua vaihteluista kiinnitys- ja upotusmenetelmistä tai kudoksen sisäisistä epäspesifisyyksistä.<sup>13</sup>
5. Liiallinen tai epätätymäinen vastavärjäys voi vaarantaa tulosten oikean tulkinnan.
6. 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 kontrolleja 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 tulkinassa.
7. Optimaaliset protokollat tietyille sovellukselle voivat vaihdella. Näitä ovat muun muassa kiinnitys, lämmön talteenottomenetelmä, inkubaatioajat, vasta-ainelaimennus, kudosteoksen pakkaus ja käytetty havaitsemispakkaus. Katso suositellut protokollat ja käyttöolosuhteet ensisijaisen vasta-aineen ja muiden apureagenssien käyttöohjeista. Käyttöturvallisuustiedotteen suositukset ja protokollat perustuvat Biocare-tuotteiden yksinomaan käyttöön. Viime kädessä on tutkijan vastuulla määrittää optimaaliset olosuhteet.
8. Tätä tuotetta ei ole tarkoitettu käytettäväksi virtausytometriassa. Virtausytometrian suorituskyvyominaisuuksia ei ole määritetty.
9. Hepatiitti B -viruksella infektoiduneiden henkilöiden kudoksissa, jotka sisältävät hepatiitti B -pinta-antigeeniä (HBsAg), voi esiintyä epäspesifistä piparjuuriperoksidaasin värjäytymistä.<sup>14</sup>
10. 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.<sup>15</sup> Ota yhteyttä Biocaren tekniseen tukeen numerossa 1-800-542-2002 tai biocare.net-sivustossa

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Finnish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

olevien teknisen tuen tietojen kautta ja kerro dokumentoiduista odottamattomista reaktioista.

11. Normaali/ei-immuniseerumit samasta eläinlähteestä kuin estovaiheissa käytetyt sekundaariset antiseerumit voivat aiheuttaa vääriä negatiivisia tai vääriä positiivisia tuloksia autovasta-aineista tai luonnollisista vasta-aineista johtuen.
12. Vääriä 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 tyylistä.<sup>13</sup>
13. Negatiivinen tulos tarkoittaa, että antigeeniä ei havaittu, ei sitä, että antigeeni puuttui tutkituista soluista tai kudoksesta.

## Tuotekohtaiset rajoitukset:

Ei muita tuotekohtaisia rajoituksia.

## Suorituskykyominaisuudet:

Värjäys suoritettiin käyttämällä vasta-ainekohtaisissa käyttöohjeissa annettuja tai määriteltyjä protokollia. Värjäytymisen herkkyys ja spesifisyys arvioitiin useissa normaaleissa ja neoplastisissa kudostyypeissä, jotka arvioitiin primaaristen vasta-aineiden kehittymisen aikana.

## Toistettavuus:

Biocaren vastavärireagenssien toistettavuus varmistetaan keskimääräisellä tarkkuudella, jossa eri reagenssierät testattiin pitkän ajanjakson ajan käyttämällä erilaisia toimijoita, analytikoita, reagenssieriä, kudosnäytteitä ja laitteita. Jokaiselle arvioidulle detektoreagenssille saatu värjäys oli johdonmukainen ja suoritettiin odotetulla tavalla.

## Ongelmien kartoittaminen:

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

## Viitteet:

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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.

7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. 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.
9. 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
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. 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.
12. 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.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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.
15. 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

33/99



TP v1 (04/07/2022)

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

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Greek

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Προβλεπόμενη χρήση:

Για *in vitro* Διαγνωστική χρήση

Το ONCORE Pro Hematoxylin προορίζεται για χρήση από επαγγελματίες χρήστες του εργαστηρίου για την οπτικοποίηση κυτταρικών πυρήνων σε τομές ιστού σταθεροποιημένες με φορμαλίνη, ενσωματωμένες σε παραφίνη (FFPE) σε χειροκίνητες ή αυτοματοποιημένες διαδικασίες. Χρησιμοποιείται ως αντιχρώση σε εφαρμογές ανοσοϊστοχημικής (IHC) και χρωμογόνου *in situ* υβριδισμού (CISH). Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για τη συνήθη χρώση με αιματοξυλίνη και ηωσίνη. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται από μορφολογικές μελέτες και κατάλληλους ελέγχους και θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από εξειδικευμένο παθολόγο.

## Περιληψη και Επεξήγηση:

Το ONCORE Pro Hematoxylin είναι με βάση το νερό και είναι ειδικά σχεδιασμένο για αντιχρώση στο ONCORE Pro Automated Stainer της Biocare. Το ONCORE Pro Hematoxylin χρωματίζει τους πυρήνες μπλε του ουρανού και παρέχει χρώση υψηλής αντίθεσης για διαδικασίες χρωμογονικής χρώσης.

## Αρχή Διαδικασίας:

Αυτό το αντιδραστήριο αντιχρώσης όταν εφαρμόζεται σε προεπεξεργασμένα, σταθεροποιημένα με φορμαλίνη, ενσωματωμένα σε παραφίνη τμήματα ιστού λερώνει τους κυτταρικούς πυρήνες σε τμήματα ιστού και κυτταρικά παρασκευάσματα.

## Παρεχόμενα αντιδραστήρια:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Γνωστές εφαρμογές:

Ανοσοϊστοχημεία (ιστοί ενσωματωμένοι σε παραφίνη σταθεροποιημένοι με φορμαλίνη)

## Παρέχεται ως:

Διάλυμα αιματοξυλίνης. Δείτε το Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας για πρόσθετες λεπτομέρειες.

## Ανασύσταση, αραιώση και ανάμιξη:

Το ONCORE Pro Hematoxylin είναι βελτιστοποιημένο για χρήση με αντισώματα Biocare και βοηθητικά αντιδραστήρια και έτοιμο για χρήση με αντισώματα Biocare IHC και βοηθητικά αντιδραστήρια. Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμιξη, αραιώση ή τιτλοδότηση.

## Υλικά και αντιδραστήρια που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται:

Το μικροσκόπιο ολισθαίνει θετικά φορτισμένο.  
Desert Chamber\* (Φούρνος στεγνώματος)  
Θετικοί και αρνητικοί έλεγχοι ιστών  
Ξυλόλιο (Θα μπορούσε να αντικατασταθεί με υποκατάστατο ξυλολίου\*)  
Αιθανόλη ή αλκοόλη αντιδραστηρίου  
Θάλαμος Decloaking\* (Χύτρα ταχύτητας)  
Απιονισμένο ή απεσταγμένο νερό  
Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης\*

Αντιδραστήρια προεπεξεργασίας\*

Πέψη ενζύμων\*

Κιτ αποκλεισμού αβιδίνης-βιοτίνης\* (μόνο κιτ στρεπταβιδίνης με ετικέτα)

Μπλοκ υπεροξειδάσης\* (Προαιρετικό)

Μπλοκ πρωτεΐνης\* (Προαιρετικό)

Πρωτογενές αντίσωμα\*

Αντιδραστήρια αρνητικού ελέγχου\*

Κιτ ανίχνευσης\*

Χρωμογόνα\*

Μπλε αντιδραστήριο\*

Μέσο τοποθέτησης\*

Αυτοματοποιημένη πλατφόρμα χρώσης ONCORE Pro\*

\* Ιατρικά Προϊόντα Biocare: Ανατρέξτε στον ιστότοπο της Biocare Medical που βρίσκεται στη διεύθυνση <http://biocare.net> για πληροφορίες σχετικά με τους αριθμούς καταλόγου και τις παραγγελίες. Ορισμένα αντιδραστήρια που αναφέρονται παραπάνω βασίζονται σε συγκεκριμένη εφαρμογή και σύστημα ανίχνευσης που χρησιμοποιείται.

## Αποθήκευση και σταθερότητα:

Φυλάσσετε σε θερμοκρασία δωματίου μακριά από το φως. 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 οποιαδήποτε συνθήκες εκτός από αυτές που καθορίζονται πρέπει να επαληθεύεται. Τα αντιδραστήρια του κιτ είναι έτοιμα προς χρήση και δεν πρέπει να αραιώνονται. Η σταθερότητα του αντιδραστηρίου αραιωμένου χρήστη δεν έχει τεκμηριωθεί από τη Biocare.

## Προετοιμασία δείγματος:

Οι ιστοί στερεωμένοι σε φορμαλίνη είναι κατάλληλοι για χρήση πριν από την ενσωμάτωση παραφίνης. Οι οστικοί ιστοί θα πρέπει να απασβεστώνονται πριν από την επεξεργασία του ιστού για να διευκολυνθεί η κοπή του ιστού και να αποφευχθεί η ζημία στις λεπίδες του μικροτόμου.<sup>1,2</sup>

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.»<sup>3</sup>

## 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.<sup>4,5</sup>

## Προειδοποίηση και προφυλάξεις:

1. Τα αντιδραστήρια του κιτ περιέχουν λιγότερο από 0,05% ProClin 300 και/ή λιγότερο από 1% ProClin 950. Φοράτε γάντια και προστατευτικό ρουχισμό και λαμβάνετε εύλογες προφυλάξεις κατά το χειρισμό καθώς το ProClin ταξινομείται ως ερεθιστικό και μπορεί να προκαλέσει ευαισθητοποίηση σε επαφή με το δέρμα. Αποφύγετε την επαφή με τα μάτια, το δέρμα και τους βλεννογόνους.
2. Χειριστείτε υλικά ανθρώπινης ή ζωικής προέλευσης ως δυνητικά βιολογικά επικίνδυνα και απορρίψτε τα υλικά αυτά με τις κατάλληλες προφυλάξεις. Σε περίπτωση έκθεσης, ακολουθήστε τις υγειονομικές οδηγίες των αρμόδιων αρχών όπου χρησιμοποιείται.<sup>6,7</sup>
3. Τα δείγματα, πριν και μετά τη στερέωση, και όλα τα υλικά που εκτίθενται σε αυτά θα πρέπει να αντιμετωπίζονται σαν να μπορούν 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.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Greek

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έρθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφθονη ποσότητα νερού.»

4. Η μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της μη ειδικής χρώσης.

5. Χρόνοι επώασης ή θερμοκρασίες διαφορετικές από αυτές που καθορίζονται μπορεί να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Ο χρήστης πρέπει να επικυρώσει οποιαδήποτε τέτοια αλλαγή.

6. Μη χρησιμοποιείτε το αντιδραστήριο μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο φιαλίδιο.

7. Τα αντιδραστήρια του κιτ ανίχνευσης μικρο-πολυμερούς είναι βελτιστοποιημένα και έτοιμα για χρήση με αντισώματα Biocare και βοηθητικά αντιδραστήρια. Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του πρωτογενούς αντισώματος και άλλων βοηθητικών αντιδραστηρίων για συνιστώμενα πρωτόκολλα και συνθήκες χρήσης.


8. Ακολουθήστε τις απαιτήσεις των τοπικών ή/και κρατικών αρχών για τη μέθοδο απόρριψης.

9. Το SDS είναι διαθέσιμο κατόπιν αιτήματος και βρίσκεται στη διεύθυνση <http://biocare.net>.

10. Αναφέρετε τυχόν σοβαρά περιστατικά που σχετίζονται με αυτήν τη συσκευή επικοινωνώντας με τον τοπικό φορέα

Αντιπρόσωπος της Biocare και η ισχύουσα αρμόδια αρχή του κράτους μέλους ή της χώρας όπου βρίσκεται ο χρήστης.

Αυτό το ONCORE Pro Hematoxylin περιέχει συστατικά ταξινομημένα όπως υποδεικνύεται στον παρακάτω πίνακα σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΚ) Αρ. 1272/2008

Κίνδυνος	Κώδικας	Δήλωση κινδύνου
	H315 H319	Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος. Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό.

## Οδηγίες χρήσης:

Τα αντιδραστήρια ONCORE Pro Hematoxylin είναι βελτιστοποιημένα για χρήση με αντισώματα Biocare και βοηθητικά αντιδραστήρια. Ανατρέξτε στις πληροφορίες πρωτογενούς αντισώματος για χρήση για συνιστώμενα πρωτόκολλα και συνθήκες χρήσης. Οι χρόνοι και οι θερμοκρασίες επώασης θα ποικίλλουν ανάλογα με το συγκεκριμένο πρωτόκολλο αντισωμάτων που ακολουθείται.

Όταν χρησιμοποιείτε ένα αυτόματο όργανο χρώσης, συμβουλευτείτε το συγκεκριμένο εγχειρίδιο χειριστή του οργάνου και τις οδηγίες χρήσης για τις παραμέτρους λειτουργίας.

## Οδηγίες χρήσης:

Το ONCORE Pro Hematoxylin παρέχεται σε φιαλίδια έτοιμα για χρήση στο ONCORE Pro Automated Slide Stainer. Αποσυνδέστε το φιαλίδιο και τοποθετήστε το στο δίσκο αντιδραστηρίων ONCORE Pro. Το ONCORE Pro Automated Slide Stainer θα εφαρμόσει αντιδραστήριο όπως απαιτείται στο επιλεγμένο πρωτόκολλο. Ανατρέξτε στο κατάλληλο φύλλο δεδομένων αντισωμάτων για το συνιστώμενο πρωτόκολλο χρώσης. Ανατρέξτε στο Εγχειρίδιο χρήστη ONCORE Pro Automated Slide Staining System για λεπτομερείς οδηγίες σχετικά με τη λειτουργία του οργάνου και πρόσθετες επιλογές πρωτοκόλλου.

## Τεχνικές σημειώσεις:

1. Φιλτράρετε το προϊόν με ένα φίλτρο 0,4 μικρών εάν υπάρχουν σωματίδια.

2. Η Biocare Medical χρησιμοποιεί μόνο λεκέδες που είναι πιστοποιημένοι από την Επιτροπή Βιολογικής Βαφής. Το ONCORE Pro Hematoxylin είναι ειδικά σχεδιασμένο για να εξαλείφει την ανάγκη διαφοροποίησης της τομής.

**ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Η μεγαλύτερη αντίρρηση για την αιματοξυλίνη της Mayer, όπως χρησιμοποιήθηκε στο παρελθόν, ήταν ότι οι λεκασμένες πλάκες συχνά ξεθωριάζουν μετά από 1-3 χρόνια. Αυτό το πρόβλημα μπορεί να εξαλειφθεί, ωστόσο, όταν οι αντικειμενοφόρες πλάκες πλυθούν μετά από αιματοξυλίνη σε τρεχούμενο νερό για τουλάχιστον 3-4 λεπτά.

**ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Οι ερευνητικές μελέτες της Biocare δείχνουν ότι το pH του νερού της βρύσης και του DI για το ξέπλυμα των πλακών μπορεί να επηρεάσει τη χρώση. Το pH μπορεί να αλλάξει από όξινο σε βασικό εποχιακά σε διάφορες περιοχές της χώρας. Έχει αναφερθεί περαιτέρω ότι υπήρξαν αλλαγές στο νερό της βρύσης από το πρωί έως το απόγευμα σε ορισμένες πολιτείες. Οι μεγάλοι χρόνοι ξεβγάλματος μετά το μπλε μπορεί να διαφοροποιήσουν την αιματοξυλίνη. Έχουμε τροποποιήσει τον χρόνο ξεβγάλματος μας σε 3-4 λεπτά, αντί για τα προηγούμενα 7-10 λεπτά.

## Έλεγχος 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](http://www.clsi.org)). 2011»

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 αντιδραστήριο, επικοινωνήστε με την τεχνική υποστήριξη της Biocare στο 1-800-542-2002 ή μέσω των πληροφοριών τεχνικής υποστήριξης που παρέχονται στο [biocare.net](http://biocare.net).

## Θετικός έλεγχος ιστού:

Τα υλικά εξωτερικού θετικού μάρτυρα 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 ελέγχους έχει σχεδιαστεί έτσι ώστε 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 αντιδραστηρίου 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 ένα αρνητικό μάρτυρα ιστού, σταθεροποιημένο, επεξεργασμένο και ενσωματωμένο με τρόπο πανομοιότυπο με το(τα) δείγμα(α) ασθενούς με κάθε διαδικασία χρώσης για να επαληθεύσετε την ειδικότητα του πρωτογενούς αντισώματος IHC για επιδείξη του αντιγόνου στόχου και για παροχή ένδειξης ειδικής χρώσης υποβάθρου (ψευδώς θετική

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Greek

**BIOCARE**  
M E D I C A L

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 αντίσωμα που παράγεται και παρασκευάζεται (δηλαδή, αραιωμένο στην ίδια συγκέντρωση χρησιμοποιώντας το ίδιο αραιωτικό) για χρήση με τον ίδιο τρόπο όπως το πρωτεύον αντίσωμα, αλλά δεν παρουσιάζει ειδική αντιδραστικότητα με ανθρώπινους ιστούς στην ίδια μήτρα/διάλυμα με το Biocare αντίσωμα. 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-χρωμογόνο, 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 προηγούμενως σε αυτήν την ενότητα του ένθετου προϊόντος και στις συστάσεις ποιοτικού ελέγχου του προγράμματος πιστοποίησης CAP<sup>®</sup> για την ανοσοϊστοχημεία και/ή την κατευθυντήρια γραμμή NCCLS IHC<sup>±</sup>. 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:

Ένα πρωτογενές αντίσωμα λειτουργεί σε συνδυασμό με βοηθητικά αντιδραστήρια για να παράγει μια έγχρωμη αντίδραση στις θέσεις αντιγόνου που εντοπίζονται από το πρωτεύον αντίσωμα. Τα βοηθητικά αντιδραστήρια μπλοκ υποβάθρου βοηθούν στη μείωση της μη ειδικής χρώσης υποβάθρου για να διευκολύνουν την ερμηνεία της ειδικής αντίδρασης χρώσης αντισώματος-αντιγόνου. Πριν από την ερμηνεία των αποτελεσμάτων των

ασθενών, η χρώση των μαρτύρων πρέπει να αξιολογηθεί από εξειδικευμένο παθολόγο. Οι αρνητικοί μάρτυρες αξιολογούνται και συγκρίνονται με βαμμένες αντικειμενοφόρες πλάκες για να διασφαλιστεί ότι τυχόν χρώση που παρατηρείται δεν είναι αποτέλεσμα μη ειδικών αλληλεπιδράσεων.

## Θετικός έλεγχος ιστού:

Ο θετικός μάρτυρας ιστού που έχει χρωματιστεί με ενδεικνυόμενο αντίσωμα 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 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.<sup>±2</sup>

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 πρωτεύον 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 συνδετικού 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.

## Ιστούς 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.

Ανατρέξτε στην Περίληψη 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 (IVD) 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. Για χρήση μόνο με συνταγή γιατρού. (Μόνο Rx)
4. 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.<sup>12</sup>
5. Η υπερβολική ή ατελής αντιχρώση μπορεί να θέσει σε κίνδυνο τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων.
6. 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.
7. Τα βέλτιστα πρωτόκολλα για μια συγκεκριμένη εφαρμογή μπορεί να διαφέρουν. Αυτά περιλαμβάνουν, ενδεικτικά τη σταθεροποίηση, τη μέθοδο ανάκτησης θερμότητας, τους χρόνους επώασης, την αραιώση αντισωμάτων, το πάχος του τμήματος ιστού και το kit ανίχνευσης που χρησιμοποιείται. Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του πρωτογενούς αντισώματος και άλλων βοηθητικών αντιδραστηρίων για συνιστώμενα πρωτόκολλα και συνθήκες χρήσης. 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.
8. Αυτό το προϊόν δεν προορίζεται για χρήση στην κυτταρομετρία ροής. Τα χαρακτηριστικά απόδοσης δεν έχουν προσδιοριστεί για την κυτταρομετρία ροής.
9. Οι ιστοί από άτομα μολυσμένα με τον ιό της ηπατίτιδας B και που περιέχουν επιφανειακό αντιγόνο ηπατίτιδας B (HBsAg) μπορεί να εμφανίσουν μη ειδική χρώση με υπεροξειδάση χρένου.<sup>14</sup>
10. 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 νεοπλασμάτα ή άλλους παθολογικούς ιστούς.<sup>15</sup> 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.
11. 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.
12. Εσφαλμένα θετικά αποτελέσματα μπορεί να παρατηρηθούν λόγω μη ανοσολογικής δέσμευσης 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, εγκέφαλος, νεφρός) ανάλογα με τον τύπο της ανοσοχρήσης που χρησιμοποιείται.<sup>13</sup>
13. Ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το αντιγόνο δεν ανιχνεύτηκε, όχι ότι το αντιγόνο απουσίαζε στα κύτταρα ή στον ιστό που εξετάστηκαν.

**Ειδικοί περιορισμοί προϊόντος:**

Δεν υπάρχουν πρόσθετοι περιορισμοί για το συγκεκριμένο προϊόν.

**Χαρακτηριστικά απόδοσης:**

Η χρώση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας πρωτόκολλα που παρέχονται στις ειδικές οδηγίες χρήσης αντισώματος ή όπως ορίζεται. Η ευαισθησία και η ειδικότητα της χρώσης αξιολογήθηκαν σε ένα εύρος τύπων φυσιολογικών και νεοπλασματικών ιστών που αξιολογήθηκαν κατά την ανάπτυξη πρωτογενών αντισωμάτων.

**Αναπαρωμιμότητα:**

Η επαναληψιμότητα των αντιδραστηρίων αντιχρώσης της Biocare επαληθεύεται μέσω μιας μέτρησης ενδιάμεσης ακρίβειας στην οποία δοκιμάστηκαν διάφορες παρτίδες αντιδραστηρίων για εκτεταμένη χρονική περίοδο χρησιμοποιώντας διάφορους χειριστές, αναλυτές, παρτίδες αντιδραστηρίων, δείγματα ιστών και εξοπλισμό. Η χρώση που λήφθηκε για κάθε αντιδραστήριο ανίχνευσης που αξιολογήθηκε ήταν συνεπής και εκτελέστηκε όπως αναμενόταν.

**Αντιμετώπιση προβλημάτων:**

1. Δεν υπάρχει χρώση οποιωνδήποτε πλακών – Ελέγξτε για να προσδιορίσετε ότι έχουν χρησιμοποιηθεί κατάλληλος ιστός θετικού μάρτυρα, αντισώμα και προϊόντα ανίχνευσης. Ελέγξτε για ελλιπή ή ακατάλληλη αφαίρεση ή προεπεξεργασία κεριού.
2. Αδύναμη χρώση όλων των πλακών – Ελέγξτε για να προσδιορίσετε ότι έχουν χρησιμοποιηθεί κατάλληλοι ιστοί θετικού ελέγχου, αντισώματα και προϊόντα ανίχνευσης.
3. Υπερβολικό υπόβαθρο όλων των διαφανειών – Μπορεί να υπάρχουν υψηλά επίπεδα ενδογενούς βιοτίνης (εάν χρησιμοποιούνται προϊόντα ανίχνευσης με βάση τη βιοτίνη), ενδογενής δραστηριότητα HRP που μετατρέπεται σε 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).
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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. 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.
9. 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
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Greek

**BIOCARE**  
M E D I C A L

11. 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.
12. 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.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Hungarian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Rendeltetészerű használat:

Mert *in vitro* Diagnosztikai felhasználás

Az ONCORE Pro Hematoxylin laboratóriumi professzionális felhasználók számára készült, a sejtmagok vizualizálására formalinnal rögzített, paraffinba ágyazott (FFPE) szövetmetszetekben manuális vagy automatizált eljárások során. Ellenfestékként használják immunhisztokémiai (IHC) és kromogén *in situ* hibridizációs (CISH) alkalmazásokban. Használható rutin hematoxinin és eozin festéshez is. Bármely festődés vagy annak hiánya klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegészíteni, és a beteg klinikai anamnézisének és egyéb diagnosztikai vizsgálatainak összefüggésében kell értékelnie egy szakképzett patológusnak.

## Összegzés és magyarázat:

Az ONCORE Pro Hematoxylin vízbázisú, és kifejezetten a Biocare ONCORE Pro automatizált festőfestékén való festés ellen lett kialakítva. Az ONCORE Pro Hematoxylin égsszínkére festi a sejtmagokat, és nagy kontrasztú festést biztosít a kromogén festési eljárásokhoz.

## Eljárás elve:

Ez az ellenfestő reagens, ha előkezelt, formalinnal rögzített, paraffinba ágyazott szövetmetszetekre alkalmazzák, megfesti a sejtmagokat a szövetmetszetekben és a sejtkészítményekben.

## Mellékelt reagenek:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Ismert alkalmazások:

Immunhisztokémia (formalinnal rögzített paraffinba ágyazott szövetek)

## Így szállítva:

Hematoxinin oldat. További részletekért lásd a biztonsági adatlapot.

## Feloldás, hígítás és keverés:

Az ONCORE Pro Hematoxylin Biocare antitestekkel és kiegészítő reagenekkel való használatra optimalizált, és használatra kész Biocare IHC antitestekkel és kiegészítő reagenekkel. Nincs szükség feloldásra, keverésre, hígításra vagy titrálásra.

## , de nem mellékelt anyagok és reagenek:

A mikroszkóp tárgylemezei pozitív töltésűek.

Sivatagi kamra\* (szárító sütő)

Pozitív és negatív szövetkontrollok

Xilol (helyettesíthető xilol helyettesítővel\*)

Etanol vagy reagens alkohol

Elzáró kamra\* (nagy nyomású tűzhely)

Ionmentesített vagy desztillált víz

Mosó puffer\*

Előkezelő reagenek\*

Enzim emésztés\*

Avidin-Biotin Blocking Kit\* (Csak címkézett streptavidin készletek)

Peroxidáz blokk\* (opcionális)

Protein blokk\* (opcionális)

Elsődleges antitest\*

Negatív kontroll reagenek\*

Érzékelő készletek\*

Kromogének\*

Kék reagens\*

Szerelési közeg\*

ONCORE Pro automatizált festőplatform\*

\* Biocare Medical Products: A katalógusszámokkal és a rendeléssel kapcsolatos információkért tekintse meg a Biocare Medical webhelyet a <http://biocare.net> címen. A fent felsorolt egyes reagenek az alkalmazott speciális alkalmazáson és észlelési rendszeren alapulnak.

## Tárolás és stabilitás:

Szobahőmérsékleten, fénytől védve 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 kit reagens(ek) használatra készek, és nem szabad hígítani. A felhasználó által hígított reagens stabilitását a Biocare nem állapította meg.

## Minta előkészítés:

A formalinban rögzített szövetek alkalmasak a paraffin beágyazás előtti használatra. A csontszöveteket a szövetfeldolgozás előtt vízköteníteni kell a szövetvágás megkönnyítése és a mikrotom pengéi károsodásának elkerülése érdekében.<sup>1,2</sup>

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.”<sup>3</sup>

## A szövetek kezelése festés előtt:

Hajtsa végre a hőindukált építő-visszakeresést (HIER) az alábbi javasolt protokoll szerint. Kimutatták, hogy a HIER rutinszerű használata az IHC előtt minimálisan csökkenti az inkonzisztenciát és szabványosítja a festődést.<sup>4,5</sup>

## Figyelmeztetés és óvintézkedések:

1. A kit reagenek kevesebb mint 0,05% ProClin 300-at és/vagy kevesebb, mint 1% ProClin 950-et tartalmaznak. Viseljen kesztyűt és védőruházatot, és tegye meg a megfelelő óvintézkedéseket a kezelés során, mivel a ProClin irritáló anyagként van besorolva, és bőrrel érintkezve túlérzékenységet okozhat. Kerülje a szembe, bőrrel és nyálkahártyákkal való érintkezést.

2. Az emberi vagy állati eredetű anyagokat potenciálisan biológiailag veszélyesként kezelje, és az ilyen anyagokat megfelelő óvintézkedésekkel ártalmatlanítsa. Expozíció esetén kövesse az illetékes hatóságok egészségügyi irányelveit.<sup>6,7</sup>

3. 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 reageneket szájon át, és kerülje a bőrrel és a nyálkahártyákkal való érintkezést a reagenekkel és a mintákkal. Ha a reagenek vagy a minták érzékeny területekkel érintkeznek, mossa le bő vízzel.<sup>8</sup>

4. A reagenek mikrobiális szennyeződése a nem specifikus festődés növekedését eredményezheti.

5. A megadottól eltérő inkubációs idők vagy hőmérsékletek hibás eredményeket adhatnak. A felhasználónak minden ilyen változtatást érvényesítenie kell.

6. Ne használja fel a reagenst az injekciós üvegre nyomtatott lejárati idő után.

7. A mikropolimer-detektáló készlet reagenze(i) optimalizáltak, és használatra készek a Biocare antitestekkel és kiegészítő reagenekkel.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Hungarian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Tekintse meg az elsődleges antitest és más kiegészítő reagens használati útmutatóját az ajánlott protokollokhoz és használati feltételekhez.


8. Kövesse a helyi és/vagy állami hatóságok előírásait az ártalmatlanítás módjára vonatkozóan.

9. Az SDS kérésre elérhető, és a <http://biocare.net> címen található.

10. Jelentse az eszközzel kapcsolatos minden súlyos eseményt a helyi illetékességel

A Biocare képviselője és a felhasználó tartózkodási helye szerinti tagállam vagy ország illetékes hatósága.

Ez az ONCORE Pro Hematoxylin az 1272/2008/EK rendeletnek megfelelően az alábbi táblázat szerint besorolt összetevőket tartalmaz.

Veszély	Kód	Veszélyességi nyilatkozat
	H315 H319	Bőrirritációt okoz. Súlyos szemirritációt okoz.

## Használati útmutató:

Az ONCORE Pro Hematoxylin reagenst Biocare antitestekkel és kiegészítő reagensttel való használatra optimalizálták. Tekintse meg az elsődleges antitestekkel kapcsolatos információkat a javasolt protokollokról és használati feltételekről. Az inkubációs idők és hőmérsékletek a követett specifikus antitest protokolltól függően változnak.

Ha automata festőműszert használ, olvassa el az adott műszer kezelési útmutatóját és a használati paramétereket.

## Használati útmutató:

Az ONCORE Pro hematoxin injekciós üvegekben, az ONCORE Pro automatizált tárgyfestővel való használatra készen áll rendelkezésre. Csavarja le az injekciós üveget, és helyezze az ONCORE Pro reagens tálcába. Az ONCORE Pro automatizált tárgyfestő a kiválasztott protokollban előírtak szerint alkalmazza a reagenst. Az ajánlott festési protokoll a megfelelő antitest adatlapon található. Tekintse meg az ONCORE Pro automatizált tárgylemezfestő rendszer felhasználói kézikönyvét a műszer működésével és a további protokollopciókkal kapcsolatos részletes utasításokért.

## Műszaki megjegyzések:

1. Szűrje le a terméket 0,4 mikronos szűrővel, ha részecskéket lát.  
2. A Biocare Medical csak a Biological Stain Commission által tanúsított foltokat használ. Az ONCORE Pro Hematoxylin speciálisan úgy lett kialakítva, hogy kiküszöbölje a szakaszok megkülönböztetésének szükségességét.  
MEGJEGYZÉS: A Mayer-féle hematoxin múltban használt legnagyobb kifogása az volt, hogy a foltos tárgylemezek gyakran 1-3 év után elhalványulnak. Ez a probléma azonban kiküszöbölhető, ha a tárgylemezeket hematoxin után legalább 3-4 percig folyó vízben mossuk.  
MEGJEGYZÉS: A Biocare kutatási tanulmányai azt mutatják, hogy a tárgylemezek öblítéséhez használt csapvíz pH-értéke befolyásolhatja a foltosodást. A pH-érték szezonálisan savasról lúgosra változhat az ország különböző régióiban. Azt is jelentették, hogy egyes államokban reggeltől délutánig változott a csapvíz. A kékítés utáni hosszú öblítési idők megkülönböztethetik a hematoxint. Az eddigi 7-10 perc helyett 3-4 perc módosítottuk az öblítési időt.

## 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](http://www.clsi.org)). 2011

A pozitív és negatív kontrollokat egyidejűleg kell lefuttatni az összes betegmintával. Ha váratlan elszíneződést észlel, amely nem magyarázható a laboratóriumi eljárások eltéréseivel, és a reagenssel kapcsolatos probléma gyanúja merül fel, forduljon a Biocare műszaki támogatásához az 1-800-542-2002 telefonszámon vagy a [biocare.net](http://biocare.net) oldalon található műszaki támogatási információkon keresztül.

## Pozitív szövetkontroll:

A külső pozitív kontroll anyagoknak 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 bevonni 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-érzékenységekben 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 tesztreagenst 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 szöveti kontrollt fixált, feldolgozott és beágyazott módon, a beteg mintáival azonos módon 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 tesz a specifikus festődés jobb értelmezését az antigén helyén. Ideális esetben a negatív reagens kontroll egy olyan antitestet tartalmaz, amelyet előállítottak és előállítottak (azaz azonos koncentrációra hígítottak ugyanazzal a hígítószerrel) felhasználásra, ugyanúgy, mint az elsődleges antitest, de nem mutat specifikus reaktivitást emberi szövetekkel ugyanabban a mátrixban/oldatban, mint a Biocare. ellenanyag. A korábban leírt negatív reagens kontrollok kevésbé kívánatos alternatívájaként a hígító önmagában is használható. A negatív reagens kontroll inkubációs időszakának 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

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

40/99



TP v1 (04/07/2022)

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Hungarian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

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 specifikusát 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.<sup>10</sup> az immunhisztokémiához és/vagy az NCCLS IHC-irányelvéhez.<sup>11</sup> 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 antitest-specifikus protokoll ajánlásait a mellékelt adatlapnak megfelelően. Ha atipikus eredményeket észlel, forduljon a Biocare műszaki támogatásához az 1-800-542-2002 telefonszámon.

## A festés értelmezése:

Az elsődleges antitest a kiegészítő reagensekkel együttműködve színes reakciót vált ki az elsődleges antitest által lokalizált antigén helyeken. A háttérblokk kiegészítő reagensei segítenek a nem specifikus háttérfestődés csökkentésében, hogy megkönnyítsék az antitest-antigén specifikus festési reakció értelmezését. A betegek eredményeinek értelmezése előtt a kontrollok festését szakképzett patológusnak kell értékelnie. A negatív kontrollokat értékeljük és összehasonlítjuk a festett tárgylemezekkel, hogy megbizonyosodjunk arról, hogy a megfigyelt festődés nem nem specifikus kölcsönhatás eredménye.

## 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 színreakciókért lásd az aljzat csomagolását. Ezenkívül a festési módszer változataiban metakromázia figyelhető meg.<sup>12</sup>

Ha ellenfestést használunk, az alkalmazott ellenfestés inkubációs hosszától és hatásságától 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 specifikusát. 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.

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

## Korlátozások:

### Általános korlátozások:

1. Mert *in vitro* diagnosztikai (IVD) Használata
2. Ez a termék kizárólag professzionális használatra készült: Az immunhisztokémia egy többlépcsős diagnosztikai folyamat, amely a megfelelő reagens kiválasztására vonatkozó speciális képzésből áll; szövetek kiválasztása, rögzítése és feldolgozása; az IHC tárgylemez elkészítése; és a festési eredmények értelmezése.
3. Csak orvosi rendelvényre használható. (Csak Rx)
4. 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 inherens szabálytalanságok.<sup>12</sup>
5. A túlzott vagy hiányos ellenfestés veszélyeztetheti az eredmények megfelelő értelmezését.
6. Bármely pozitív vagy negatív festődés klinikai értelmezését a klinikai megjelenés, a morfológia és egyéb kórszöveti 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, reagens és módszerek megfelelő használatát ismerő, szakképzett patológus feladata, hogy értelmezze a végső IHC-készítmény elkészítéséhez és értelmezéséhez használt összes lépést.
7. Egy adott alkalmazáshoz az optimális protokollok változhatnak. Ezek közé tartozik többek között a rögzítés, a hőviszanyerési módszer, az inkubációs idők, az antitesthígítás, a szövetmetszet vastagsága és a használt kimutatási készlet. Tekintse meg az elsődleges antitest és más kiegészítő reagens használati útmutatóját az ajánlott protokollokhoz és használati feltételekhez. Az adatlap ajánlásai és protokolljai a Biocare termékek kizárólagos felhasználásán alapulnak. Végső soron a vizsgáló feladata az optimális feltételek meghatározása.
8. Ezt a terméket nem áramlási citometriában való használatra tervezték. Az áramlási citometria teljesítményjellemzőit nem határozták meg.
9. A hepatitis B vírussal fertőzött és hepatitis B felületi antigént (HBsAg) tartalmazó személyek szövetei torma-peroxidázzal nem specifikus festődést mutathatnak.<sup>14</sup>
10. 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 patológiaszövetekben.<sup>15</sup> Forduljon a Biocare műszaki támogatásához az 1-800-542-2002 telefonszámon vagy a biocare.net oldalon található műszaki támogatási információkon keresztül dokumentált váratlan reakciókkal.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Hungarian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

11. A blokkoló lépésekben használt másodlagos antiszérumokkal azonos állati forrásból származó normál/nem immunszérum álnegatív vagy álpozitív eredményeket okozhat az autoantitestek vagy természetes antitestek miatt.
12. 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.<sup>13</sup>
13. A negatív eredmény azt jelenti, hogy az antigén nem volt kimutatható, nem pedig azt, hogy az antigén hiányzott a vizsgált sejtekben vagy szövetekben.

## Termékspecifikus korlátozások:

*Nincsenek további termékspecifikus korlátozások.*

## **Teljesítmény jellemzők:**

A festést az antitest-specifikus használati utasításban megadott protokollok szerint vagy a megadottak szerint végeztük. A festődés érzékenységét és specifitását számos normál és daganatos szövettípuson értékelték, amelyeket az elsődleges antitestek kialakulása során értékelték.

## Reprodukálhatóság:

A Biocare kontrafestett reagenseinek reprodukálhatóságát egy közepes pontosságú méréssel igazolják, amelynek során különböző reagenstételeket teszteltek hosszabb időn keresztül különböző kezelők, elemzők, reagenstételek, szövetszövetek és berendezések segítségével. Az egyes kiértékelt kimutatási reagenseknél kapott festődés konzisztens volt, és a várt módon történt.

## **Hibaelhárítás:**

1. A tárgylemezek nem festődnek – Ellenőrizze, hogy megfelelő pozitív kontrollszövetet, antitestet és kimutatási termékeket használt-e. Ellenőrizze a hiányos vagy nem megfelelő viaszeltávolítást vagy előkezelést.
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 szövetszövetek lemosnak 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 antitesttítert alkalmaztak-e a tárgylemezen, valamint az összes reagens megfelelő inkubációs idejét. Ezenkívül győződjön meg arról, hogy a protokoll elegendő mosási lépést tartalmaz a felesleges reagensek 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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.

7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. 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.
9. 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
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. 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.
12. 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.
13. Nadjj M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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.
15. 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

42/99



TP v1 (04/07/2022)

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Italian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Uso previsto:

Per *in vitro* uso diagnostico

ONCORE Pro Hematoxylin è destinato all'uso da parte di utenti professionali di laboratorio per la visualizzazione di nuclei cellulari in sezioni di tessuto fissate in formalina e incluse in paraffina (FFPE) in procedure manuali o automatizzate. Viene utilizzato come controcolorazione nelle applicazioni immunostochimiche (IHC) e di ibridazione cromogenica in situ (CISH). Può essere utilizzato anche per la colorazione di routine con ematosilina ed eosina. L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione o della sua assenza deve essere integrata da studi morfologici e controlli adeguati e deve essere valutata nel contesto dell'anamnesi clinica del paziente e di altri test diagnostici da un patologo qualificato.

## Riepilogo e spiegazione:

ONCORE Pro Hematoxylin è a base di acqua ed è appositamente formulato per la controcolorazione sull'ONCORE Pro Automated Stainer di Biocare. L'ematosilina ONCORE Pro colora i nuclei di azzurro cielo e fornisce una colorazione ad alto contrasto per le procedure di colorazione cromogenica.

## Principio di procedura:

Questo reagente colorante di contrasto, se applicato a sezioni di tessuto pretrattate fissate in formalina e incluse in paraffina, colora i nuclei cellulari nelle sezioni di tessuto e nelle preparazioni cellulari.

## Reagenti forniti:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Applicazioni conosciute:

Immunostochimica (tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina)

## Fornito come:

Soluzione di ematosilina. Vedere la scheda di dati di sicurezza per ulteriori dettagli.

## Ricostituzione, diluizione e miscelazione:

ONCORE Pro Hematoxylin è ottimizzato per l'uso con anticorpi Biocare e reagenti ausiliari ed è pronto per l'uso con anticorpi IHC Biocare e reagenti ausiliari. Non è richiesta alcuna ricostituzione, miscelazione, diluizione o titolazione.

## Materiali e reagenti richiesti ma non forniti:

Vetrini per microscopio caricati positivamente.  
Camera del deserto\* (forno di essiccazione)  
Controlli tissutali positivi e negativi  
Xilene (potrebbe essere sostituito con un sostituto dello xilene\*)  
Etanolo o alcol reagente  
Camera di occultamento\* (pentola a pressione)  
Acqua deionizzata o distillata  
Tampone di lavaggio\*  
Reagenti di pretrattamento\*  
Digestione enzimatica\*

Avidin-Biotin Blocking Kit\* (solo kit streptavidina etichettati)

Blocco perossidasi\* (Opzionale)

Blocco proteico\* (Opzionale)

Anticorpo primario\*

Reagenti di controllo negativi\*

Kit di rilevamento\*

Cromogeni\*

Reagente azzurrante\*

Mezzo di montaggio\*

Piattaforma di colorazione automatizzata ONCORE Pro\*

\* Prodotti Biocare Medical: fare riferimento al sito Web Biocare Medical all'indirizzo <http://biocare.net> per informazioni relative ai numeri di catalogo e agli ordini. Alcuni reagenti sopra elencati si basano sull'applicazione specifica e sul sistema di rilevamento utilizzato.

## Conservazione e stabilità:

Conservare a temperatura ambiente al riparo dalla luce. 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. Lo stoccaggio in condizioni diverse da quelle specificate deve essere verificato. I reagenti del kit sono pronti per l'uso e non devono essere diluiti. La stabilità del reagente diluito dall'utente non è stata stabilita da Biocare.

## Preparazione del campione:

I 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.<sup>1,2</sup>

I tessuti correttamente fissati e incorporati che esprimono il target dell'antigene 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 esaminare e conservare i blocchi di campioni per almeno due anni dalla data dell'esame."<sup>3</sup>

## Trattamento dei tessuti prima della colorazione:

Eeguire Heat Induced Epitope Retrieval (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.<sup>4,5</sup>

## Avvertenze e precauzioni:

1. I reagenti del kit contengono meno dello 0,05% di ProClin 300 e/o meno dell'1% di ProClin 950. Indossare guanti e indumenti protettivi e adottare precauzioni ragionevoli durante la manipolazione poiché ProClin è classificato come irritante e può causare sensibilizzazione da contatto con la pelle. Evitare il contatto con occhi, pelle e mucose.
2. Maneggiare i materiali di origine umana o animale come potenzialmente a rischio biologico e smaltirli con le dovute precauzioni. In caso di esposizione seguire le direttive sanitarie delle autorità competenti ove utilizzato.<sup>6,7</sup>
3. 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.<sup>8</sup>
4. La contaminazione microbica dei reagenti può causare un aumento della colorazione aspecifica.
5. Tempi o temperature di incubazione diversi da quelli specificati possono dare risultati errati. L'utente deve convalidare tali modifiche.
6. Non utilizzare il reagente dopo la data di scadenza stampata sulla fiala.
7. I reagenti del kit di rilevamento dei micropolimeri sono ottimizzati e pronti per l'uso con anticorpi Biocare e reagenti ausiliari. Fare riferimento alle



60 Berry Drive  
Pacheco, CA 94553  
USA

43/99



TP v1 (04/07/2022)

Tel: 800-799-9499 | [www.biocare.net](http://www.biocare.net) | Fax: 925-603-8080



Westervoortsedijk 60  
6827 AT Arnhem  
The Netherlands

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Italian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Istruzioni per l'uso dell'anticorpo primario e di altri reagenti ausiliari per i protocolli e le condizioni d'uso consigliati.


8. Seguire i requisiti delle autorità locali e/o statali per il metodo di smaltimento.

9. La SDS è disponibile su richiesta e si trova all'indirizzo <http://biocare.net>.

10. Segnala eventuali incidenti gravi relativi a questo dispositivo contattando il locale

Il rappresentante di Biocare e l'autorità competente applicabile dello Stato membro o del paese in cui si trova l'utente.

Questo ONCORE Pro Hematoxylin contiene componenti classificati come indicato nella tabella seguente in conformità al Regolamento (CE) n. 1272/2008

Rischio	Codice	Dichiarazione di pericolo
	H315 H319	Provoca irritazione cutanea. Provoca grave irritazione oculare.

## Istruzioni per l'uso:

I reagenti ONCORE Pro Hematoxylin sono ottimizzati per l'uso con anticorpi Biocare e reagenti ausiliari. Fare riferimento alle informazioni sugli anticorpi primari per l'uso per i protocolli e le condizioni d'uso raccomandati. I tempi e le temperature di incubazione variano a seconda del protocollo anticorpale specifico seguito.

Quando si utilizza uno strumento di colorazione automatizzato, consultare il manuale dell'operatore dello strumento specifico e le istruzioni per l'uso per i parametri operativi.

## Istruzioni per l'uso:

L'ematossilina ONCORE Pro viene fornita in fiale pronte per l'uso sul coloratore automatico di vetrini ONCORE Pro. Stappare la fiala e posizionarla nel vassoio dei reagenti ONCORE Pro. Il coloratore automatico di vetrini ONCORE Pro applicherà il reagente come richiesto nel protocollo selezionato. Fare riferimento alla scheda dati dell'anticorpo appropriata per il protocollo di colorazione consigliato. Fare riferimento al Manuale dell'utente del sistema automatico di colorazione dei vetrini ONCORE Pro per istruzioni dettagliate sul funzionamento dello strumento e opzioni di protocollo aggiuntive.

## Note tecniche:

1. Filtrare il prodotto con un filtro da 0,4 micron se si notano particelle.
2. Biocare Medical utilizza solo coloranti certificati dalla Biological Stain Commission. ONCORE Pro Hematoxylin è appositamente formulato per eliminare la necessità di differenziazione della sezione.

NOTA: La più grande obiezione all'ematossilina di Mayer usata in passato è stata che i vetrini colorati spesso sbiadiscono dopo 1-3 anni. Tuttavia, questo problema può essere eliminato lavando i vetrini dopo l'ematossilina in acqua corrente per almeno 3-4 minuti.

NOTA: gli studi di ricerca di Biocare mostrano che il pH del rubinetto e l'acqua deionizzata per il risciacquo dei vetrini possono influenzare la colorazione. Il pH può cambiare stagionalmente da acido a basico in diverse regioni del paese. È stato inoltre riferito che ci sono stati cambiamenti nell'acqua del rubinetto dalla mattina al pomeriggio in alcuni stati. Lunghi tempi di risciacquo dopo la brunitura possono differenziare l'ematossilina. Abbiamo modificato il nostro tempo di risciacquo a 3-4 minuti, invece dei precedenti 7-10 minuti.

## Controllo di qualità:

Fare riferimento a CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immunohistochemistry Assays; Linea guida approvata-Seconda edizione (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA ([www.clsi.org](http://www.clsi.org)). 2011<sup>2</sup>

I controlli positivi e negativi devono essere eseguiti simultaneamente 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 il reagente, contattare l'assistenza tecnica di Biocare al numero 1-800-542-2002 o tramite le informazioni di supporto tecnico fornite su [biocare.net](http://biocare.net).

## Controllo positivo del tessuto:

I materiali di controllo positivi esterni devono essere campioni freschi fissati, processati e inclusi il prima possibile allo stesso modo dei campioni del paziente. I controlli positivi dei tessuti sono indicativi di tessuti preparati correttamente e tecniche di colorazione adeguate. In ogni sessione di colorazione deve essere incluso un controllo positivo del tessuto esterno per ogni serie di condizioni del 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 fornisce una colorazione positiva debole. Il basso livello di positività per i controlli positivi esterni è concepito in modo da garantire il rilevamento di sottili variazioni nella sensibilità dell'anticorpo primario dovute a instabilità o problemi con la metodologia IHC. Vetrini o campioni di controllo dei tessuti disponibili in commercio trattati in modo diverso dai campioni del paziente convalidano solo le prestazioni del reagente e non verificano la preparazione del tessuto.

I controlli dei tessuti positivi noti devono essere utilizzati solo per monitorare il corretto funzionamento dei tessuti processati 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 dimostrano una colorazione positiva, i risultati con i campioni del test devono essere considerati non validi.

## Controllo del tessuto negativo:

Utilizzare un controllo tissutale negativo fissato, processato e incorporato in modo identico ai campioni del paziente a ogni ciclo di colorazione per verificare la specificità dell'anticorpo primario IHC per dimostrazione dell'antigene target e per 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 laboratorio 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 del tessuto negativo, i risultati con i campioni dei pazienti devono essere considerati non validi.

## Controllo reagente negativo non specifico:

Utilizzare un controllo reagente negativo aspecifico al posto dell'anticorpo primario con una sezione di ciascun campione del paziente per valutare la colorazione aspecifica e consentire una migliore interpretazione della colorazione specifica nel sito dell'antigene. Idealmente, un controllo reagente negativo contiene un anticorpo prodotto e preparato (ovvero, diluito alla stessa concentrazione utilizzando lo stesso diluente) per l'uso allo stesso modo dell'anticorpo primario ma non mostra alcuna reattività specifica con i tessuti umani nella

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Italian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

stessa matrice/soluzione del Biocare anticorpo. Il diluente da solo può essere utilizzato come alternativa meno desiderabile ai controlli del reagente negativo precedentemente descritti. Il periodo di incubazione per il controllo negativo del reagente deve corrispondere a quello dell'anticorpo primario.

Quando si utilizzano pannelli di più anticorpi su sezioni seriali, le aree di colorazione negativa di un vetrino possono fungere da controllo di fondo del legame negativo/non specifico per altri anticorpi. Per differenziare l'attività enzimatica endogena o il legame non specifico degli enzimi dall'immunoreattività specifica, è possibile colorare altri tessuti del paziente esclusivamente con substrato-cromogeno o complessi enzimatici (PAP, avidina-biotina, streptavidina) e substrato-cromogeno, rispettivamente.

## Verifica del dosaggio:

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 prestazioni immunoistochimiche note che rappresentano tessuti noti positivi e negativi. Fare riferimento alle procedure di controllo della qualità precedentemente delineate in questa sezione del foglietto illustrativo e alle raccomandazioni sul controllo della qualità del programma di certificazione CAP® per l'immunoistochimica e/o la linea guida NCCLS IHC<sup>11</sup>. Queste procedure di controllo della qualità devono essere ripetute per ogni nuovo lotto di anticorpo o ogni volta che si verifica un cambiamento nei parametri del test. I tessuti elencati nella sezione Caratteristiche prestazionali sono adatti per la verifica del dosaggio.

## **Risoluzione dei problemi:**

Seguire le raccomandazioni del protocollo specifico per l'anticorpo in base alla scheda tecnica fornita. Se si verificano risultati atipici, contattare il supporto tecnico di Biocare al numero 1-800-542-2002.

## **Interpretazione della colorazione:**

Un anticorpo primario lavora insieme ai reagenti ausiliari per produrre una reazione colorata nei siti dell'antigene localizzati dall'anticorpo primario. I reagenti ausiliari del blocco di fondo aiutano a ridurre la colorazione di fondo aspecifica per facilitare l'interpretazione della reazione di colorazione specifica anticorpo-antigene. Prima dell'interpretazione dei risultati dei pazienti, la colorazione dei controlli deve essere valutata da un patologo qualificato. I controlli negativi vengono valutati e confrontati con i vetrini colorati per garantire che qualsiasi colorazione osservata non sia il risultato di interazioni non specifiche.

## Controllo positivo del tessuto:

Il controllo positivo del tessuto colorato con l'anticorpo indicato deve essere esaminato per primo per accertarsi che tutti i reagenti funzionino correttamente. La colorazione appropriata delle cellule bersaglio (come indicato sopra) è indicativa di una reattività positiva. Se i controlli positivi del tessuto non dimostrano una colorazione positiva, qualsiasi risultato con i campioni del test deve essere considerato non valido.

Il colore del prodotto di reazione può variare a seconda dei cromogeni del substrato utilizzati. Fare riferimento agli inserti della confezione del substrato per le reazioni cromatiche previste. Inoltre, la metacromasia può essere osservata nelle variazioni del metodo di colorazione.<sup>12</sup>

Quando si utilizza un colorante di contrasto, a seconda della durata dell'incubazione e della potenza del colorante di contrasto utilizzato, il colorante 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 del tessuto negativo:

Il controllo del tessuto negativo deve essere esaminato dopo il controllo del tessuto 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 la mancanza di reattività crociata dell'anticorpo alle cellule/componenti cellulari. Se si verifica una colorazione specifica (colorazione falsa positiva) nel controllo del tessuto esterno negativo, i risultati con il campione del paziente devono essere considerati non validi.

La colorazione aspecifica, se presente, di solito ha un aspetto diffuso. Sporadiche colorazioni del tessuto connettivo possono essere osservate anche in sezioni di tessuti eccessivamente fissati in formalina. Utilizzare cellule intatte per l'interpretazione dei risultati della colorazione. Le cellule necrotiche o degenerate spesso si colorano in modo aspecifico.

## 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 aspecifica del controllo negativo del reagente. Come con qualsiasi test immunoistochimico, un risultato negativo significa che l'antigene non è stato rilevato, non che l'antigene era assente nelle cellule/tessuti analizzati. Se necessario, utilizzare un pannello di anticorpi per identificare reazioni false negative.

Fare riferimento a Riepilogo e spiegazione, limitazioni e caratteristiche prestazionali per informazioni specifiche sull'immunoreattività anticorpale indicata.

## **Limitazioni:**

### Limitazioni generali:

1. *Per in vitro* uso diagnostico (IVD).
2. Questo prodotto è solo per uso professionale: l'immunoistochimica è un processo diagnostico in più fasi che consiste in una formazione specializzata nella selezione dei reagenti appropriati; selezione, fissazione e lavorazione dei tessuti; preparazione del vetrino IHC; e interpretazione dei risultati della colorazione.
3. Da utilizzare solo su prescrizione medica. (solo ricezione)
4. La colorazione del tessuto dipende dalla manipolazione e dall'elaborazione del tessuto prima della colorazione. La fissazione, il congelamento, lo scongelamento, il lavaggio, l'asciugatura, il riscaldamento, il sezionamento o la 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.<sup>12</sup>
5. Una controcolorazione eccessiva o incompleta può compromettere la corretta interpretazione dei risultati.
6. 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 dovrebbe essere integrata da studi morfologici che utilizzino controlli interni ed esterni positivi e negativi appropriati, nonché altri test diagnostici. È responsabilità di un patologo qualificato che abbia familiarità con l'uso corretto di anticorpi, reagenti e metodi IHC per interpretare tutti i passaggi utilizzati per preparare e interpretare la preparazione IHC finale.
7. I protocolli ottimali per un'applicazione specifica possono variare. Questi includono, ma non sono limitati a, fissazione, metodo di recupero del calore, tempi di incubazione, diluizione dell'anticorpo, spessore della sezione di tessuto e kit di rilevamento utilizzato. Fare riferimento alle istruzioni per l'uso dell'anticorpo primario e di altri reagenti ausiliari per i protocolli e le condizioni d'uso consigliati. Le raccomandazioni ei

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Italian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

protocolli della scheda tecnica si basano sull'uso esclusivo dei prodotti Biocare. In definitiva, è responsabilità dell'investigatore determinare le condizioni ottimali.

- Questo prodotto non è destinato all'uso in citometria a flusso. Le caratteristiche prestazionali non sono state determinate per la citometria a flusso.
- 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 perossidasi di rafano.<sup>14</sup>
- I reagenti possono mostrare reazioni impreviste in tessuti precedentemente non testati. La possibilità di reazioni impreviste 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.<sup>15</sup> 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.
- I sieri normali/non immuni 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.
- Risultati falsi positivi possono essere osservati a causa del legame non immunologico delle proteine o dei prodotti di 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 es. Fegato, mammella, cervello, rene) a seconda del tipo di immunocolorante utilizzato.<sup>13</sup>
- Un risultato negativo significa che l'antigene non è stato rilevato, non che l'antigene era assente nelle cellule o nei tessuti esaminati.

#### Limitazioni specifiche del prodotto:

*Nessuna limitazione aggiuntiva specifica del prodotto.*

#### Caratteristiche di performance:

La colorazione è stata eseguita utilizzando i protocolli forniti nelle istruzioni per l'uso specifiche dell'anticorpo o come specificato. La sensibilità e la specificità della colorazione sono state valutate in una gamma di tipi di tessuto normale e neoplastico valutati durante lo sviluppo di anticorpi primari.

#### Riproducibilità:

La riproducibilità dei reagenti di colorazione di contrasto di Biocare viene verificata attraverso una misurazione di precisione intermedia in cui vari lotti di reagenti sono stati testati per un lungo periodo di tempo utilizzando vari operatori, analisti, lotti di reagenti, campioni di tessuto e apparecchiature. La colorazione ottenuta per ciascun reagente di rilevamento valutato era coerente ed eseguita come previsto.

#### Risoluzione dei problemi:

- Nessuna colorazione dei vetrini – Verificare che siano stati utilizzati tessuto di controllo positivo appropriato, anticorpi e prodotti di rilevamento. Verificare la rimozione incompleta o impropria della cera o il pretrattamento.
- Colorazione debole di tutti i vetrini – Verificare che siano stati utilizzati tessuto di controllo positivo appropriato, anticorpi e prodotti di rilevamento.
- Fondo eccessivo di tutti i vetrini – Potrebbero esserci livelli elevati di biotina endogena (se si utilizzano prodotti di rilevamento a base di biotina), attività HRP endogena che converte il cromogeno in prodotto finale colorato (utilizzare il blocco della perossidasi) o eccesso di interazione proteica non specifica (utilizzare una proteina blocco, come una soluzione bloccante a base di siero o caseina).
- Le sezioni di tessuto si lavano via dai vetrini durante l'incubazione – Controllare i vetrini per assicurarsi che siano caricati positivamente.
- 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 abbia passaggi di lavaggio sufficienti per

rimuovere i reagenti in eccesso dopo il completamento delle fasi di incubazione.

#### Riferimenti:

- 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.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
- 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](http://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.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Latvian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Paredzētais lietojums:

Priekš*in vitro* Diagnostikas lietošana

ONCORE Pro Hematoxylin ir paredzēts lietošanai laboratorijas profesionāliem lietotājiem, lai vizuāli vizualizētu šūnu kodolus formalinā fiksētās, parafinā iestrādātās (FFPE) audu sekcijās manuālās vai automatizētās procedūrās. To izmanto kā prettraipu imūnhistokīmiskajā (IHC) un hromogēnajā in situ hibridizācijas (CISH) lietojumos. To var izmantot arī parastajai hematoksilīna un eozīna krāsošanai. Jebkuras iekrāsošanās vai tās neesamības klīniskā interpretācija jāpapildina ar morfoloģiskiem pētījumiem un atbilstošām kontrolēm, un tā jānovērtē pacienta klīniskās vēstures un citu diagnostisko testu kontekstā, ko veic kvalificēts patoloģis.

## Kopsavilkums un skaidrojums:

ONCORE Pro hematoksilīns ir uz ūdens bāzes, un tas ir īpaši izstrādāts pretkrāsošanai ar Biocare ONCORE Pro automatizēto krāsošanas ierīci. ONCORE Pro Hematoxilin iekrāso kodolus debeszilā krāsā un nodrošina augsta kontrasta krāsošanu hromogēnās krāsošanas procedūrām.

## Procedūras princips:

Šis pretkrāsošanas reaģents, uzklājot uz iepriekš apstrādātām formalinā fiksētām, parafinā iestrādātām audu sekcijām, iekrāso šūnu kodolus audu sekcijās un šūnu preparātos.

## Piedāvātie reaģenti:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Zināmās lietojumprogrammas:

Imūnhistokīmija (formalinā fiksēti parafinā iestrādāti audi)

## Piegādāts kā:

Hematoksilīna šķīdums. Papildinformāciju skatiet drošības datu lapā.

## Šķīdināšana, atšķaidīšana un sajaukšana:

ONCORE Pro Hematoxylin ir optimizēts lietošanai ar Biocare antivielām un palīgreaģentiem un ir gatavs lietošanai ar Biocare IHC antivielām un palīgreaģentiem. Nav nepieciešama šķīdināšana, sajaukšana, atšķaidīšana vai titrēšana.

## Nepieciešamie materiāli un reaģenti, kas nav nodrošināti:

Mikroskopa priekšmetstikliņi ir pozitīvi uzklājami.  
Tuksneša kamera\* (žāvēšanas krāsns)  
Pozitīvās un negatīvās audu kontroles  
Ksilols (var aizstāt ar ksilola aizstājēju\*)  
Etanols vai reaģenta spirts  
Atslāņošanas kamera\* (spiediena plīts)  
Dejonizēts vai destilēts ūdens  
Mazgāšanas buferis\*  
Priekšapstrādes reaģenti\*  
Enzīmu gremošana\*  
Avidīna-biotīna bloķēšanas komplekts\* (tikai marķēti streptavidīna komplekti)  
Peroksidāzes bloks\* (pēc izvēles)

Olbaltumvielu bloks\* (pēc izvēles)

Primārā anti viela\*

Negatīvie kontroles reaģenti\*

Atklāšanas komplekti\*

Hrogēni\*

Bluing reaģents\*

Montāžas līdzeklis\*

ONCORE Pro automatizētā krāsošanas platforma\*

\* Biocare Medical Products: informāciju par kataloga numuriem un pasūtīšanu skatiet Biocare Medical tīmekļa vietnē <http://biocare.net>. Daži iepriekš uzskaitītie reaģenti ir balstīti uz īpašu pielietojumu un izmantoto noteikšanas sistēmu.

## Uzglabāšana un stabilitāte:

Uzglabāt istabas temperatūrā prom no gaismas. 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. Komplekta reaģents(-i) ir gatavs(-i) lietošanai, un tos nedrīkst atšķaidīt. Biocare nav noteikusi lietotāja atšķaidītā reaģenta stabilitāti.

## Parauga sagatavošana:

Formalinā fiksēti audi ir piemēroti lietošanai pirms parafina iestrādāšanas. Kaulu audi pirms audu apstrādes ir jāatkaļķo, lai atvieglotu audu griešanu un novērstu mikrotomu asmeņu bojājumus.<sup>1,2</sup>

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 jāsaņem iekrāsotie priekšmetstikliņi vismaz desmit gadus no datuma, kad pārbaudi un saņēma paraugu blokus vismaz divus gadus no pārbaudes datuma."<sup>3</sup>

## 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.<sup>4,5</sup>

## Brīdinājumi un piesardzības pasākumi:

1. Komplekta reaģenti satur mazāk par 0,05% ProClin 300 un/vai mazāk par 1% ProClin 950. Valkājiet cimdsus un aizsargtērpu un ievērojiet saprātīgus piesardzības pasākumus, rīkojoties, jo ProClin ir klasificēts kā kairinošs un var izraisīt ādas kontakta sensibilizāciju. Izvairieties no saskares ar acīm, ādu un glotādām.
2. Rīkojieties ar cilvēku vai dzīvnieku izcelsmes materiāliem kā potenciāli bioloģiski bīstamiem un atbrīvojieties no šādiem materiāliem, ievērojot atbilstošus piesardzības pasākumus. Iedarbības gadījumā ievērojiet atbilstošus norādījumus par veselību, ja tas tiek lietots.<sup>6,7</sup>
3. Paraugi pirms un pēc fiksācijas, kā arī visi tiem pakļautie materiāli ir jārikojas tā, it kā tie varētu pārnēsāt infekciju, un tie jāiznīcina, ievērojot atbilstošus piesardzības pasākumus. Nekad nepipeļiet reaģentus iekšīgi un izvairieties no saskares ar ādu un glotādām ar reaģentiem un paraugiem. Ja reaģenti vai paraugi nonāk saskarē ar jutīgām zonām, nomazgājiet ar lielu ūdens daudzumu.<sup>8</sup>
4. Reaģentu piesārņojums ar mikrobiem var izraisīt nespecifiskas iekrāsošanās palielināšanos.
5. Inkubācijas laiki vai temperatūra, kas nav norādīta, var sniegt kļūdainus rezultātus. Lietotājam ir jāapstiprina visas šādas izmaiņas.
6. Nelietot reaģentu pēc derīguma termiņa beigām, kas norādīts uz flakona.
7. Mikropolimēru noteikšanas komplekta reaģents(-i) ir optimizēti un gatavi lietošanai ar Biocare antivielām un palīgreaģentiem. Ieteiktos lietošanas protokolus un nosacījumus skatiet primāro antivielu un citu palīgreaģentu lietošanas instrukcijās.
8. Ievērojiet vietējo un/vai valsts iestāžu prasības par iznīcināšanas metodi.
9. SDS ir pieejams pēc pieprasījuma un atrodas <http://biocare.net>.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923


Latvian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

10. Ziņojiet par visiem nopietniem incidentiem, kas saistīti ar šo ierīci, sazinoties ar vietējo

Biocare pārstāvis un attiecīgā dalībvalsts vai valsts, kurā atrodas lietotājs, kompetentā iestādē.

Šis ONCORE Pro Hematoxylin satur sastāvdaļas, kas klasificētas, kā norādīts tālāk esošajā tabulā saskaņā ar Regulu (EK) Nr. 1272/2008

Apdraudējums	Kods	Bīstamības paziņojums
	H315 H319	Izraisa ādas kairinājumu. Izraisa nopietnu acu kairinājumu.

## Lietošanas instrukcija:

ONCORE Pro Hematoxylin reaģenti ir optimizēti lietošanai ar Biocare antivielām un palīgreaģentiem. Lai uzzinātu ieteicamos protokolus un lietošanas nosacījumus, skatiet informāciju par primāro antivielu lietošanu. Inkubācijas laiki un temperatūras mainīsies atkarībā no konkrētā antivielu protokola.

Izmantojot automatizētu krāsošanas instrumentu, skatiet konkrētā instrumenta lietotāja rokasgrāmatu un lietošanas instrukcijas darbības parametriem.

### Lietošanas instrukcija:

ONCORE Pro hematoksilīns tiek piegādāts flakonos, kas ir gatavi lietošanai ar ONCORE Pro automatizēto priekšmetstiklīņu krāsošanai. Noņemiet flakonu vāciņu un ievietojiet ONCORE Pro reaģenta paplāti. ONCORE Pro automatizētais priekšmetstiklīņu krāsošanas uzklās reaģentu atbilstoši izvēlētajam protokolam. Ieteikto krāsošanas protokolu skatiet attiecīgajā antivielu datu lapā. Detalizētus norādījumus par instrumenta darbību un papildu protokola iespējām skatiet ONCORE Pro automatizētās priekšmetstiklīņu krāsošanas sistēmas lietotāja rokasgrāmatā.

### Tehniskas piezīmes:

1. Ja ir redzamas daļiņas, filtrējiet produktu ar 0,4 mikronu filtru.
  2. Biocare Medical izmanto tikai traipus, kurus sertificējusi Bioloģiskās traipu komisija. ONCORE Pro Hematoxylin ir īpaši izstrādāts, lai novērstu vajadzību pēc sekcijas diferencēšanas.
- PIEZĪME. Lielākais iebildums pret Mayer hematoksilīnu, kā tas tika izmantots agrāk, ir tas, ka notraipītie priekšmetstiklīņi bieži izbalē pēc 1–3 gadiem. Tomēr šo problēmu var novērst, ja priekšmetstiklīņus pēc hematoksilīna mazgā tekošā ūdenī vismaz 3–4 minūtes.
- PIEZĪME. Biocare pētījumi liecina, ka priekšmetstiklīņu skalošanas krāna un DI ūdens pH var ietekmēt iekrāsošanos. pH var mainīties no skāba uz bāzisku sezonāli dažādos valsts reģionos. Ir arī ziņots, ka dažos štatos no rīta līdz pēcpusdienai ir notikušas krāna ūdens izmaiņas. Ilgs skalošanas laiks pēc zilēšanas var atšķirt hematoksilīnu. Mēs esam mainījuši savu skalošanas laiku uz 3–4 minūtēm iepriekšējo 7–10 minūšu vietā.

### 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. gads

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

reaģentu, sazinieties ar Biocare tehnisko atbalstu pa tālruni 1-800-542-2002 vai izmantojot tehniskā atbalsta informāciju, kas sniegta vietnē biocare.net.

### Pozitīvā audu kontrole:

Ārējiem pozitīvās kontroles materiāliem jābūt svaigiem paraugiem, kas fiksēti, apstrādāti un pēc iespējas ātrāk jāievieto tādā pašā veidā kā pacienta paraugs(-i). Pozitīva audu kontrole liecina par pareizi sagatavotiem audiem 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 pozitīvātes līmenis ārējām pozitīvajām kontrolēm ir izstrādāts tā, lai nodrošinātu smalku primāro antivielu jutības izmaiņu noteikšanu no nestabilitātes vai problēmām ar IHC metodoloģiju. Tirdzniecībā pieejamie audu kontroles priekšmetstiklīņi 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 testa reaģentu pareizas darbības uzraudzībai, nevis kā palīgizvēklis konkrētas pacienta paraugu diagnozes formulēšanā. Ja pozitīvās audu kontroles neizdodas uzrādīt pozitīvu iekrāsošanos, testa paraugu rezultāti jāuzskata par nederīgiem.

### Negatīva audu kontrole:

Katrā krāsošanas ciklā izmantojiet negatīvu audu kontroli, kas fiksēta, apstrādāta un iegulta identiski pacienta paraugam(-iem), 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 specifiskācijās. 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 antivielu, kas ražota un sagatavota (t.i., atšķaidīta līdz tādai pašai koncentrācijai, izmantojot to pašu šķīdinātāju) lietošanai tādā pašā veidā kā primārā antivielā, bet tai nav specifiskas reaktivitātes ar cilvēka audiem tajā pašā matricā/šķīdumā kā Biocare. antivielu. Atšķaidītāju vienu pašu var izmantot kā mazāk vēlamu alternatīvu iepriekš aprakstītajām negatīvajām reaģentu kontrolēm. Negatīvā reaģenta kontroles inkubācijas periodam jāatbilst primārās antivielas inkubācijas periodam.

Ja sērījveida sekcijās tiek izmantoti vairāku antivielu paneli, viena priekšmetstiklīņa negatīvi iekrāsotie apgabali var kalpot kā negatīva/neprecifiska 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 imūnhistokīmiskās

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Latvian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

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.<sup>10</sup> Imūnhistokīmijai un/vai NCCLS IHC vadlīnijām<sup>11</sup>. Šis kvalitātes kontroles procedūras jāatkārto katrai jaunai antivieliu partijai vai ikreiz, kad notiek izmaiņas testa parametriem. Testa pārbaudei ir piemēroti audi, kas norādīti sadaļā Veiktspējas raksturojums.

## Problēmu novēršana:

Ievērojiet antivieliu 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:

Primārā antiviela darbojas kopā ar palīgreaģentiem, lai radītu krāsainu reakciju antigēna vietās, ko lokalizē primārā antiviela. Fona bloka palīgreaģenti palīdz samazināt nespecifisku fona iekrāsošanos, lai atvieglotu antivieliu un antigēnu specifiskās krāsošanas reakcijas interpretāciju. Pirms pacienta rezultātu interpretācijas kvalificētam patologam ir jānovērtē kontroles iekrāsošanās. Negatīvās kontroles tiek novērtētas un salīdzinātas ar iekrāsojamiem priekšmetstikliņiem, lai nodrošinātu, ka novērotā iekrāsošanās nav nespecifiskas mijiedarbības rezultāts.

## Pozitīvā audu kontrole:

Vispirms ir jāpārbauda pozitīvā audu kontrole, kas iekrāsota ar norādīto antivieliu, 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.<sup>12</sup>

Ja tiek izmantots pretkrāsojums, atkarībā no inkubācijas ilguma un izmantotā pretkrāsojuma stipruma, pretkrāsošana izraisīs šūnu kodolu krāsojumu. Pārmerīga 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 antivieliu 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 pārmerīgi 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 antivieliem Pēdējais. Pozitīvā krāsošanas intensitāte jānovērtē saistībā ar jebkuru nespecifisku negatīvu reaģenta kontroles fona krāsojumu. Tāpat kā ar jebkuru imūnhistokīmisko testu, negatīvs rezultāts nozīmē, ka antigēns nav konstatēts, nevis antigēna nebija pārbaudītajās šūnās/audiem. Ja nepieciešams, izmantojiet antivieliu paneli, lai identificētu viltus negatīvas reakcijas.

Lai iegūtu specifisku informāciju par norādīto antivieliu imūnreaktivitāti, skatiet kopsavilkumu un skaidrojumu, ierobežojumus un veiktspējas raksturlielumus.

## Ierobežojumi:

### Vispārīgi ierobežojumi:

1. Priekš*in vitro* diagnostikas (IVD) lietošana
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. Lietošanai tikai pēc ārsta receptes. (tikai Rx)
4. 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, antivieliu slazdošanu vai viltus negatīvus rezultātus. Nekonsekventi rezultāti var būt fiksācijas un iegulšanas metožu atšķirību dēļ vai audos raksturīgu nelīdzenumu dēļ.<sup>13</sup>
5. Pārmerīga vai nepilnīga pretkrāsošana var apdraudēt pareizu rezultātu interpretāciju.
6. 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 pozitīvus un negatīvus iekrāsošanas ārējos kontroles testus, kā arī citus diagnostikas testus. Kvalificēts patologs, kurš ir iepazinies ar pareizu IHC antivieliu, reaģentu un metožu lietošanu, ir atbildīgs, lai interpretētu visas darbības, kas izmantotas, lai sagatavotu un interpretētu galīgo IHC preparātu.
7. Optimālie protokoli konkrētai lietojumprogrammai var atšķirties. Tie ietver (bet ne tikai) fiksāciju, siltuma iegūšanas metodi, inkubācijas laikus, antivieliu atšķaidīšanu, audu sekcijas biežumu un izmantoto noteikšanas komplektu. Ieteiktos lietošanas protokolus un nosacījumus skatiet primāro antivieliu un citu palīgreaģentu lietošanas instrukcijās. Datu lapas ieteikumi un protokoli ir balstīti uz ekskluzīvu Biocare produktu izmantošanu. Galu galā pētnieka pienākums ir noteikt optimālos apstākļus.
8. Šis produkts nav paredzēts izmantošanai plūsmas citometrijā. Plūsmas citometrijas veiktspējas raksturlielumi nav noteikti.
9. Audos no personām, kas inficētas ar B hepatīta vīrusu un satur B hepatīta virsmas antigēnu (HBsAg), var būt nespecifiska iekrāsošanās ar mārurtku peroksīdāzi.<sup>14</sup>
10. 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.<sup>15</sup> 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.
11. Normāli/neimūnie serumi no tā paša dzīvnieku izcelsmes avota kā sekundārie antiserumi, ko izmanto blokēšanas posmos, var izraisīt kļūdaini negatīvus vai kļūdaini pozitīvus rezultātus autoantivieliu vai dabisko antivieliu dēļ.
12. Kļūdaini pozitīvus rezultātus var redzēt proteīnu vai substrāta reakcijas produktu neimunoloģiskas saistīšanās dēļ. Tos var izraisīt arī pseidoperoksīdāzes aktivitāte (eritrocīti), endogēna peroksīdāzes aktivitāte (citohroms C) vai endogēns biotīns (piemēram, aknas, krūts, smadzenes, nieres) atkarībā no izmantotā imūnkrāsojuma veida.<sup>13</sup>
13. Negatīvs rezultāts nozīmē, ka antigēns netika atklāts, nevis to, ka pārbaudītajās šūnās vai audos antigēna nebija.

### Produkta specifiskie ierobežojumi:

*Nav papildu produktu specifisku ierobežojumu.*

## Veiktspējas raksturojums:

Krāsošana tika veikta, izmantojot protokolus, kas sniegti antivieliu specifiskajās lietošanas instrukcijās vai kā norādīts. Krāsošanas jutīgums un

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Latvian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

specifiskums tika novērtēts dažādos normālos un neoplastiskos audu veidos, kas tika novērtēti primāro antivielu veidošanās laikā.

## Reproducējamība:

Biocare prettraipu reaģentu reproducējamība tiek pārbaudīta, veicot vidējas precizitātes mērījumu, kurā dažādas reaģentu partijas tika pārbaudītas ilgākā laika periodā, izmantojot dažādus operatorus, analītiķus, reaģentu partijas, audu paraugus un aprīkojumu. Katram novērtētajam noteikšanas reaģentam iegūtā krāsošana bija konsekventa un tika veikta, kā paredzēts.

## Problēmu novēršana:

1. Priekšmetstikliņi nav iekrāsoti – pārbaudiet, lai noteiktu, vai ir izmantoti atbilstoši pozitīvās kontroles audi, antivielas un noteikšanas produkti. Pārbaudiet, vai vaska noņemšana vai pirmapstrāde nav veikta pilnībā vai nepareizi.
2. Vāja visu priekšmetstikliņu krāsošana – pārbaudiet, lai noteiktu, vai ir izmantoti atbilstoši pozitīvās kontroles audi, antivielas un noteikšanas produkti.
3. Pārmērīgs visu priekšmetstikliņu fons – var būt augsts endogēnā biotīna līmenis (ja izmanto noteikšanas produktus uz biotīna bāzes), endogēna HRP aktivitāte, kas pārvērš hromogēnu krāsainā galaproduktā (izmantojiet peroksidāzes bloku) vai pārmērīga nespecifiskā proteīna mijiedarbība (izmantojiet proteīnu). blokādi, piemēram, bloķējošs šķīdums uz seruma vai kazeīna bāzes).
4. Audu sekcijas nomazgā priekšmetstikliņus inkubācijas laikā – pārbaudiet priekšmetstikliņus, lai pārlicinātos, ka tie ir pozitīvi uzlādēti.
5. Īpaša krāsošanās ir pārāk tumša – pārbaudiet protokolu, lai noteiktu, vai priekšmetstikliņiem ir piemērots pareizs antivielu titrs, kā arī pareizu visu reaģentu inkubācijas laiku. Turklāt pārlicinieties, ka protokolā ir pietiekami daudz mazgāšanas soļu, lai pēc inkubācijas darbību pabeigšanas noņemtu liekos reaģentus.

## Atsauces:

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. *Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories*. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. *Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work*.
8. *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*.
9. *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*
10. *College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry*. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. 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.
12. 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.
13. Nadji M, Morales AR. *Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls*. *Lab Med* 1983; 14:767.

14. Omata M, Liew CT, Ashcavi M, Peters RL. *Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry*. *Am J Clin Path* 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfont EA. *The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control*. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Lithuanian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Paskirtis:

Dėl *in vitro* diagnostinis naudojimas

ONCORE Pro Hematoxylin skirtas naudoti profesionaliems laboratorijų naudotojams, kad būtų galima vizualizuoti ląstelių branduolius formalinu fiksuotose, parafinu įterptose (FFPE) audinių dalyse atliekant rankines arba automatines procedūras. Jis naudojamas kaip priešdėmė imunohistocheminėje (IHC) ir chromogeninėje *in situ* hibridizacijoje (CISH). Jis taip pat gali būti naudojamas įprastiniam dažymui hematoksilinu ir eozinu. Klinikinį bet kokią dažymo ar jo nebuvimo aiškinimą turėtų papildyti morfologiniai tyrimai ir tinkama kontrolė, o kvalifikuotas patologas turi įvertinti paciento klinikinę istoriją ir kitus diagnostinius tyrimus.

## Santrauka ir paaiškinimas:

ONCORE Pro Hematoxylin yra vandens pagrindu ir yra specialiai sukurtas prieš dažymą ant Biocare ONCORE Pro automatinio dažymo įrenginio. ONCORE Pro Hematoxylin nudažo branduolius dangaus mėlynumo spalva ir suteikia didelio kontrasto dažymą atliekant chromogeninio dažymo procedūras.

## Procedūros principas:

Šis priešdažinis reagentas, naudojamas ant iš anksto apdorotų formalinu fiksuotų, parafinu įterptų audinių pjūvių, nudažo ląstelių branduolius audinių pjūviuose ir ląstelinuose preparatuose.

## Pateikiami reagentai:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Žinomos programos:

Imunohistochemija (formalinu fiksuoti audiniai, įterpti į parafiną)

## Tiekama kaip:

Hematoksilino tirpalas. Daugiau informacijos rasite saugos duomenų lape.

## Paruošimas, skiedimas ir maišymas:

ONCORE Pro Hematoxylin yra optimizuotas naudoti su Biocare antikūnais ir pagalbiniais reagentais ir paruoštas naudoti su Biocare IHC antikūnais ir pagalbiniais reagentais. Atskiesti, maišyti, skiesti ar titruoti nereikia.

## Reikalingos, bet nepateiktos medžiagos ir reagentai:

Mikroskopo skaidrės įkraudos teigiamai.  
Dykumos kamera\* (džiovinimo krosnis)  
Teigiama ir neigiama audinių kontrolė  
Ksilenas (gali būti pakeistas ksileno pakaitalu\*)  
Etanolis arba alkoholio reagentas  
Užblokavimo kamera\* (slėginė viryklė)  
Dejonizuotas arba distiliuotas vanduo  
plovimo buferis\*  
Pirminio apdoravimo reagentai\*  
Fermentinis virškinimas\*  
Avidino ir biotino blokavimo rinkinys\* (tik paženklininti streptavidino rinkiniai)  
Peroksidazės blokas\* (neprivaloma)  
Baltymų blokas\* (neprivaloma)

Pirminis antikūnas\*

Neigiami kontroliniai reagentai\*

aptikimo rinkiniai\*

Chromogenai\*

mėlynumo reagentas\*

Montavimo terpė\*

ONCORE Pro automatizuota dažymo platforma\*

\* Biocare medicinos produktai: informacijos apie katalogų numerius ir užsakymus rasite Biocare Medical svetainėje <http://biocare.net>. Tam tikri aukščiau išvardyti reagentai yra pagrįsti specifine panaudojimo ir aptikimo sistema.

## Sandėliavimas ir stabilumas:

Laikyti kambario temperatūroje nuo šviesos. Laikant tokiomis sąlygomis, produktas yra stabilus iki galiojimo datos, nurodytos ant buteliuko etiketės. Nenaudoti pasibaigus tinkamumo laikui. Turi būti patikrintas saugojimas bet kokiomis kitokiomis sąlygomis nei nurodytos. Rinkinio reagentas (-ai) yra paruoštas (-i) naudoti ir neturėtų būti skiedžiamas. Biocare nenustatė vartotojo praskiesto reagento stabilumo.

## Mėginio paruošimas:

Formalinu fiksuoti audiniai tinkami naudoti prieš įterpiant į parafiną. Kauliniai audiniai turi būti nukalkinti prieš audinių apdorojimą, kad būtų lengviau nupjauti audinį ir nepažeisti mikrotomo ašmenų.<sup>1,2</sup>

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.“<sup>3</sup>

## 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.<sup>4,5</sup>

## Įspėjimas ir atsargumo priemonės:

1. Rinkinio reagentuose yra mažiau nei 0,05 % ProClin 300 ir (arba) mažiau nei 1 % ProClin 950. Dėvėkite pirštines, apsauginius drabužius ir imkitės pagrįstą atsargumo priemonių dirbdami, nes ProClin yra klasifikuojamas kaip dirginantis ir gali sukelti odos kontaktą. Vengti patekimo į akis, odą ir gleivines.
2. Žmonių arba gyvūninės kilmės medžiagas tvarkykite kaip potencialiai biologiškai pavojingas ir šalinkite tokias medžiagas laikydamiesi tinkamų atsargumo priemonių. Poveikio atveju laikykitės atsakingų institucijų sveikatos direktyvų, kur naudojama.<sup>6,7</sup>
3. 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.<sup>8</sup>
4. Mikrobinis reagentų užterštumas gali padidinti nespecifinį dažymą.
5. Kitos nei nurodytos inkubacijos trukmės arba temperatūros rezultatai gali duoti klaidingus rezultatus. Vartotojas turi patvirtinti visus tokius pakeitimus.
6. Nenaudokite reagento pasibaigus tinkamumo laikui, nurodytam ant buteliuko.
7. Mikropolimero aptikimo rinkinio reagentas (-ai) yra optimizuotas (-i) ir paruoštas naudoti su Biocare antikūnais ir pagalbiniais reagentais. Rekomenduojamus protokolus ir naudojimo sąlygas žr. pirminio antikūno ir kitų pagalbinių reagentų naudojimo instrukcijose.
8. Laikykitės vietinių ir (arba) valstybinių institucijų reikalavimų dėl šalinimo būdų.
9. SDS galima gauti paprašius ir jis yra adresu <http://biocare.net>.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

51/99



TP v1 (04/07/2022)

Tel: 800-799-9499 | [www.biocare.net](http://www.biocare.net) | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923


Lithuanian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

10. Praneškite apie visus rimtus incidentus, susijusius su šiuo įrenginiu, susisieki su vietine institucija

Biocare atstovas ir atitinkama kompetentinga institucija valstybėje narėje arba šalyje, kurioje yra naudotojas.

Šiame ONCORE Pro Hematoxylin sudėtyje yra komponentų, klasifikuojamų kaip nurodyta toliau esančioje lentelėje pagal Reglamentą (EB) Nr. 1272/2008

Pavojus	Kodas	Pareiškimas apie pavojų
	H315 H319	Sukelia odos dirginimą. Sukelia stiprų akių dirginimą.

## Naudojimo instrukcijos:

ONCORE Pro Hematoxylin reagentai yra optimizuoti naudoti su Biocare antikūnais ir pagalbinais reagentais. Rekomenduojamus protokolus ir naudojimo sąlygas žr. pirminėje informacijoje apie antikūnus. Inkubavimo laikas ir temperatūra skirsis priklausomai nuo konkretaus antikūnų protokolo, kurio laikomasi.

Naudodami automatizuotą dažymo instrumentą, skaitykite konkretaus prietaiso naudotojo vadovą ir naudojimo parametrus.

## Naudojimo instrukcijos:

ONCORE Pro hematoksilinas tiekiamas buteliukuose, paruoštuose naudoti su ONCORE Pro automatinio stikliuku. Nuimkite buteliuką ir įdėkite į ONCORE Pro reagento dėklą. Automatinis stiklelių dažiklis ONCORE Pro naudos reagentą, kaip reikalaujama pasirinktame protokole. Rekomenduojamą dažymo protokolą rasite atitinkamame antikūnų duomenų lape. Išsamias instrukcijas apie prietaiso veikimą ir papildomas protokolo parinktis rasite ONCORE Pro automatinės stiklelių dažymo sistemos naudotojo vadove.

## Techninės pastabos:

- Jei matote kietųjų dalelių, filtruokite produktą 0,4 mikrono filtru.
- Biocare Medical naudoja tik dėmes, kurios yra sertifikuotos Biologinės dėmių komisijos. ONCORE Pro Hematoxylin yra specialiai sukurtas, kad būtų išvengta būtinybės diferencijuoti skyrių.  
PASTABA: Didžiausias prieštaravimas dėl Mayer hematoksilino, naudoto praityje, buvo tas, kad nudažyti stikleliai dažnai išblunka po 1–3 metų. Tačiau šią problemą galima pašalinti, kai stikleliai po hematoksilino plauunami tekančiame vandenyje mažiausiai 3–4 minutes.  
PASTABA: Biocare tyrimai rodo, kad čiaupo ir DI vandens, skirto stiklelių skalavimui, pH gali turėti įtakos dažymui. Sezoniškai skirtinguose šalies regionuose pH gali keistis nuo rūgštinio iki bazinio. Taip pat buvo pranešta, kad kai kuriose valstijose nuo ryto iki popiet pasikeitė vandentiekio vanduo. Ilgas skalavimo laikas po pamėlinimo gali išskirti hematoksiliną. Mes pakeitėme savo skalavimo laiką į 3-4 minutes, o ne anksčiau 7-10 minučių.

## 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 m<sup>o</sup>

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 su reagentu susijusią problemą, susisieki su Biocare techninės pagalbos tarnyba telefonu 1-800-542-2002 arba per techninės pagalbos informaciją, pateiktą biocare.net.

## Teigiama audinių kontrolė:

Išorinės teigiamos kontrolės medžiagos turi būti kuo greičiau užfiksuoti, apdoroti ir įterpti švieži mėginiai tokiu pat būdu kaip ir paciento mėginys (-iai). Teigiamas audinių kontrolė rodo tinkamai paruoštus audinius ir tinkamus 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 yra sukurtas taip, kad būtų galima aptikti subtilius pirminio antikūno jautrumo pokyčius dėl nestabilumo ar problemų, susijusių su IHC metodika. 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 pagalbini priemonė nustatant konkrečią paciento mėginių diagnozę. Jei teigiami audinių kontroliniai mėginiai neparodo teigiamo dažymosi, bandinių rezultatai turėtų būti laikomi negaliojančiais.

## Neigiamų audinių kontrolė:

Kiekvieną dažymo ciklą naudokite neigiamą audinių kontrolę, fiksuotą, apdorotą ir įterptą identiška paciento mėginiui (-iams), kad patikrintumėte IHC pirminio antikūno specifiškumą, 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 neigiamos kontrolės vietas, kad patikrintų IHC veikimą specifikacijas. 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 neigiamą reagento kontrolę sudaro antikūnas, pagamintas ir paruoštas (t. y. atskiestas iki tokios pačios koncentracijos naudojant tą patį skiediklį), skirtas naudoti taip pat, kaip ir pirminis antikūnas, bet neturi specifinio reaktyvumo su žmogaus audiniais toje pačioje matricoje / tirpale kaip ir Biocare. antikūnas. 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.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Lithuanian

# BIOCARE

M E D I C A L

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 specifiškumą, 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.<sup>10</sup> imunohistochemijai ir (arba) NCCLS IHC gairėms<sup>11</sup>. Šios kokybės kontrolės procedūros turi būti kartojamos kiekvienai naujai antikūnų partijai arba kiekvieną kartą, kai pasikeičia tyrimo parametrai. Audiniai, išvardyti skyriuje Veikimo charakteristikos, yra tinkami tyrimo patikrinimui.

## **Problemų sprendimas:**

Laikykites specifinių antikūnų protokolo rekomendacijų pagal pateiktą duomenų lapą. Jei atsiranda netipinių rezultatų, susisieki su Biocare technine pagalba telefonu 1-800-542-2002.

## **Dažymo aiškinimas:**

Pirminis antikūnas veikia kartu su pagalbiniais reagentais, kad sukeltų spalvotą reakciją antigeno vietose, kurias lokalizuoja pirminis antikūnas. Fono bloko pagalbiniai reagentai padeda sumažinti nespecifinį foninį dažymą, kad būtų lengviau interpretuoti antikūnui ir antigenui būdingą dažymo reakciją. Prieš interpretuodamas paciento rezultatus, kontrolinių mėginių dažymą turi įvertinti kvalifikuotas patologas. Neigiamos kontrolinės medžiagos įvertinamos ir palyginamos su nudažytomis stiklėmis, siekiant užtikrinti, kad pastebėtas dažymas nėra nespecifinės sąveikos rezultatas.

## Teigiama audinių kontrolė:

Pirmiausia reikia ištirti 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.<sup>12</sup>

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 ištirta po teigiamos audinių kontrolės, siekiant patikrinti tikslinio antigeno žymėjimo pirminių antikūnų specifiškumą. 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.

Konkrečios informacijos apie nurodytą antikūnų imunoreaktyvumą žr. Santrauka ir paaiškinimas, Apribojimai ir Veikimo charakteristikos.

## **Apribojimai:**

### Bendrieji apribojimai:

1. *Dėl in vitro* diagnostikos (IVD) 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. Vartoti tik pagal gydytojo receptą. (tik Rx)
4. Audinių dažymas priklauso nuo audinio tvarkymo ir apdoravimo 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.<sup>12</sup>
5. Pernelyg didelis arba neišsamus dažymas gali pakenkti tinkamam rezultatų interpretavimui.
6. 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 veiksmus, naudojamus ruošiant ir interpretuojant galutinį IHC preparatą.
7. Optimalūs konkrečios programos protokolai gali skirtis. Tai apima, bet tuo neapsiribojant, fiksavimą, šilumos atgavimo metodą, inkubacijos laiką, antikūnų skiedimą, audinio pjūvio storį ir naudojamą aptikimo rinkinį. Rekomenduojamus protokolus ir naudojimo sąlygas žr. pirminio antikūno ir kitų pagalbinių reagentų naudojimo instrukcijose. Duomenų lapo rekomendacijos ir protokolai yra pagrįsti išskirtiniu Biocare produktų naudojimu. Galiausiai tyrėjas turi nustatyti optimalias sąlygas.
8. Šis produktas nėra skirtas naudoti srauto citometrijoje. Srauto citometrijos veikimo charakteristikos nenustatytos.
9. Asmenų, užsikrėtusių hepatito B virusu ir turinčių hepatito B paviršiaus antigeno (HBsAg), audiniai gali būti nespecifiniai krienų peroksidaze.<sup>14</sup>
10. 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.<sup>15</sup> Susisieki 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).
11. Normalūs/neimuniniai serumai iš to paties gyvūninio šaltinio kaip ir antriniai antiserumai, naudojami blokavimo etapuose, dėl autoantikūnų arba natūralių antikūnų gali sukelti klaidingai neigiamus arba klaidingai teigiamus rezultatus.



60 Berry Drive  
Pacheco, CA 94553  
USA

53/99



TP v1 (04/07/2022)

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



Westervoortsedijk 60  
8627 AT Arnhem  
The Netherlands

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Lithuanian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

12. 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, krūtys, smegenys, inkstai), priklausomai nuo naudojamų imuninės dažų rūšių.<sup>13</sup>
13. Neigiamas rezultatas reiškia, kad antigenas nebuvo aptiktas, o ne tai, kad antigeno nebuvo tiriamose ląstelėse ar audiniuose.

## Specifiniai gaminio apribojimai:

*Jokių papildomų specifinių gaminio apribojimų.*

## **Veikimo charakteristikos:**

Dažymas buvo atliktas naudojant protokolus, pateiktus specifinėse antikūnų naudojimo instrukcijose arba kaip nurodyta. Dažymo jautrumas ir specifiskumas buvo įvertintas įvairiuose normalių ir neoplastinių audinių tipuose, įvertintuose pirminių antikūnų susidarymo metu.

## Atkuriamumas:

Biocare priešdažo reagentų atkuriamumas patikrinamas išmatuojant vidutinį tikslumą, kai įvairios reagentų partijos buvo tiriamos ilgą laiką, naudojant įvairius operatorius, analitikus, reagentų partijas, audinių mėginius ir įrangą. Kiekvieno įvertinto aptikimo reagento dažymas buvo nuoseklus ir atliktas taip, kaip tikėtasi.

## **Problemų sprendimas:**

1. Jokių stiklelių nesidažyta – Patikrinkite, ar buvo naudojami tinkami teigiami kontroliniai audiniai, antikūnai ir aptikimo produktai. Patikrinkite, ar vaškas pašalintas arba apdorotas nevisiškai arba netinkamai.
2. Silpnas visų stiklelių dažymas – Patikrinkite, ar buvo naudojami tinkami teigiami kontroliniai audiniai, antikūnai ir aptikimo produktai.
3. Per didelis visų skaidrių fonas – gali būti didelis endogeninio biotino kiekis (jei naudojami biotino pagrindu pagaminti aptikimo produktai), 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).
4. Inkubacijos metu audinių sekcijos nuplaunamos nuo stiklelių – Patikrinkite stiklelius, kad įsitikintumėte, jog jie yra teigiamai įkrauti.
5. 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:**

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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. 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.

9. 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
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. 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.
12. 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.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Polish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Przeznaczenie:

Dla *in vitro* Zastosowanie diagnostyczne

Urządzenie ONCORE Pro Hematoxylin jest przeznaczone do stosowania przez profesjonalnych użytkowników laboratoryjnych do wizualizacji jąder komórkowych w skrawkach tkanek utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie (FFPE) w procedurach ręcznych lub automatycznych. Jest stosowany jako barwnik kontrastowy w zastosowaniach immunohistochemicznych (IHC) i chromogennej hybrydyzacji *in situ* (CISH). Można go również stosować do rutynowego barwienia hematoxyliną i eozyną. Kluczową interpretację jakiegokolwiek zabarwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi i właściwymi kontrolami oraz ocenić w kontekście historii klinicznej pacjenta i innych badań diagnostycznych przez wykwalifikowanego patologa.

## Podsumowanie i wyjaśnienie:

ONCORE Pro Hematoxylin jest produktem na bazie wody i specjalnie opracowanym do barwienia kontrastowego w automatycznym urządzeniu do barwienia ONCORE Pro firmy Biocare. ONCORE Pro Hematoxylin barwi jądra na błękitno i zapewnia barwienie o wysokim kontraście w procedurach barwienia chromogennego.

## Zasada postępowania:

Ten odczynnik do barwienia kontrastowego po nałożeniu na skrawki tkanek utrwalone w formalinie i zatopione w parafinie poddane wstępnej obróbce barwi jądra komórkowe w skrawkach tkanek i preparatach komórkowych.

## Dostarczone odczynniki:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Znane zastosowania:

Immunohistochemia (tkanki utrwalone w formalinie i zatopione w parafinie)

## Dostarczane jako:

Roztwór hematoxyliny. Dodatkowe informacje znajdują się w Karcie Charakterystyki.

## Rekonstrukcja, rozcieńczenie i mieszanie:

ONCORE Pro Hematoxylin jest zoptymalizowany do stosowania z przeciwciałami Biocare i odczynnikami pomocniczymi i gotowy do użycia z przeciwciałami Biocare IHC i odczynnikami pomocniczymi. Nie jest wymagana rekonstrukcja, mieszanie, rozcieńczenie ani miareczkowanie.

## Materiały i odczynniki wymagane, ale niedostarczane:

Szkiełka mikroskopowe naładowane dodatnio.  
Komora Pustynna\* (piec do suszenia)  
Pozytywne i negatywne kontrole tkankowe  
Ksylen (Można zastąpić substytutem ksylenu\*)  
Etanol lub alkohol reagentowy  
Komora demaskująca\* (szybkowar)  
Woda dejonizowana lub destylowana  
Bufor płuczący\*  
Odczynniki do obróbki wstępnej\*

## Trawienie enzymatyczne\*

Zestaw blokujący awidynę i biotyłę\* (tylko zestawy oznaczone streptawidyną)  
Blokada peroksydazy\* (opcjonalnie)  
Blok białkowy\* (opcjonalnie)  
przeciwciało pierwszorzędowe\*  
Odczynniki kontroli ujemnej\*  
Zestawy do wykrywania\*  
Chromogeny\*  
Odczynnik niebieszcący\*  
Środek montażowy\*

Platforma automatycznego barwienia ONCORE Pro\*

\* Produkty Biocare Medical: Informacje dotyczące numerów katalogowych i zamawiania można znaleźć na stronie internetowej Biocare Medical pod adresem <http://biocare.net>. Niektóre odczynniki wymienione powyżej są oparte na konkretnym zastosowaniu i stosowanym systemie detekcji.

## Przechowywanie i stabilność:

Przechowywać w temperaturze pokojowej z dala od światła. Produkt jest stabilny do daty ważności wydrukowanej na etykiecie fiolki, jeśli jest przechowywany w tych warunkach. Nie stosować po upływie daty ważności. Przechowywanie w warunkach innych niż określone należy zweryfikować. Odczynniki zestawu są gotowe do użycia i nie należy ich rozcieńczać. Stabilność odczynnika rozcieńczonego przez użytkownika nie została ustalona przez firmę Biocare.

## Przygotowanie próbek:

Chusteczki utrwalone w formalinie nadają się do użycia przed zatopieniem w parafinie. Tkanki kostne należy odwapnić przed przetwarzaniem tkanek, aby ułatwić cięcie tkanek i zapobiec uszkodzeniu ostrej mikrotomu.<sup>1,2</sup>

Prawidłowo utrwalone i zatopione tkanki wykazujące ekspresję określonego docelowego antygenu należy przechowywać w chłodnym miejscu. Ustawa o doskonaleniu laboratoriów klinicznych (CLIA) z 1988 r. wymaga w 42 CFR§493.1259(b) że „Laboratorium musi przechowywać wybarwione szkiełka przez co najmniej dziesięć lat od daty oględzin i zachować bloki próbek przez co najmniej dwa lata od daty oględzin.”<sup>3</sup>

## Obróbka tkanek przed barwieniem:

Przeprowadź pobieranie epitopu indukowane ciepłem (HIER) zgodnie z zalecanym protokołem poniżej. Wykazano, że rutynowe stosowanie HIER przed IHC minimalizuje niespójność i standaryzuje barwienie.<sup>4,5</sup>

## Ostrzeżenie i środki ostrożności:

- Odczynniki zestawu zawierają mniej niż 0,05% ProClin 300 i/lub mniej niż 1% ProClin 950. Podczas pracy należy nosić rękawice i odzież ochronną oraz stosować rozsądne środki ostrożności, ponieważ ProClin jest klasyfikowany jako drażniący i może powodować uczulenie w kontakcie ze skórą. Unikać kontaktu z oczami, skórą i błonami śluzowymi.
- Postępuj z materiałami pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego jako potencjalnie niebezpiecznymi biologicznie i usuwaj je, zachowując odpowiednie środki ostrożności. W przypadku narażenia należy postępować zgodnie z wytycznymi zdrowotnymi właściwych władz w miejscu stosowania.<sup>6,7</sup>
- Z próbkami przed i po utrwaleniu oraz wszystkimi materiałami narażonymi na ich kontakt należy postępować tak, jakby mogły przenosić infekcję i usuwać z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności. Nigdy nie pipetować odczynników ustami i unikać kontaktu odczynników i próbek ze skórą i błonami śluzowymi. Jeśli odczynniki lub próbki zetkną się z wrażliwymi obszarami, przemyj je dużą ilością wody.<sup>8</sup>
- Zanieczyszczenie mikrobiologiczne odczynników może spowodować zwiększenie niespecyficznego barwienia.
- Czasy inkubacji lub temperatury inne niż podane mogą dawać błędne wyniki. Użytkownik musi zatwierdzić każdą taką zmianę.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923


Polish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

- Nie używać odczynnika po upływie daty ważności wydrukowanej na fiolce.
- Odczynniki zestawu do wykrywania mikropolimerów są zoptymalizowane i gotowe do użycia z przeciwciałami Biocare i odczynnikami pomocniczymi. Zalecane protokoły i warunki stosowania znajdują się w instrukcjach użycia przeciwciała pierwszorzędowego i innych odczynników pomocniczych.
- Postępuj zgodnie z lokalnymi i/lub stanowymi przepisami dotyczącymi sposobu utylizacji.
- Karta charakterystyki jest dostępna na żądanie i znajduje się pod adresem <http://biocare.net>.
- Zgłaszaj wszelkie poważne incydenty związane z tym urządzeniem, kontaktując się z lokalnymi

Przedstawiciel firmy Biocare i odpowiedni właściwy organ państwa członkowskiego lub kraju, w którym znajduje się użytkownik.

Ten produkt ONCORE Pro Hematoxylin zawiera składniki sklasyfikowane zgodnie z poniższą tabelą zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 1272/2008

Zaryzykować	Kod	Oświadczenie o zagrożeniu
	H315 H319	Powoduje podrażnienie skóry. Powoduje poważne podrażnienie oczu.

## Instrukcja użycia:

Odczynniki ONCORE Pro Hematoxylin są zoptymalizowane do stosowania z przeciwciałami Biocare i odczynnikami pomocniczymi. Zalecane protokoły i warunki stosowania znajdują się w informacjach o przeciwciałach pierwotnych. Czasy i temperatury inkubacji będą się różnić w zależności od określonego protokołu przeciwciała.

W przypadku korzystania z automatycznego instrumentu do barwienia należy zapoznać się z instrukcją obsługi konkretnego instrumentu oraz instrukcjami użytkownika w celu uzyskania informacji o parametrach operacyjnych.

## Instrukcja użycia:

ONCORE Pro Hematoxylin jest dostarczany w fiolkach gotowych do użycia w automatycznym urządzeniu do barwienia preparatów ONCORE Pro. Odkręć fiolkę i umieść ją na tacy odczynników ONCORE Pro. ONCORE Pro Automated Slide Stainer nałóż odczynnik zgodnie z wymaganiami wybranego protokołu. Zalecany protokół barwienia znajduje się w odpowiedniej karcie danych przeciwciała. Szczegółowe instrukcje dotyczące obsługi aparatu i dodatkowych opcji protokołów znajdują się w Podręczniku użytkownika automatycznego systemu barwienia ONCORE Pro.

## Uwagi techniczne:

- Przefiltruj produkt za pomocą filtra 0,4 mikrona, jeśli widoczne są cząstki stałe.
  - Biocare Medical stosuje wyłącznie barwniki posiadające certyfikat Komisji ds. Plamienia Biologicznego. ONCORE Pro Hematoxylin jest specjalnie opracowany, aby wyeliminować konieczność różnicowania sekcji.
- UWAGA: Największym zarzutem wobec hematoksyliny Mayera stosowanej w przeszłości było to, że wybarwione szkiełka często blakły po 1-3 latach. Problem ten można jednak wyeliminować, przemywając preparaty po hematoksylinie pod bieżącą wodą przez minimum 3-4 minuty.
- UWAGA: Badania przeprowadzone przez firmę Biocare wykazały, że pH wody z kranu i wody dejonizowanej do płukania szkiełek może wpływać na barwienie. pH może zmieniać się sezonowo z kwaśnego na zasadowe w różnych regionach kraju. Ponadto doniesiono, że w niektórych stanach nastąpiły zmiany w wodzie z kranu od rana do popołudnia. Długie czasy

płukania po niebieknięciu mogą odróżnić Hematoxylin. Zmodyfikowaliśmy nasz czas płukania do 3-4 minut, zamiast poprzednich 7-10 minut.

## 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](http://www.clsi.org)). 2011<sup>1</sup>

Kontrole dodatnie i ujemne należy analizować jednocześnie ze wszystkimi próbkami pobranymi od pacjentów. W przypadku zaobserwowania nieoczekiwanego barwienia, którego nie można wytłumaczyć różnicami w procedurach laboratoryjnych, oraz podejrzenia problemu z odczynnikami, należy skontaktować się z pomocą techniczną firmy Biocare pod numerem 1-800-542-2002 lub za pośrednictwem informacji dotyczących pomocy technicznej dostępnych na stronie [biocare.net](http://biocare.net).

## pozytywna kontrola tkankowa:

Zewnętrzny materiałami kontroli pozytywnej powinny być świeże próbki, utrwalone, przetworzone i zatopione tak szybko, jak to możliwe, w taki sam sposób, jak próbki pacjenta. Pozytywne kontrole tkankowe wskazują na prawidłowo przygotowane tkanki i właściwe techniki barwienia. Każda seria barwienia powinna zawierać jedną pozytywną zewnętrzną kontrolę tkankową dla każdego zestawu warunków badania.

Tkanki użyte jako zewnętrzne materiały kontroli pozytywnej powinny być wybrane z próbek pobranych od pacjentów z dobrze scharakteryzowanymi niskimi poziomami pozytywnej aktywności docelowej, która daje słabe dodatnie barwienie. Niski poziom pozytywnej aktywności dla zewnętrznych kontroli dodatnich został zaprojektowany w taki sposób, aby zapewnić wykrywanie subtelnych zmian czułości przeciwciał pierwszorzędowych wynikających z niestabilności lub problemów z metodologią IHC. Dostępne w handlu szkiełka kontrolne tkanek lub próbki przetworzone w inny sposób niż próbki pacjenta służą jedynie do walidacji działania odczynnika i nie weryfikują przygotowania tkanki.

Znane dodatnie kontrole tkankowe należy wykorzystywać wyłącznie do monitorowania prawidłowego działania przetworzonych tkanek i odczynników testowych, a nie jako pomoc w formułowaniu określonej diagnozy próbek pobranych od pacjentów. Jeśli pozytywne kontrole tkankowe nie wykażą pozytywnego barwienia, wyniki z próbkami testowymi należy uznać za nieważne.

## Negatywna kontrola tkankowa:

Do każdej serii barwienia należy użyć utrwalonej, przetworzonej i zatopionej kontroli tkanki ujemnej w sposób identyczny jak próbka (próbki) pacjenta, aby zweryfikować swoistość pierwszorzędowego przeciwciała IHC dla demonstrację antygeny docelowej oraz wskazanie specyficznego barwienia tła (fałszywie pozytywne barwienie). Również różnorodność różnych typów komórek obecnych w większości skrawków tkanek może być używane przez laboranta jako wewnętrzne punkty kontroli ujemnej w celu weryfikacji działania IHC specyfikacji. Rodzaje i źródła próbek, które mogą być użyte do uzyskania tkanki ujemnej kontrole są wymienione w sekcji Charakterystyki wydajności.

W przypadku wystąpienia swoistego barwienia (fałszywie dodatniego barwienia) w negatywnej kontroli tkankowej, wyniki próbek pacjentów należy uznać za nieważne.

## Niespecyficzna kontrola odczynnika ujemnego:

Użyj nieswoistej kontroli ujemnej odczynnika zamiast przeciwciała pierwszorzędowego w skrawku każdej próbki pacjenta, aby ocenić nieswoiste barwienie i

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Polish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

pozwalają na lepszą interpretację specyficznego barwienia w miejscu antygeny. Idealnie, kontrola ujemna odczynnika zawiera przeciwciała wyprodukowane i przygotowane (tj. rozcieńczone do tego samego stężenia przy użyciu tego samego rozcieńczalnika) do użycia w taki sam sposób jak przeciwciała pierwotne, ale nie wykazuje żadnej swoistej reaktywności z tkankami ludzkimi w tej samej matrycy/roztworze co Biocare przeciwciała. Sam rozcieńczalnik może być stosowany jako mniej pożądana alternatywa dla wcześniej opisanych kontroli negatywnych odczynników. Okres inkubacji dla kontroli ujemnej odczynnika powinien odpowiadać okresowi inkubacji przeciwciała pierwszorzędowego.

Gdy panele kilku przeciwciał są używane na skrawkach seryjnych, obszary barwiące się negatywnie na jednym szkiełku mogą służyć jako kontrola tła ujemnego/nieswoistego wiązania dla innych przeciwciał. W celu odróżnienia endogennej aktywności enzymów lub nieswoistego wiązania enzymów od swoistej immunoreaktywności dodatkowe tkanki pacjenta można barwić wyłącznie odpowiednio substrat-chromogen lub kompleksy enzymatyczne (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 tkanek własnej firmy o znanej charakterystyce działania immunohistochemicznego, reprezentujących znane tkanki dodatnie i ujemne. Zapoznaj się z procedurami kontroli jakości opisanymi wcześniej w tej części ulotki informacyjnej produktu oraz z zaleceniami dotyczącymi kontroli jakości Programu Certyfikacji CAP<sup>®</sup> dla immunohistochemii i/lub wytyczne NCCLS IHC<sup>11</sup>. Te procedury kontroli jakości należy powtarzać dla każdej nowej serii przeciwciał lub za każdym razem, gdy nastąpi zmiana parametrów testu. Tkanki wymienione w części Charakterystyki wydajności nadają się do weryfikacji testu.

## **Rozwiązywanie problemów:**

Postępuj zgodnie z zaleceniami protokołu specyficznymi dla przeciwciał zgodnie z dostarczonym arkuszem danych. Jeśli wystąpią nietypowe wyniki, skontaktuj się z pomocą techniczną firmy Biocare pod numerem 1-800-542-2002.

## **Interpretacja barwienia:**

Przeciwciała pierwszorzędowe działają w połączeniu z odczynnikami pomocniczymi, wywołując barwną reakcję w miejscach antygeny zlokalizowanych przez przeciwciała pierwszorzędowe. Pomocnicze odczynniki blokujące tło pomagają zredukować niespecyficzne barwienie tła, ułatwiając interpretację specyficzną reakcji barwienia przeciwciała-antygen. Przed interpretacją wyników pacjenta, wykwalifikowany patolog musi ocenić wybarwienie kontroli. Kontrole ujemne są oceniane i porównywane z wybarwionymi preparatami, aby upewnić się, że zaobserwowane wybarwienie nie jest wynikiem niespecyficznych interakcji.

## Pozytywna kontrola tkankowa:

Pozytywną kontrolę tkankową wybarwioną wskazanym przeciwciałem należy najpierw zbadać, aby upewnić się, że wszystkie odczynniki działają prawidłowo. Odpowiednie wybarwienie komórek docelowych (jak wskazano powyżej) wskazuje na dodatnią reaktywność. Jeśli dodatnie kontrole tkankowe nie wykażą pozytywnego barwienia, wszelkie wyniki z próbkami testowymi należy uznać za nieważne.

Barwa produktu reakcji może się różnić w zależności od użytego chromogenu substratu. Informacje na temat oczekiwanych reakcji barwnych można znaleźć w ulotkach dołączonych do opakowania podłoża. Ponadto w odmianach metody barwienia można zaobserwować metachromazję.<sup>12</sup>

Kiedy stosuje się barwnik kontrastowy, w zależności od długości inkubacji i mocy użytego barwnika kontrastowego, barwienie kontrastujące spowoduje zabarwienie jąder komórkowych. Nadmierne lub niepełne barwienie

kontrastowe może zagrozić prawidłowej interpretacji wyników. Zapoznać się z protokołami dotyczącymi zalecanego barwienia kontrastowego.

## Negatywna kontrola tkankowa:

Negatywna kontrola tkankowa powinna zostać zbadana po pozytywnej kontroli tkankowej w celu zweryfikowania specyficzności znakowania docelowego antygeny przez przeciwciała pierwszorzędowe. Brak specyficznego barwienia w negatywnej kontroli tkankowej potwierdza brak reaktywności krzyżowej przeciwciał z komórkami/składnikami komórkowymi. W przypadku wystąpienia specyficznego barwienia (fałszywie dodatniego barwienia) w ujemnej zewnętrznej kontroli tkankowej, wyniki uzyskane z próbki pacjenta należy uznać za nieważne.

Barwienie niespecyficzne, jeśli występuje, ma zwykle rozproszony wygląd. Sporadyczne barwienia tkanki łącznej można również zaobserwować w skrawkach z tkanek nadmiernie utrwalonych w formalinie. Użyj nienaruszonych komórek do interpretacji wyników barwienia. Komórki martwicze lub zdegenerowane często wybarwiają się niespecyficzenie.

## Tkanka pacjenta:

Zbadaj próbki pacjentów wybarwione wskazanym przeciwciałem ostatni. Intensywność barwienia dodatniego należy oceniać w kontekście każdego nieswoistego barwienia tła kontroli ujemnej odczynnika. Podobnie jak w przypadku każdego testu immunohistochemicznego, wynik ujemny oznacza, że antygen nie został wykryty, a nie, że antygen był nieobecny w testowanych komórkach/tkankach. Jeśli to konieczne, użyj panelu przeciwciał, aby zidentyfikować reakcje fałszywie ujemne.

Patrz Podsumowanie i wyjaśnienie, Ograniczenia i Charakterystyka działania, aby uzyskać szczegółowe informacje dotyczące wskazanej immunoreaktywności przeciwciał.

## **Ograniczenia:**

### Ogólne ograniczenia:

1. Dla *in vitro* zastosowanie diagnostyczne (IVD).
2. Ten produkt jest przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego: Immunohistochemia to wieloetapowy proces diagnostyczny, który polega na specjalistycznym przeszkoleniu w zakresie doboru odpowiednich odczynników; wybór tkanek, utrwalanie i przetwarzanie; przygotowanie slajdu IHC; i interpretacji wyników barwienia.
3. Do stosowania wyłącznie na receptę lekarza. (tylko Rx)
4. Barwienie tkanek zależy od obchodzenia się z tkanką i jej przetwarzania przed barwieniem. Niewłaściwe utrwalanie, zamrażanie, rozmrażanie, mycie, suszenie, ogrzewanie, cięcie na skrawki lub zanieczyszczenie innymi tkankami lub płynami może powodować artefakty, pułapowanie przeciwciał lub wyniki fałszywie ujemne. Niespójne wyniki mogą być spowodowane różnicami w metodach mocowania i zatapiania lub nieodłącznymi nieprawidłowościami w obrębie tkanki.<sup>12</sup>
5. Nadmierne lub niepełne barwienie kontrastowe może zagrozić prawidłowej interpretacji wyników.
6. Kliniczna interpretacja każdego dodatniego lub ujemnego odczynu powinna być oceniana w kontekście obrazu klinicznego, morfologii i innych kryteriów histopatologicznych. Kliniczna interpretacja jakiegokolwiek dodatniego lub ujemnego odczynu powinna być uzupełniona badaniami morfologicznymi z wykorzystaniem odpowiednich dodatnich i ujemnych kontroli wewnętrznych i zewnętrznych, a także innymi testami diagnostycznymi. Za interpretację wszystkich etapów przygotowania i interpretację końcowego preparatu IHC odpowiada wykwalifikowany patolog, który jest zaznajomiony z właściwym stosowaniem przeciwciał IHC, odczynników i metod.
7. Optymalne protokoły dla konkretnego zastosowania mogą się różnić. Obejmują one między innymi utrwalanie, metodę odzyskiwania ciepła, czasy inkubacji, rozcieńczenie przeciwciała, grubość skrawka tkanki i

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Polish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

zastosowany zestaw do wykrywania. Zalecane protokoły i warunki stosowania znajdują się w instrukcjach użycia przeciwciała pierwszorzędowego i innych odczynników pomocniczych. Zalecenia i protokoły zawarte w arkuszu danych opierają się na wyłącznym stosowaniu produktów Biocare. Ostatecznie to badacz jest odpowiedzialny za określenie optymalnych warunków.

8. Ten produkt nie jest przeznaczony do stosowania w cytometrii przepływowej. Charakterystyki działania nie zostały określone dla cytometrii przepływowej.
9. Tkanki od osób zakażonych wirusem zapalenia wątroby typu B i zawierające antygen powierzchniowy wirusa zapalenia wątroby typu B (HBsAg) mogą wykazywać niespecyficzne barwienie peroksydazą chrzanową.<sup>14</sup>
10. Odczynniki mogą wykazywać nieoczekiwane reakcje we wcześniej nietestowanych tkankach. Możliwość wystąpienia nieoczekiwanych reakcji nawet w badanych grupach tkanek nie może być całkowicie wyeliminowana ze względu na biologiczną zmienność ekspresji antygeny w nowotworach lub innych tkankach patologicznych.<sup>15</sup> Skontaktuj się z działem pomocy technicznej firmy Biocare pod numerem 1-800-542-2002 lub za pośrednictwem informacji pomocy technicznej dostępnych na stronie biocare.net, podając udokumentowane nieoczekiwane reakcje.
11. Normalne/nieodporne surowice pochodzące z tego samego źródła zwierzęcego, co drugorzędowe surowice odpornościowe stosowane w etapach blokowania, mogą dawać wyniki fałszywie ujemne lub fałszywie dodatnie z powodu obecności autoprzeciwciał lub przeciwciał naturalnych.
12. Wyniki fałszywie dodatnie mogą być spowodowane nieimmunologicznym wiązaniem białek lub produktów reakcji substratu. Mogą być również spowodowane aktywnością pseudoperoxydazy (erytrocyty), endogenną aktywnością peroksydazy (cytochrom C) lub endogenną biotyną (np. wątroba, piersi, mózg, nerki) w zależności od rodzaju zastosowanego immunobarwienia.<sup>13</sup>
13. Wynik ujemny oznacza, że antygen nie został wykryty, a nie, że antygen był nieobecny w badanych komórkach lub tkankach.

## Ograniczenia specyficzne dla produktu:

*Brak dodatkowych ograniczeń specyficznych dla produktu.*

## **Charakterystyka wydajności:**

Barwienie przeprowadzono stosując protokoły dostarczone w instrukcjach użycia specyficznych dla przeciwciał lub zgodnie ze specyfikacją. Czułość i swoistość barwienia oceniano w zakresie różnych typów tkanek prawidłowych i nowotworowych ocenianych podczas opracowywania przeciwciał pierwotnych.

## Powtarzalność:

Powtarzalność odczynników do barwienia kontrastowego firmy Biocare jest weryfikowana poprzez pomiar o pośredniej precyzji, w którym różne serie odczynników były testowane przez dłuższy czas przy użyciu różnych operatorów, analityków, partii odczynników, próbek tkanek i sprzętu. Barwienie uzyskane dla każdego ocenianego odczynnika do wykrywania było spójne i przeprowadzone zgodnie z oczekiwaniami.

## **Rozwiązywanie problemów:**

1. Brak barwienia jakichkolwiek szkiełek – Sprawdź, czy zastosowano odpowiednią tkankę kontroli dodatniej, przeciwciała i produkty wykrywające. Sprawdź, czy usuwanie lub obróbka wstępna nie została wykonana niekompletnie lub niewłaściwie.
2. Słabe barwienie wszystkich szkiełek – Sprawdź, czy zastosowano odpowiednią tkankę kontroli dodatniej, przeciwciała i produkty wykrywające.
3. Nadmierne tło wszystkich preparatów – Może występować wysoki poziom endogennej biotyny (w przypadku stosowania produktów do wykrywania opartych na biotynie), endogennej aktywności HRP przekształcającej chromogen w barwny produkt końcowy (użyj bloku peroksydazy) lub nadmiernej nieswoistej interakcji z białkami (użyj białka blokada, taka 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. Zbyt ciemne specyficzne barwienie – Sprawdź protokół, aby określić, czy na szkiełku zastosowano odpowiednie miano przeciwciał, a także odpowiednie czasy inkubacji dla wszystkich odczynników. Ponadto upewnij się, że protokół zawiera wystarczającą liczbę etapów przemywania, 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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. 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.
9. 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
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. <http://www.cap.org> (800) 323-4040.
11. 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.
12. 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.
13. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Norwegian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Tiltenkt bruk:

Til *in vitro* Diagnostisk bruk

ONCORE Pro Hematoxylin er beregnet for bruk av profesjonelle laboratoriebrukere for visualisering av cellulære kjerner i formalinfikserte, parafininnstøpte (FFPE) vevsseksjoner i manuelle eller automatiserte prosedyrer. Den brukes som en motfarging i immunhistokjemiske (IHC) og kromogene *in situ* hybridisering (CISH) applikasjoner. Den kan også brukes til rutinemessig hematoxylin- og eosinfarging. Den kliniske tolkningen av enhver farging eller dens fravær bør kompletteres med morfologiske studier og riktige kontroller og bør evalueres i sammenheng med pasientens kliniske historie og andre diagnostiske tester av en kvalifisert patolog.

## Sammendrag og forklaring:

ONCORE Pro Hematoxylin er vannbasert og er spesielt formulert for motfarging på Biocare's ONCORE Pro Automated Stainer. ONCORE Pro Hematoxylin farger kjerner himmelblå og gir høykontrastfarging for kromogene fargingsprosedyrer.

## Prosedyreprinsipp:

Denne motfarge-reagensen, når den påføres på forbehandlede formalinfikserte, parafininnstøpte vevsseksjoner, farger cellekjernene i vevsseksjoner og cellulære preparater.

## Reagenser som følger med:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Kjente applikasjoner:

Immunhistokjemi (formalinfixert parafininnstøpt vev)

## Leveres som:

Hematoxylinløsning. Se sikkerhetsdatabladet for ytterligere detaljer.

## Rekonstituering, fortynning og blanding:

ONCORE Pro Hematoxylin er optimalisert for bruk med Biocare-antistoffer og hjelpereagenser og klar til bruk med Biocare IHC-antistoffer og hjelpereagenser. Ingen rekonstituering, blanding, fortynning eller titrering er nødvendig.

## Materialer og reagenser som kreves, men ikke levert:

Mikroskopobjektglass positivt ladet.  
Desert Chamber\* (tørkeovn)  
Positive og negative vevskontroller  
Xylen (kan erstattes med xylenerstatning\*)  
Etanol eller reagens alkohol  
Decloaking Chamber\* (trykkoker)  
Avionisert eller destillert vann  
Vaskebuffer\*  
Forbehandlingsreagenser\*  
Enzymfordøyelse\*  
Avidin-Biotin Blocking Kit\* (bare merkede streptavidin-sett)  
Peroksidaseblokk\* (valgfritt)  
Proteinblokk\* (valgfritt)

Primært antistoff\*

Negative kontrollreagenser\*

Deteksjonssett\*

Kromogener\*

Blånende reagens\*

Monteringsmedium\*

ONCORE Pro Automated Staining Platform\*

\* Biocare Medical Products: Se Biocare Medical-nettstedet på <http://biocare.net> for informasjon om katalognummer og bestilling. Enkelte reagenser oppført ovenfor er basert på spesifikk bruk og deteksjonssystem som brukes.

## Lagring og stabilitet:

Oppbevares ved romtemperatur vekk fra lys. 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. Reagenssett(e) er klare til bruk og skal ikke fortynnes. Stabiliteten til brukerfortynnet reagens er ikke fastslått av Biocare.

## 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.<sup>1,2</sup>

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 oppbevaringsprøveblokker i minst to år fra eksamensdatoen."<sup>3</sup>

## 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.<sup>4,5</sup>

## Advarsel og forholdsregler:

1. Sett-reagenser inneholder mindre enn 0,05 % ProClin 300 og/eller mindre enn 1 % ProClin 950. Bruk hansker og verneklær og ta rimelige forholdsregler ved håndtering, da ProClin er klassifisert som irriterende og kan forårsake hudkontaktsensibilisering. Unngå kontakt med øyne, hud og slimhinner.
2. Håndter materialer av menneskelig eller animalsk opprinnelse som potensielt biologisk farlig og kast slike materialer med riktige forholdsregler. I tilfelle eksponering, følg helsedirektivene til de ansvarlige myndighetene der det brukes.<sup>6,7</sup>
3. 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 avhendes 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.<sup>8</sup>
4. Mikrobiell kontaminering av reagenser kan føre til en økning i uspesifikk farging.
5. Andre inkubasjonstider eller temperaturer enn de spesifiserte kan gi feilaktige resultater. Brukeren må validere enhver slik endring.
6. Ikke bruk reagens etter utløpsdatoen som er trykt på hetteglasset.
7. Mikropolymerdeteksjonssettets reagens(er) er optimalisert og klar til bruk med Biocare-antistoffer og hjelpereagenser. Se bruksanvisningen for det primære antistoffet og andre hjelpereagenser for anbefalte protokoller og bruksbetingelser.
8. Følg lokale og/eller statlige myndigheters krav for avhendingsmetode.
9. SDS er tilgjengelig på forespørsel og ligger på <http://biocare.net>.
10. Rapport alle alvorlige hendelser relatert til denne enheten ved å kontakte den lokale

 Biocare Medical

60 Berry Drive  
Pacheco, CA 94553  
USA

59/99



TP v1 (04/07/2022)

Tel: 800-799-9499 | [www.biocare.net](http://www.biocare.net) | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60  
6827 AT Arnhem  
The Netherlands

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent


901-6087-082923

Norwegian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Biocare-representant og gjeldende kompetent myndighet i medlemsstaten eller landet der brukeren befinner seg.

Denne ONCORE Pro Hematoxylin inneholder komponenter klassifisert som angitt i tabellen nedenfor i samsvar med forordning (EC) nr. 1272/2008

Fare	Kode	Fareerklæring
	H315 H319	Forårsaker hudirritasjon. Forårsaker alvorlig øyeirritasjon.

## Instruksjoner for bruk:

ONCORE Pro Hematoxylin-reagenser er optimalisert for bruk med Biocare-antistoffer og hjelpereagenser. Se den primære antistoffinformasjonen for bruk for anbefalte protokoller og betingelser for bruk. Inkubasjonstider og temperaturer vil variere avhengig av den spesifikke antistoffprotokollen som følges.

Når du bruker et automatisert fargeinstrument, se den spesifikke instrumentets brukerhåndbok og bruksanvisning for driftsparametere.

### Instruksjoner for bruk:

ONCORE Pro Hematoxylin leveres i hetteglass klare til bruk på ONCORE Pro Automated Slide Stainer. Ta av lokket på hetteglasset og plasser i ONCORE Pro-reagensbrettet. ONCORE Pro Automated Slide Stainer vil påføre reagens etter behov i den valgte protokollen. Se det aktuelle antistoffdatabladet for anbefalt fargingsprotokoll. Se brukerhåndboken for ONCORE Pro Automated Slide Staining System for detaljerte instruksjoner om instrumentbruk og tilleggsprotokollalternativer.

## Tekniske merknader:

1. Filtrert produktet med et 0,4-mikron filter hvis partikler sees.
  2. Biocare Medical bruker kun flekker som er sertifisert av Biological Stain Commission. ONCORE Pro Hematoxylin er spesielt formulert for å eliminere nødvendigheten av differensiering av seksjonen.
- MERK: Den største innvendingen mot Mayers hematoxylin som tidligere ble brukt, har vært at fargede lysbilder ofte blekner etter 1-3 år. Dette problemet kan imidlertid elimineres når objektglass vaskes etter hematoxylin i rennende vann i minimum 3-4 minutter.
- MERK: Biocares forskningsstudier viser at pH i springen og DI-vann for skylning av objektglass kan påvirke farging. pH kan endre seg fra sur til basisk sesongmessig i forskjellige regioner av landet. Det er videre rapportert at det har vært endringer i vann fra springen fra morgen til ettermiddag i enkelte stater. Lange skylletider etter blåning kan skille ut Hematoxylin. Vi har endret skylletiden vår til 3-4 minutter, i stedet for de forrige 7-10 minuttene.

## Kvalitetskontroll:

Se CLSI kvalitetsstandarder for design og implementering av immunhistokjemianalyser; Godkjent guideline-andre utgave (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011<sup>o</sup>

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 reagensen, kontakt Biocares tekniske støtte på 1-800-542-2002 eller via teknisk støtteinformasjon gitt på biocare.net.

## Positiv vevskontroll:

Ekstern 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 ekstern 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 målkaktiviteten som gir svak positiv farging. Det lave nivået av positivitet for eksterne positive kontroller er designet for å sikre påvisning av subtile endringer i det primære antistoffsensitiviteten 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 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 vevssnitt kan brukes av laboratoriet som interne negative kontrollsteder for å verifisere IHCs ytelse spesifikasjoner. Typer og kilder til prøver som kan brukes for negativt vev kontrollene 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 antistoff produsert og forberedt (dvs. fortynt til samme konsentrasjon ved bruk av samme fortynningsmiddel) for bruk på samme måte som det primære antistoffet, men viser ingen spesifikk reaktivitet med humant vev i samme matrise/løsning som Biocare antistoff. Fortyningmiddel 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

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Norwegian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

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<sup>®</sup> for immunhistokjemi og/eller NCCLS IHC-retningslinjen<sup>11</sup>. Disse kvalitetskontrollprosedyrene bør gjentas for hvert nytt antistofflot, eller når det er en endring i analyseparametere. Vev som er oppført i delen Ytelseskaraktistikk 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:

Et primært antistoff fungerer sammen med hjelpereagenser for å produsere en farget reaksjon på antigenstedene lokalisert av det primære antistoffet. Bakgrunnsblokkstøttereagenser hjelper til med å redusere ikke-spesifikk bakgrunnsfarging for å lette tolkningen av den antistoff-antigenspesifikke fargingsreaksjonen. Før tolkning av pasientresultater, må farging av kontroller evalueres av en kvalifisert patolog. Negative kontroller blir evaluert og sammenlignet med fargede objektglass for å sikre at eventuell observert farging ikke er et resultat av uspesifikke interaksjoner.

## 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.<sup>12</sup>

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.

Se sammendrag og forklaring, begrensninger og ytelsesegenskaper for spesifikk informasjon om indikert antistoffimmunreaktivitet.

## Begrensninger:

### Generelle begrensninger:

1. Til *in vitro* diagnostisk (IVD) 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. Kun til bruk etter resept fra lege. (Kun Rx)
4. 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.<sup>13</sup>
5. Overdreven eller ufullstendig motfarging kan kompromittere riktig tolkning av resultatene.
6. 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 ansvarlig 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.
7. De optimale protokollene for en spesifikk applikasjon kan variere. Disse inkluderer, men er ikke begrenset til, fiksering, varmhentingsmetode, inkubasjonstider, antistofffortynning, vevssnittykkelse og deteksjonssett som brukes. Se bruksanvisningen for det primære antistoffet og andre hjelpereagenser for anbefalte protokoller og bruksbetingelser. Databladanbefalingene og protokollene er basert på eksklusiv bruk av Biocare-produkter. Til syvende og sist er det etterforskerens ansvar å bestemme optimale forhold.
8. Dette produktet er ikke beregnet for bruk i flowcytometri. Ytelseskaraktistikk er ikke bestemt for flowcytometri.
9. Vev fra personer infisert med hepatitt B-virus og som inneholder hepatitt B-overflateantigen (HBsAg) kan vise uspesifikk farging med pepperrotperoksidase.<sup>14</sup>
10. 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.<sup>15</sup> Kontakt Biocares tekniske støtte på 1-800-542-2002, eller via den tekniske støtteinformasjonen gitt på biocare.net, med dokumenterte uventede reaksjoner.
11. 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.
12. Falsk-positive resultater kan sees på grunn av ikke-immunologisk binding av proteiner eller substratreaksjonsprodukter. De kan også være forårsaket av pseudoperoksidaseaktivitet (erytrocytter), og

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Norwegian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

- peroksidaseaktivitet (cytokrom C) eller endogen biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) avhengig av typen immunfarging som brukes.<sup>1,3</sup>
13. Et negativt resultat betyr at antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet var fraværende i cellene eller vevet som ble undersøkt.

#### Produktspesifikke begrensninger:

*Ingen ytterligere produktspesifikke begrensninger.*

#### **Ytelsesegenskaper:**

Farging ble utført ved bruk av protokoller gitt i de antistoffspesifikke bruksanvisningene eller som spesifisert. Sensitiviteten og spesifisiteten til farging ble evaluert på tvers av en rekke normale og neoplastiske vevstyper evaluert under utvikling av primære antistoffer.

#### Reproduserbarhet:

Reproduserbarheten til Biocares motfarge-reagenser verifiseres gjennom en måling av middels presisjon der ulike reagenspartier ble testet over en lengre tidsperiode ved bruk av ulike operatører, analytikere, reagenslots, vevsprøver og utstyr. Fargingen oppnådd for hver deteksjonsreagens som ble evaluert var konsistent og utført som forventet.

#### **Feilsøking:**

1. Ingen farging av noen objektglass – Kontroller for å fastslå at det er brukt passende positivt kontrollvev, antistoff og deteksjonsprodukter. Se etter ufullstendig eller feil fjerning av voks eller forbehandling.
2. Svak farging av alle objektglass – Kontroller for å fastslå at det er brukt passende positivt kontrollvev, antistoff og deteksjonsprodukter.
3. Overdreven bakgrunn av alle lysbildene - Det kan være høye nivåer av endogen 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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. 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.
9. 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
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.

11. 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.
12. 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.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Portuguese

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Uso pretendido:

Para *em vitro* uso de diagnóstico

O ONCORE Pro Hematoxylin destina-se ao uso por usuários profissionais de laboratório para a visualização de núcleos celulares em seções de tecido fixadas em formalina e embebidas em parafina (FFPE) em procedimentos manuais ou automatizados. É usado como contracorante em aplicações imuno-histoquímicas (IHC) e de hibridização cromogênica *in situ* (CISH). Também pode ser usado para coloração de rotina com hematoxilina e eosina. A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos e controles adequados e deve ser avaliada no contexto da história clínica do doente e de outros testes de diagnóstico por um patologista qualificado.

## Resumo e Explicação:

ONCORE Pro Hematoxylin é à base de água e é especialmente formulado para contrastação no ONCORE Pro Automated Stainer da Biocare. ONCORE Pro Hematoxylin cora os núcleos em azul celeste e fornece coloração de alto contraste para procedimentos de coloração cromogênica.

## Princípio do Procedimento:

Este reagente de contracoloração, quando aplicado a seções de tecido pré-tratadas fixadas em formalina e embebidas em parafina, cora os núcleos celulares em seções de tecido e preparações celulares.

## Reagentes fornecidos:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Aplicações Conhecidas:

Imuno-histoquímica (tecidos fixados em formalina e embebidos em parafina)

## Fornecido como:

Solução de hematoxilina. Consulte a Ficha de Dados de Segurança para obter detalhes adicionais.

## Reconstituição, Diluição e Mistura:

O ONCORE Pro Hematoxylin é otimizado para uso com anticorpos Biocare e reagentes auxiliares e pronto para uso com anticorpos Biocare IHC e reagentes auxiliares. Não é necessária reconstituição, mistura, diluição ou titulação.

## Materiais e reagentes necessários, mas não fornecidos:

Lâminas de microscópio carregadas positivamente.  
Desert Chamber\* (Forno de secagem)  
Controles de tecido positivo e negativo  
Xileno (Pode ser substituído por substituto de xileno\*)  
Etanol ou álcool reagente  
Câmara de descamufagem\* (panela de pressão)  
Água deionizada ou destilada  
Tampão de lavagem\*  
Reagentes de pré-tratamento\*  
Digestão enzimática\*

Kit de bloqueio de biotina-avidina\* (somente kits de estreptavidina rotulados)

Bloqueio de peroxidase\* (opcional)

Bloco de proteína\* (opcional)

Anticorpo primário\*

Reagentes de controle negativo\*

Kits de detecção\*

Cromógenos\*

Reagente de azulagem\*

Meio de montagem\*

Plataforma automatizada de coloração ONCORE Pro\*

\* Produtos médicos Biocare: consulte o site da Biocare Medical localizado em <http://biocare.net> para obter informações sobre números de catálogo e pedidos. Certos reagentes listados acima são baseados na aplicação específica e no sistema de detecção usado.

## Armazenamento e Estabilidade:

Armazene em temperatura ambiente longe da luz. O produto é estável até a data de validade impressa no rótulo do frasco quando armazenado nessas condições. Não use após a data de validade. O armazenamento em qualquer condição diferente das especificadas deve ser verificado. O(s) reagente(s) do kit estão prontos para uso e não devem ser diluídos. A estabilidade do reagente diluído pelo usuário não foi estabelecida pela Biocare.

## Preparação da amostra:

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 micrótomo.<sup>1,2</sup>

Os tecidos adequadamente fixados e incorporados que expressam o alvo do antígeno especificado devem ser armazenados em local fresco. A Lei de Melhoria do Laboratório Clínico (CLIA) de 1988 exige em 42 CFR§493.1259(b) que "O laboratório deve reter as lâminas coradas pelo menos dez anos a partir da data de exame e reter os blocos de amostras pelo menos dois anos a partir da data do exame".<sup>3</sup>

## Tratamento de tecidos antes da coloração:

Realize a recuperação de epitópos induzida por calor (HIER) de acordo com o protocolo recomendado abaixo. O uso rotineiro de HIER antes da IHC demonstrou minimizar a inconsistência e padronizar a coloração.<sup>4,5</sup>

## Aviso e Precauções:

- Os reagentes do kit contêm menos de 0,05% de ProClin 300 e/ou menos de 1% de ProClin 950. Use luvas e roupas de proteção e tome precauções razoáveis ao manusear, pois ProClin é classificado como irritante e pode causar sensibilização em contato com a pele. Evite o contato com os olhos, pele e membranas mucosas.
- Manuseie materiais de origem humana ou animal como potencialmente perigosos e descarte-os com as devidas precauções. Em caso de exposição, siga as diretrizes de saúde das autoridades responsáveis onde for utilizado.<sup>6,7</sup>
- As amostras, antes e depois da fixação, e todos os materiais expostos a elas devem ser manuseados como se fossem capazes de transmitir infecção e descartados com as devidas precauções. Nunca pipete reagentes com a boca e evite o contato da pele e membranas mucosas com reagentes e amostras. Se reagentes ou amostras entrarem em contato com áreas sensíveis, lave com água em abundância.<sup>8</sup>
- A contaminação microbiana dos reagentes pode resultar no aumento da coloração inespecífica.
- Tempos de incubação ou temperaturas diferentes dos especificados podem dar resultados errôneos. O usuário deve validar qualquer alteração.
- Não use reagente após a data de validade impressa no frasco.
- Os reagentes do kit de detecção de micropolímeros são otimizados e estão prontos para uso com anticorpos Biocare e reagentes auxiliares. Consulte as

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Portuguese

**BIOCARE**  
M E D I C A L

instruções de uso do anticorpo primário e de outros reagentes auxiliares para obter os protocolos e condições de uso recomendados.


8. Siga os requisitos das autoridades locais e/ou estaduais quanto ao método de descarte.

9. O SDS está disponível mediante solicitação e está localizado em <http://biocare.net>.

10. Relate quaisquer incidentes graves relacionados a este dispositivo entrando em contato com o

Representante da Biocare e a autoridade competente aplicável do Estado Membro ou país onde o usuário está localizado.

Este ONCORE Pro Hematoxilina contém componentes classificados conforme indicado na tabela abaixo de acordo com o Regulamento (CE) nº 1272/2008

Perigo	Código	Declaração de perigo
	H315 H319	Causa irritação na pele. Causa irritação ocular grave.

## Instruções de uso:

Os reagentes ONCORE Pro Hematoxylin são otimizados para uso com anticorpos Biocare e reagentes auxiliares. Consulte as informações de anticorpo primário para uso para protocolos e condições de uso recomendados. Os tempos e temperaturas de incubação irão variar dependendo do protocolo de anticorpo específico seguido.

Ao usar um instrumento de coloração automatizado, consulte o manual do operador do instrumento específico e as instruções de uso dos parâmetros operacionais.

## Instruções de uso:

O ONCORE Pro Hematoxylin é fornecido em frascos prontos para uso no ONCORE Pro Automated Slide Stainer. Destape o frasco e coloque-o na bandeja de reagentes ONCORE Pro. O ONCORE Pro Automated Slide Stainer aplicará o reagente conforme necessário no protocolo selecionado. Consulte a folha de dados de anticorpo apropriada para o protocolo de coloração recomendado. Consulte o Manual do usuário do sistema automatizado de coloração de lâminas ONCORE Pro para obter instruções detalhadas sobre a operação do instrumento e opções adicionais de protocolo.

## Notas Técnicas:

1. Filtre o produto com um filtro de 0,4 micrón se forem observadas partículas.

2. A Biocare Medical usa apenas corantes certificados pela Biological Stain Commission. ONCORE Pro Hematoxylin é especialmente formulado para eliminar a necessidade de diferenciação da seção.

NOTA: A maior objeção à hematoxilina de Mayer, conforme usada no passado, é que as lâminas coradas geralmente desaparecem após 1 a 3 anos. Este problema pode ser eliminado, entretanto, quando as lâminas são lavadas após a hematoxilina em água corrente por no mínimo 3-4 minutos.

NOTA: Os estudos de pesquisa da Biocare mostram que o pH da torneira e a água desionizada para enxaguar as lâminas podem influenciar a coloração. O pH pode mudar de ácido para básico sazonalmente em diferentes regiões do país. Foi ainda relatado que houve mudanças na água da torneira da manhã para a tarde em alguns estados. Longos tempos de enxágue após a coloração azulada podem diferenciar a Hematoxilina. Modificamos nosso tempo de enxágue para 3-4 minutos, em vez dos 7-10 minutos anteriores.

## Controle de qualidade:

Consulte os Padrões de Qualidade do CLSI para Projeto e Implementação de Ensaio de Imuno-histoquímica; Diretriz Aprovada - Segunda edição (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA EUA ([www.clsi.org](http://www.clsi.org)). 2011\*

Controles positivos e negativos devem ser executados simultaneamente com todas as amostras de pacientes. Se for observada uma coloração inesperada que não possa ser explicada por variações nos procedimentos laboratoriais e se houver suspeita de um problema com o reagente, entre em contato com o Suporte Técnico da Biocare em 1-800-542-2002 ou através das informações de suporte técnico fornecidas em [biocare.net](http://biocare.net).

## Controle Positivo de Tecidos:

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 controles de tecido positivos indicam tecidos corretamente preparados e técnicas de coloração adequadas. Um controle de tecido externo positivo para cada conjunto de condições de teste deve ser incluído em cada execução de coloração.

Os tecidos usados para os materiais de controle positivo externo devem ser selecionados a partir de amostras de pacientes com níveis baixos bem caracterizados da atividade do alvo positivo que fornece coloração positiva fraca. O baixo nível de positividade para controles positivos externos é projetado para garantir a detecção de mudanças sutis na sensibilidade do anticorpo primário de instabilidade ou problemas com a metodologia IHC. Lâminas de controle de tecido disponíveis comercialmente ou espécimes processados de forma diferente da(s) amostra(s) do paciente validam apenas o desempenho do reagente e não verificam a preparação do tecido.

Os controles de tecido positivos conhecidos devem ser utilizados apenas para monitorar o desempenho correto dos tecidos processados e reagentes de teste, e não como um auxílio na formulação de um diagnóstico específico de amostras de pacientes. Se os controles de tecido positivos não demonstrarem coloração positiva, os resultados com as amostras de teste devem ser considerados inválidos.

## Controle de tecido negativo:

Use um controle de tecido negativo 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 seções de tecido pode ser usados pelo laboratorista como locais de controle negativo interno para verificar o desempenho do IHC especificações. Os tipos e fontes de espécimes que podem ser usados para tecido negativo os controles estão listados na seção Características de Desempenho.

Se ocorrer coloração específica (coloração falso positivo) no controle de tecido negativo, os resultados com as amostras do paciente devem 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 a coloração inespecífica e

permitem uma melhor interpretação da coloração específica no local do antígeno. Idealmente, um controle de reagente negativo contém um anticorpo produzido e preparado (ou seja, diluído na mesma concentração usando o mesmo diluente) para uso da mesma forma que o anticorpo primário, mas não apresenta reatividade específica com tecidos humanos na mesma matriz/solução que o Biocare anticorpo. O diluente sozinho pode ser usado como uma alternativa menos desejável aos controles de reagentes

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Portuguese

**BIOCARE**  
M E D I C A L

negativos descritos anteriormente. O período de incubação do controle reagente negativo deve corresponder ao do anticorpo primário.

Quando painéis de vários anticorpos são usados em seções em série, as áreas de coloração negativa de uma lâmina podem servir como um controle de fundo de ligação negativa/não específica para outros anticorpos. Para diferenciar a atividade enzimática endógena ou a ligação inespecífica de enzimas da imunoreatividade específica, tecidos adicionais do paciente podem ser corados exclusivamente com substrato-cromogênio ou complexos enzimáticos (PAP, avidina-biotina, estreptavidina) e substrato-cromogênio, respectivamente.

## Verificação do ensaio:

Antes do uso inicial de um anticorpo ou sistema de coloração em um procedimento de diagnóstico, o usuário deve verificar a especificidade do anticorpo testando-o em uma 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 do folheto do produto e as recomendações de controle de qualidade do Programa de Certificação CAP® para imuno-histoquímica e/ou a diretriz NCCLS IHC<sup>1</sup>. Esses 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 Características de desempenho são adequados para verificação do ensaio.

## **Solução de problemas:**

Siga as recomendações do protocolo específico do anticorpo de acordo com a folha de dados fornecida. Se ocorrerem resultados atípicos, entre em contato com o Suporte Técnico da Biocare em 1-800-542-2002.

## Interpretação da coloração:

Um anticorpo primário funciona em conjunto com reagentes auxiliares para produzir uma reação colorida nos locais do antígeno localizados pelo anticorpo primário. Os reagentes auxiliares do bloco de fundo auxiliam na redução da coloração de fundo não específica para facilitar a interpretação da reação de coloração específica anticorpo-antígeno. Antes da interpretação dos resultados do paciente, a coloração dos controles deve ser avaliada por um patologista qualificado. Os controles negativos são avaliados e comparados com as lâminas coradas para garantir que qualquer coloração observada não seja resultado de interações inespecíficas.

## Controle Positivo de Tecidos:

O controle de tecido positivo corado com o anticorpo indicado deve ser examinado primeiro para verificar se todos os reagentes estão funcionando adequadamente. A coloração apropriada das células-alvo (conforme indicada acima) é indicativa de reatividade positiva. Se os controles de tecido positivos não demonstrarem coloração positiva, quaisquer resultados com as amostras de teste devem ser considerados inválidos.

A cor do produto da reação pode variar dependendo dos cromógenos do substrato usados. 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.<sup>12</sup>

Quando uma contracoloração é usada, dependendo do tempo de incubação e da potência da contracoloração usada, a contracoloração resultará em uma coloração dos núcleos celulares. A contracoloração excessiva ou incompleta pode comprometer a interpretação adequada dos resultados. Consulte o(s) protocolo(s) para a contracoloração recomendada.

## Controle de tecido negativo:

O controle de tecido negativo deve ser examinado após o controle de tecido positivo para verificar a especificidade da marcação do antígeno alvo pelo anticorpo primário. A ausência de coloração específica no controle de tecido negativo confirma a falta de reatividade cruzada do anticorpo para

células/componentes celulares. Se ocorrer coloração específica (coloração falso positivo) no controle de tecido externo negativo, os resultados com a amostra do paciente devem ser considerados inválidos.

A coloração inespecífica, se presente, geralmente tem uma aparência difusa. A coloração esporádica do tecido conjuntivo também pode ser observada em seções de tecidos excessivamente fixados em formol. Use células intactas para interpretação dos resultados da coloração. Células necróticas ou degeneradas geralmente coram de forma inespecífica.

## Tecido do paciente:

Examine 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 controle de reagente negativo. Como em qualquer teste imuno-histoquímico, um resultado negativo significa que o antígeno não foi detectado, e não que o antígeno estava ausente nas células/tecidos testados. Se necessário, use um painel de anticorpos para identificar reações falso-negativas.

Consulte Resumo e explicação, limitações e características de desempenho para obter informações específicas sobre a imunoreatividade de anticorpo indicada.

## **Limitações:**

### Limitações Gerais:

1. Para *em vitro* diagnóstico (IVD) Uso
2. Este produto é apenas para uso profissional: A imuno-histoquímica é um processo de diagnóstico em várias etapas que consiste em treinamento especializado na seleção dos reagentes apropriados; seleção, fixação e processamento de tecidos; preparação da lâmina de IHC; e interpretação dos resultados da coloração.
3. Para uso apenas por prescrição médica. (Apenas Rx)
4. A coloração do tecido depende do manuseio e processamento do tecido antes da coloração. Fixação, congelamento, descongelamento, lavagem, secagem, aquecimento, corte ou contaminação inadequados com outros tecidos ou fluidos podem produzir artefatos, aprisionamento de anticorpos ou resultados falsos negativos. Os resultados inconsistentes podem dever-se a variações nos métodos de fixação e incorporação ou a irregularidades inerentes ao tecido.<sup>12</sup>
5. A contracoloração excessiva ou incompleta pode comprometer a interpretação adequada dos resultados.
6. 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 controles 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.
7. Os protocolos ideais para uma aplicação específica podem variar. Estes incluem, mas não estão limitados a fixação, método de recuperação de calor, tempos de incubação, diluição de anticorpos, espessura da seção de tecido e kit de detecção usado. Consulte as instruções de uso do anticorpo primário e de outros reagentes auxiliares para obter os protocolos e condições de uso recomendados. As recomendações e protocolos da folha de dados são baseados no uso exclusivo de produtos Biocare. Em última análise, é responsabilidade do investigador determinar as condições ideais.
8. Este produto não se destina ao uso em citometria de fluxo. As características de desempenho não foram determinadas para a citometria de fluxo.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Portuguese

**BIOCARE**  
M E D I C A L

9. Tecidos de pessoas infectadas com o vírus da hepatite B e contendo antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) podem exibir coloração inespecífica com peroxidase de rábano silvestre.<sup>14</sup>
10. 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.<sup>15</sup> Entre em contato com o suporte técnico da Biocare em 1-800-542-2002, ou através das informações de suporte técnico fornecidas em biocare.net, com reações inesperadas documentadas.
11. Soros normais/não imunes da mesma fonte animal que os anticorpos secundários usados nas etapas de bloqueio podem causar resultados falso-negativos ou falsos-positivos devido a autoanticorpos ou anticorpos naturais.
12. 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 pseudoperoxidase (eritrócitos), atividade de peroxidase endógena (citocromo C) ou biotina endógena (por exemplo, fígado, mama, cérebro, rim), dependendo do tipo de imunocoloração usada.<sup>13</sup>
13. Um resultado negativo significa que o antígeno não foi detectado, não que o antígeno estava ausente nas células ou tecidos examinados.

## Limitações específicas do produto:

Sem limitações adicionais específicas do produto.

## Características de desempenho:

A coloração foi realizada usando protocolos fornecidos nas instruções de uso específicas do anticorpo ou conforme especificado. A sensibilidade e a especificidade da coloração foram avaliadas em uma variedade de tipos de tecidos normais e neoplásicos avaliados durante o desenvolvimento de anticorpos primários.

## Reprodutibilidade:

A reprodutibilidade dos reagentes de contracoloração da Biocare é verificada por meio de uma medição de precisão intermediária na qual vários lotes de reagentes foram testados por um longo período de tempo usando vários operadores, analistas, lotes de reagentes, amostras de tecido e equipamentos. A coloração obtida para cada reagente de detecção avaliado foi consistente e realizada conforme o esperado.

## Solução de problemas:

1. Sem coloração de quaisquer lâminas – Verifique para determinar se foram utilizados tecidos de controle positivo, anticorpos e produtos de detecção apropriados. Verifique se há remoção de cera incompleta ou imprópria ou pré-tratamento.
2. Coloração fraca de todas as lâminas – Verifique para determinar se foram utilizados tecidos de controle positivo, anticorpos e produtos de detecção apropriados.
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 HRP endógena convertendo cromogênio em produto final colorido (use bloqueio de peroxidase) ou excesso de interação de proteína não específica (use uma proteína bloqueio, como soro ou solução de bloqueio à base de caseína).
4. As seções de tecido são removidas das lâminas durante a incubação – Verifique as lâminas para garantir que estejam carregadas positivamente.
5. Coloração específica muito escura – Verifique o protocolo para determinar se o título de anticorpo 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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. 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.
9. 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
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. 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.
12. 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.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Romanian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Utilizarea prevăzută:

Pentru *in vitro* utilizare pentru diagnosticare

ONCORE Pro Hematoxylin este destinat utilizării de către utilizatorii profesioniști de laborator pentru vizualizarea nucleelor celulare în secțiuni de țesut fixate cu formol, încorporate în parafină (FFPE) în proceduri manuale sau automate. Este utilizat ca contracolorant în aplicații imunohistochimice (IHC) și hibridizare in situ cromogenă (CISH). Poate fi folosit și pentru colorarea de rutină cu hematoxină și eozină. Interpretarea clinică a oricărei colorări sau absența acesteia ar trebui completată de studii morfologice și controale adecvate și ar trebui evaluată în contextul istoricului clinic al pacientului și al altor teste de diagnostic de către un patolog calificat.

## Rezumat și explicație:

ONCORE Pro Hematoxylin este pe bază de apă și este special formulat pentru contracolorarea pe ONCORE Pro Automated Stainer de la Biocare. ONCORE Pro Hematoxylin colorează nucleele în albastru deschis și oferă colorare cu contrast ridicat pentru procedurile de colorare cromogenă.

## Principiul procedurii:

Acest reactiv de contracolorare atunci când este aplicat pe secțiuni de țesut pretratate fixate cu formol, încorporate în parafină colorează nucleii celulari din secțiunile de țesut și preparatele celulare.

## Reactivi furnizați:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Aplicații cunoscute:

Imunohistochimie (țesuturi încorporate în parafină fixate în formol)

## Furnizat ca:

Soluție de hematoxină. Consultați Fișa cu date de securitate pentru detalii suplimentare.

## Reconstituire, diluare și amestecare:

ONCORE Pro Hematoxylin este optimizat pentru utilizare cu anticorpi Biocare și reactivi auxiliari și gata de utilizare cu anticorpi Biocare IHC și reactivi auxiliari. Nu este necesară reconstituire, amestecare, diluare sau titrare.

## Materiale și reactivi necesari, dar nefurnizați:

Lamele de microscop încărcate pozitiv.  
Camera desertului\* (cuptor de uscare)  
Controale tisulare pozitive și negative  
Xilen (Ar putea fi înlocuit cu înlocuitor de xilen\*)  
Etanol sau alcool reactiv  
Camera de decloaking\* (oala sub presiune)  
Apă deionizată sau distilată  
tampon de spălare\*  
Reactivi de pretratere\*  
Digestia cu enzime\*  
Kit de blocare a avidină-biotină\* (numai kituri de streptavidină etichetate)  
Bloc de peroxidază\* (Opțional)  
Bloc de proteine\* (Opțional)

Anticorp primar\*

Reactivi de control negativ\*

Truse de detectare\*

Cromogene\*

Reactiv de albastru\*

Mediu de montare\*

Platformă automată de colorare ONCORE Pro\*

\* Produse medicale Biocare: Consultați site-ul web Biocare Medical aflat la <http://biocare.net> pentru informații privind numerele de catalog și comenzile. Anumiți reactivi enumerați mai sus se bazează pe aplicații specifice și pe sistemul de detectare utilizat.

## Depozitare și stabilitate:

A se păstra la temperatura camerei ferit de lumina. 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. Reactivul (reactivii) trusei sunt gata de utilizare și nu trebuie diluați. Stabilitatea reactivului diluat de utilizator nu a fost stabilită de Biocare.

## Pregătirea probei:

Țesuturile 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.<sup>1,2</sup>

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 examinarea și păstrarea blocurilor de specimene cel puțin doi ani de la data examinării.”<sup>3</sup>

## 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.<sup>4,5</sup>

## Avertisment și precauții:

1. Reactivii trusei conțin mai puțin de 0,05% ProClin 300 și/sau mai puțin de 1% ProClin 950. Purtați mănuși și îmbrăcăminte de protecție și luați măsuri de precauție rezonabile la manipulare, deoarece ProClin este clasificat ca iritant și poate provoca sensibilizare la contactul cu pielea. Evitați contactul cu ochii, pielea și mucoasele.
2. Manipulați materialele de origine umană sau animală ca potențial periculoase biologice și eliminați astfel de materiale cu măsurile de precauție corespunzătoare. În cazul expunerii, respectați directivele de sănătate ale autorităților responsabile acolo unde este utilizat.<sup>6,7</sup>
3. 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.<sup>8</sup>
4. Contaminarea microbiană a reactivilor poate duce la o creștere a colorației nespecifice.
5. Timpii de incubare sau alte temperaturi decât cele specificate pot da rezultate eronate. Utilizatorul trebuie să valideze orice astfel de modificare.
6. Nu utilizați reactiv după data de expirare imprimată pe flacon.
7. Reactivul (reactivii) kit-ului de detectare a micropolimerului este optimizat(i) și gata de utilizare cu anticorpi Biocare și reactivi auxiliari. Consultați instrucțiunile de utilizare a anticorpului primar și a altor reactivi auxiliari pentru protocoalele și condițiile recomandate de utilizare.

 Biocare Medical

60 Berry Drive  
Pacheco, CA 94553  
USA

67/99



TP v1 (04/07/2022)

Tel: 800-799-9499 | [www.biocare.net](http://www.biocare.net) | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60  
8827 AT Arnhem  
The Netherlands

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923


Romanian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

8. Respectați cerințele autorităților locale și/sau de stat pentru metoda de eliminare.
9. FDS este disponibilă la cerere și se află la <http://biocare.net>.
10. Raportați orice incidente grave legate de acest dispozitiv contactând localul

Reprezentantul Biocare și autoritatea competentă aplicabilă a statului membru sau a țării în care se află utilizatorul.

Acest ONCORE Pro Hematoxylin conține componente clasificate așa cum este indicat în tabelul de mai jos, în conformitate cu Regulamentul (CE) Nr. 1272/2008

Pericol	Cod	Declarație de pericol
	H315 H319	Provoacă iritarea pielii. Provoacă o iritare gravă a ochilor.

## Instrucțiuni de folosire:

Reactivii ONCORE Pro Hematoxylin sunt optimizați pentru utilizarea cu anticorpi Biocare și reactivi auxiliari. Consultați informațiile despre anticorpi primari pentru utilizare pentru protocoalele recomandate și condițiile de utilizare. Timpii și temperaturile de incubare vor varia în funcție de protocolul specific de anticorpi urmat.

Când utilizați un instrument automat de colorare, consultați manualul de utilizare al instrumentului specific și instrucțiunile de utilizare pentru parametrii de funcționare.

## Instrucțiuni de folosire:

ONCORE Pro Hematoxylin este furnizat în flacoane gata de utilizare pe ONCORE Pro Automated Slide Stainer. Deschideți flaconul și puneți-l în tava de reactiv ONCORE Pro. ONCORE Pro Automated Slide Coloration va aplica reactivul după cum este necesar în protocolul selectat. Consultați fișa corespunzătoare a anticorpilor pentru protocolul de colorare recomandat. Consultați Manualul de utilizare al sistemului automat de colorare a lamelor ONCORE Pro pentru instrucțiuni detaliate despre funcționarea instrumentului și opțiunile suplimentare de protocol.

## Note tehnice:

1. Filtrați produsul cu un filtru de 0,4 microni dacă se văd particule.
  2. Biocare Medical folosește numai pete care sunt certificate de Comisia pentru pete biologice. ONCORE Pro Hematoxylin este special formulat pentru a elimina necesitatea diferențierii secțiunii.
- NOTĂ: Cea mai mare obiecție la hematoxilină Mayer, așa cum a fost folosită în trecut, a fost aceea că diapozitivele colorate se estompează adesea după 1-3 ani. Această problemă poate fi eliminată, totuși, atunci când lamelele sunt spălate după hematoxilină în apă curentă timp de minim 3-4 minute.
- NOTĂ: Studiile de cercetare Biocare arată că pH-ul apei de la robinet și apa DI pentru clătirea lamelor pot influența colorarea. pH-ul se poate schimba sezonier de la acid la bazic în diferite regiuni ale țării. S-a mai raportat că au existat modificări în apa de la robinet de dimineața până după-amiaza în unele state. Perioadele lungi de clătire după albastru pot diferenția Hematoxilină. Am modificat timpul de clătire la 3-4 minute, în loc de 7-10 minute anterioare.

## Control de calitate:

Consultați Standardele de calitate CLSI pentru proiectarea și implementarea testelor imunohistochimice; Ghid aprobat-A doua ediție (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA SUA ([www.clsi.org](http://www.clsi.org)). 2011.

Controalele pozitive și negative trebuie efectuate simultan cu toate probele pacientului. Dacă se observă o colorare neașteptată care nu poate fi explicată prin variațiile procedurilor de laborator și se suspectează o problemă cu reactivul, contactați Asistența Tehnică Biocare la 1-800-542-2002 sau prin intermediul informațiilor de asistență tehnică furnizate pe [biocare.net](http://biocare.net).

## Control pozitiv al țesuturilor:

Materialele de control pozitiv extern trebuie să fie probe proaspete fixate, procesate și încorporate cât mai curând posibil, în același mod ca probele 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 astfel încât să asigure 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 fixat, procesat și încorporat într-o manieră identică cu eșantionul(e) pacientului la fiecare cursă de 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 specificației. 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.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Romanian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

## 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

permite o mai bună interpretare a colorării specifice la locul antigenului. În mod ideal, un control reactiv negativ conține un anticorp produs și preparat (adică, diluat la aceeași concentrație folosind același diluant) pentru utilizare în același mod ca anticorpul primar, dar nu prezintă reactivitate specifică cu țesuturile umane în aceeași matrice/soluție ca Biocare. anticorp. 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/nescific 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 enzimatică (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.<sup>®</sup> pentru imunohistochimie și/sau ghidul NCCLS IHC<sup>1</sup>. 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:

Un anticorp primar lucrează în combinație cu reactivi auxiliari pentru a produce o reacție colorată la locurile antigenului localizate de anticorpul primar. Reactivii auxiliari bloc de fundal ajută la reducerea colorării de fond nespecific pentru a facilita interpretarea reacției de colorare specifică anticorp-antigen. Înainte de interpretarea rezultatelor pacientului, colorarea controalelor trebuie evaluată de un patolog calificat. Martorii negativi sunt evaluați și comparați cu lamele colorate pentru a se asigura că orice colorare observată nu este rezultatul interacțiunilor nespecifice.

## 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.<sup>12</sup>

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 nespecifică 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.

Consultați Rezumatul și Explicația, Limitările și Caracteristicile de performanță pentru informații specifice privind imunoreactivitatea indicată a anticorpilor.

## **Limitări:**

### Limitări generale:

1. Pentru *in vitro* Utilizarea diagnosticului (IVD).
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. Pentru utilizare numai pe bază de prescripție medicală. (Numai Rx)
4. 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.<sup>12</sup>
5. Contracolorarea excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea corectă a rezultatelor.
6. 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.
7. Protocoalele optime pentru o anumită aplicație pot varia. Acestea includ, dar nu se limitează la fixare, metoda de recuperare a căldurii, timpii de incubare, diluarea anticorpilor, grosimea secțiunii de țesut și trusa de detectare utilizată. Consultați instrucțiunile de utilizare a anticorpului primar și a altor reactivi auxiliari pentru protocoalele și condițiile recomandate de utilizare. Recomandările și protocoalele din fișa de date

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Romanian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

se bazează pe utilizarea exclusivă a produselor Biocare. În cele din urmă, este responsabilitatea investigatorului să determine condițiile optime.

8. Acest produs nu este destinat utilizării în citometria în flux. Caracteristicile de performanță nu au fost determinate pentru citometria în flux.
9. 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.<sup>14</sup>
10. 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.<sup>15</sup> Contactați asistența tehnică Biocare la 1-800-542-2002 sau prin intermediul informațiilor de asistență tehnică furnizate pe biocare.net, cu reacții neașteptate documentate.
11. 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.
12. 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.<sup>13</sup>
13. Un rezultat negativ înseamnă că antigenul nu a fost detectat, nu că antigenul a fost absent în celulele sau țesutul examinat.

## Limitări specifice produsului:

*Fără limitări suplimentare specifice produsului.*

## Caracteristici de performanță:

Colorarea a fost efectuată utilizând protocoalele furnizate în instrucțiunile specifice de utilizare a anticorpilor sau conform specificațiilor. Sensibilitatea și specificitatea colorării au fost evaluate într-o serie de tipuri de țesut normal și neoplazic evaluate în timpul dezvoltării anticorpilor primari.

## Reproductibilitate:

Reproductibilitatea reactivilor de contracolorare Biocare este verificată printr-o măsurare a preciziei intermediare în care au fost testate diferite loturi de reactivi pe o perioadă lungă de timp folosind diferiți operatori, analiști, loturi de reactivi, mostre de țesut și echipamente. Colorația obținută pentru fiecare reactiv de detecție evaluat a fost consecventă și a fost efectuată conform așteptărilor.

## Depanare:

1. Nicio colorare a niciunei lame – Verificați pentru a determina dacă au fost utilizate țesuturi de control pozitiv adecvate, anticorpi și produse de detecție. Verificați dacă există îndepărtarea sau pretratarea ceară incompletă sau necorespunzătoare.
2. Colorare slabă a tuturor lamelor – Verificați pentru a determina dacă au fost utilizate țesuturi de control pozitiv adecvate, anticorpi și produse de detecție.
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 cazeină).
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.

## Referințe:

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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. 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.
9. 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
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. 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.
12. 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.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. Omata M, Liew CT, Ashcavi M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Path 1980; 73:626.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Slovak

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Zamýšľané použitie:

Pre *in vitro* Diagnostické použitie

ONCORE Pro Hematoxylin je určený na použitie profesionálnymi laboratórnymi používateľmi na vizualizáciu bunkových jadier vo formalíne fixovaných, parafínových (FFPE) tkanivových rezoch v manuálnych alebo automatizovaných postupoch. Používa sa ako kontrastné farbivo v imunohistochemických (IHC) a chromogénnych *in situ* hybridizačných (CISH) aplikáciách. Môže sa použiť aj na bežné farbenie hematoxylinom a eozínom. Klinická interpretácia akéhokoľvek zafarbenia alebo jeho absencie by mala byť doplnená morfológickými štúdiami a náležitými kontrolami a mala by byť vyhodnotená v kontexte pacientovej klinickej anamnézy a iných diagnostických testov kvalifikovaným patológom.

## Zhrnutie a vysvetlenie:

ONCORE Pro Hematoxylin je na vodnej báze a je špeciálne vyvinutý na kontrastné farbenie na ONCORE Pro Automated Stainer od Biocare. ONCORE Pro Hematoxylin farbí jadrá nebesky modro a poskytuje vysoko kontrastné farbenie pre postupy chromogénneho farbenia.

## Princíp postupu:

Toto kontrastné farbivo činidlo, keď sa aplikuje na vopred upravené tkanivové rezy fixované vo formalíne a zaliate v parafíne, farbí bunkové jadrá v tkanivových rezoch a bunkových prípravkoch.

## Dodávané činidlá:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Známe aplikácie:

Imunohistochemia (tkanivá fixované v parafíne fixované vo formalíne)

## Dodávané ako:

Roztok hematoxylinu. Ďalšie podrobnosti nájdete v karte bezpečnostných údajov.

## Rekonštitúcia, riedenie a miešanie:

ONCORE Pro Hematoxylin je optimalizovaný na použitie s protilátkami Biocare a pomocnými činidlami a pripravený na použitie s protilátkami Biocare IHC a pomocnými činidlami. Nie je potrebná žiadna rekonštitúcia, miešanie, riedenie ani titrácia.

## Požadované materiály a činidlá, ktoré nie sú súčasťou dodávky:

Mikroskopické sklíčka sú kladne nabité.  
Púštna komora\* (sušička pec)  
Pozitívne a negatívne kontroly tkaniva  
Xylén (môže byť nahradený náhradou xylénu\*)  
Etanol alebo reagenčný alkohol  
Odmasťovacia komora\* (tlakový hrniec)  
Deionizovaná alebo destilovaná voda  
Premývací pufor\*  
Činidlá na predúpravu\*  
Enzymové trávenie\*  
Avidín-Biotín Blocking Kit\* (iba označené súbory streptavidínu)

Peroxidázový blok\* (voliteľné)

Proteínový blok\* (voliteľné)

Primárna protilátka\*

Negatívne kontrolné činidlá\*

Detekčné súbory\*

Chromogény\*

Blueingovo činidlo\*

Montážne médium\*

Automatizovaná farbivacia platforma ONCORE Pro\*

\* Biocare Medical Products: Informácie o katalógových číslach a objednávaní nájdete na webovej stránke Biocare Medical na adrese <http://biocare.net>. Niektoré činidlá uvedené vyššie sú založené na špecifickej aplikácii a použitom detekčnom systéme.

## Skladovanie a stabilita:

Skladujte pri izbovej teplote mimo dosahu svetla. Ak sa liek uchováva za týchto podmienok, je stabilný do dátumu expirácie vytlačeného na štítku injekčnej liekovky. Nepoužívajte po dátume expirácie. Skladovanie za akýchkoľvek iných podmienok, ako sú uvedené, musí byť overené. Činidlá súbory sú pripravené na použitie a nemali by sa riediť. Stabilita užívateľom zriadeného činidla nebola stanovená spoločnosťou Biocare.

## Príprava vzorky:

Tkanivá fixované vo formalíne sú vhodné na použitie pred zaliatím do parafínu. Kostné tkanivá by sa mali pred spracovaním tkaniva odvápnit, aby sa uľahčilo rezanie tkaniva a zabránilo sa poškodeniu čepielok mikrotómu.<sup>1,2</sup>

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.“<sup>3</sup>

## Ošetrovanie 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.<sup>4,5</sup>

## Varovanie a bezpečnostné opatrenia:

- Reagencie súpravy obsahujú menej ako 0,05 % ProClin 300 a/alebo menej ako 1 % ProClin 950. Pri manipulácii používajte rukavice a ochranný odev a vykonajte primerané opatrenia, pretože ProClin je klasifikovaný ako dráždivá látka a môže spôsobiť senzibilizáciu pri kontakte s pokožkou. Zabráňte kontaktu s očami, pokožkou a sliznicami.
- Zaochádzajte s materiálmi ľudského alebo živočíšneho pôvodu ako s potenciálne biologicky nebezpečnými a likvidujte ich s náležitými opatreniami. V prípade expozície postupujte podľa zdravotných smerníc zodpovedných orgánov, kde sa používa.<sup>6,7</sup>
- So vzorkami pred a po fixácii a so všetkými materiálmi, ktoré sú im vystavené, by sa malo zaochádzať tak, ako keby boli schopné prenášať infekciu, a mali by sa likvidovať podľa náležitých opatrení. Nikdy nepipetujte reagenty ústami a vyhýbajte sa kontaktu kože a slizníc s činidlami a vzorkami. Ak sa reagenty alebo vzorky dostanú do kontaktu s citlivými oblasťami, umyte ich veľkým množstvom vody.<sup>3</sup>
- Mikrobiálna kontaminácia činidiel môže viesť k zvýšeniu nešpecifického zafarbenia.
- Iné inkubačné časy alebo teploty, ako sú uvedené, môžu viesť k chybným výsledkom. Používateľ musí každú takúto zmenu potvrdiť.
- Nepoužívajte činidlo po dátume expirácie vytlačenom na injekčnej liekovke.
- Činidlá súbory na detekciu mikropolymérov sú optimalizované a pripravené na použitie s protilátkami Biocare a pomocnými činidlami.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Slovak

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Odporúčané protokoly a podmienky použitia nájdete v pokynoch na použitie primárnej protilátky a ďalších pomocných reagensí.


8. Dodržiavajte požiadavky miestnych a/alebo štátnych orgánov na spôsob likvidácie.

9. KBÚ je k dispozícii na požiadanie a nachádza sa na <http://biocare.net>.

10. Všetky vážne incidenty súvisiace s týmto zariadením nahláste miestnemu

Zástupca spoločnosti Biocare a príslušný orgán členského štátu alebo krajiny, v ktorej sa používateľ nachádza.

Tento ONCORE Pro Hematoxylin obsahuje zložky klasifikované ako je uvedené v tabuľke nižšie v súlade s Nariadením (ES) č. 1272/2008

Nebezpečenstvo	kód	Vyhlasenie o nebezpečnosti
	H315 H319	Spôsobuje podráždenie pokožky. Spôsobuje vážne podráždenie očí.

## Inštrukcie na používanie:

Činidlá ONCORE Pro Hematoxylin sú optimalizované na použitie s protilátkami Biocare a pomocnými činidlami. Odporúčané protokoly a podmienky použitia nájdete v informáciách o primárnych protilátkach. Inkubačné časy a teploty sa budú líšiť v závislosti od špecifického protokolu protilátky, ktorý sa použije.

Pri používaní automatického farbiaceho prístroja si preštudujte prevádzkové parametre v návode na obsluhu konkrétneho prístroja a v návode na použitie.

## Inštrukcie na používanie:

ONCORE Pro Hematoxylin sa dodáva v injekčných liekvočkách pripravených na použitie na automatickom farbení diapositívov ONCORE Pro. Odkryte ampulku a vložte ju do podnosu s činidlami ONCORE Pro. ONCORE Pro Automated Slide Stainer nanesie reagensiu podľa potreby vo vybranom protokole. Odporúčaný protokol farbenia nájdete v príslušnom údajovom liste protilátok. Podrobné pokyny na obsluhu prístroja a ďalšie možnosti protokolu nájdete v používateľskej príručke k automatickému systému farbenia sklíčok ONCORE Pro.

## Technické poznámky:

1. Ak sú viditeľné častice, produkt prefiltrujte 0,4-mikrónovým filtrom.  
2. Biocare Medical používa iba moridlá, ktoré sú certifikované komisiou Biological Stain Commission. ONCORE Pro Hematoxylin je špeciálne vyvinutý tak, aby eliminoval nutnosť diferenciacie sekcie.

POZNÁMKA: Najväčšou námietkou voči Mayerovmu hematoxylinu používanému v minulosti bolo, že zafarbené sklíčka často po 1-3 rokoch vyblednú. Tento problém je však možné odstrániť, ak sa sklíčka po hematoxyline umývajú v tečúcej vode minimálne 3-4 minúty.

POZNÁMKA: Výskumné štúdie Biocare ukazujú, že pH vody z vodovodu a deionizovanej vody na oplachovanie sklíčok môže ovplyvniť zafarbenie. pH sa môže sezónne meniť z kyslého na zásadité v rôznych regiónoch krajiny. Ďalej sa uvádza, že v niektorých štátoch došlo od rána do popoludnia k zmenám vo vode z vodovodu. Dlhé časy oplachovania po zmodraní môžu rozlíšiť hematoxylin. Čas oplachovania sme upravili na 3-4 minúty namiesto predchádzajúcich 7-10 minút.

## 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](http://www.clsi.org)). 2011

Positívne a negatívne kontroly by sa mali vykonávať súčasne so všetkými vzorkami pacienta. Ak spozorujete neočakávané zafarbenie, ktoré nemožno vysvetliť odchýlkami v laboratórnych postupoch a máte podozrenie na problém s činidlom, kontaktujte technickú podporu spoločnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002 alebo prostredníctvom informácií o technickej podpore poskytovaných na [biocare.net](http://biocare.net).

## Positívna kontrola tkaniva:

Externé pozitívne kontrolné materiály by mali byť čerstvé vzorky fixované, spracované a zaliate čo najskôr rovnakým spôsobom ako vzorka (vzorky) pacienta. Positívne kontroly tkaniva naznačujú správne pripravené tkanivá a 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 pozitivity 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:

Na overenie špecificity primárnej protilátky IHC použite negatívnu tkanivovú kontrolu fixovanú, spracovanú a zapustenú rovnakým spôsobom ako vzorka (vzorky) pacienta pri každom cykle farbenia. 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 Výkonnostné 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 reagensí:

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 vyrobenú a pripravenú (t. j. nariadenú na rovnakú koncentráciu s použitím rovnakého riedidla) na použitie rovnakým spôsobom ako primárna protilátka, ale nevykazuje žiadnu špecifickú reaktivitu s ľudskými tkanivami v rovnakej matricii/roztoku ako Biocare protilátka. 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

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Slovak

**BIOCARE**  
M E D I C A L

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<sup>®</sup> pre imunohistochémiu a/alebo usmernenie NCCLS IHC<sup>11</sup>. 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 protilátky podľa poskytnutého údajového listu. Ak sa vyskytnú atypické výsledky, kontaktujte technickú podporu spoločnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002.

## Interpretácia farbenia:

Primárna protilátka funguje v spojení s pomocnými činidlami a vytvára farebnú reakciu na miestach antigénu lokalizovaných primárnou protilátkou. Pomocné reagenty blokujúce pozadie pomáhajú redukovať nešpecifické zafarbenie pozadia, aby sa uľahčila interpretácia reakcie zafarbenia špecifického pre protilátku a antigén. Pred interpretáciou výsledkov pacienta musí zafarbenie kontrol vyhodnotiť kvalifikovaný patológ. Negatívne kontroly sa vyhodnotia a porovnajú so zafarbenými sklíčkami, aby sa zabezpečilo, že akékoľvek pozorované zafarbenie nie je výsledkom nešpecifických interakcií.

## Positívna kontrola tkaniva:

Positívna 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 letádoch substrátu. Ďalej je možné pozorovať metachromáziu vo variantoch spôsobu farbenia.<sup>12</sup>

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.

Špecifické informácie týkajúce sa indikovanej imunoreaktivity protilátok nájdete v časti Súhrn a vysvetlenie, obmedzenia a výkonnosť charakteristiky.

## Obmedzenia:

### Všeobecné obmedzenia:

1. *Pre in vitro* diagnostické (IVD) 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. Na použitie len na lekársky predpis. (Len Rx)
4. 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.<sup>12</sup>
5. Nadmerné alebo neúplné kontrastné farbenie môže ohroziť správnu interpretáciu výsledkov.
6. 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.
7. Optimálne protokoly pre konkrétnu aplikáciu sa môžu líšiť. Tieto zahŕňajú, ale nie sú obmedzené na fixáciu, metódu získania tepla, inkubačné časy, riedenie protilátky, hrúbku tkanivového rezu a použitú detekčnú súpravu. Odporúčané protokoly a podmienky použitia nájdete v pokynoch na použitie primárnej protilátky a ďalších pomocných reagentov. Odporúčania a protokoly údajových listov sú založené na výhradnom používaní produktov Biocare. V konečnom dôsledku je zodpovednosťou vyšetrovateľa určiť optimálne podmienky.
8. Tento produkt nie je určený na použitie v prietokovej cytometrii. Výkonnosť charakteristiky neboli stanovené pre prietokovú cytometriu.
9. Tkanivá od osôb infikovaných vírusom hepatitídy B a obsahujúce povrchový antigén hepatitídy B (HBsAg) môžu vykazovať nešpecifické zafarbenie chrenovou peroxidázou.<sup>14</sup>
10. Reagenty 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.<sup>15</sup> Kontaktujte technickú podporu spoločnosti Biocare na čísle 1-800-542-2002 alebo prostredníctvom informácií technickej podpory poskytnutých na biocare.net so zdokumentovanými neočakávanými reakciami.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Slovak

**BIOCARE**  
M E D I C A L

11. Normálne/neimunitné séra z rovnakého zvieracieho zdroja ako sekundárne antiséra použité v blokovacích krokoch môžu spôsobiť falošne negatívne alebo falošne pozitívne výsledky v dôsledku autoprotílátok alebo prirodzených protílátok.
12. Falošne pozitívne výsledky môžu byť pozorované v dôsledku neimunologickej väzby proteínov alebo produktov reakcie substrátu. Môžu byť spôsobené aj pseudoperoxidázovou aktivitou (erytrocyty), endogénnou peroxidázovou aktivitou (cytochróm C) alebo endogénnym biotínom (napr. pečeň, prsia, mozog, obličky) v závislosti od typu použitého imunofarbiva.<sup>13</sup>
13. Negatívny výsledok znamená, že antigén nebol detegovaný, nie že antigén chýbal v skúmaných bunkách alebo tkanive.

## Špecifické obmedzenia produktu:

Žiadne ďalšie špecifické obmedzenia produktu.

## Výkonnostné charakteristiky:

Farbenie sa uskutočňovalo s použitím protokolov poskytnutých v návode na použitie špecifických pre protílátku alebo podľa špecifikácie. Citlivosť a špecifita farbenia sa hodnotila v celom rozsahu normálnych a neoplastických typov tkanív hodnotených počas vývoja primárnych protílátok.

## Reprodukovateľnosť:

Reprodukovateľnosť činidiel Biocare na kontrastné farbenie sa overuje meraním strednej presnosti, pri ktorom boli rôzne šarže činidiel testované počas dlhšieho časového obdobia pomocou rôznych operátorov, analytikov, šarží činidiel, vzoriek tkanív a zariadení. Farbenie získané pre každé hodnotené detekčné činidlo bolo konzistentné a uskutočnilo sa podľa očakávania.

## Riešenie problémov:

1. Žiadne zafarbenie na sklíčkach – Skontrolujte, či sa použilo vhodné tkanivo pozitívnej kontroly, protílátka a detekčné produkty. Skontrolujte neúplné alebo nesprávne odstránenie vosku alebo predbežnú úpravu.
2. Slabé zafarbenie všetkých sklíčok – Skontrolujte, či sa použilo vhodné tkanivo pozitívnej kontroly, protílátka 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 nešpecifická 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 protílátok, 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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. 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.
9. 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
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. 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.
12. 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.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Slovenian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Predvidena uporaba:

Za *in vitro* Diagnostična uporaba

ONCORE Pro Hematoxylin je namenjen uporabi s strani laboratorijskih profesionalnih uporabnikov za vizualizacijo celičnih jeder v s formalinom fiksiranih, v parafin vgrajenih (FFPE) tkivnih odsekih v ročnih ali avtomatiziranih postopkih. Uporablja se kot kontrastno barvilo pri aplikacijah imunohistokemijske (IHC) in kromogene in situ hibridizacije (CISH). Lahko se uporablja tudi za rutinsko barvanje s hematoksilinom in eozinom. Klinično interpretacijo kakršnega koli obarvanja ali njegove odsotnosti je treba dopolniti z morfološkimi študijami in ustreznimi kontrolami ter jo mora oceniti usposobljen patolog v kontekstu bolnikove klinične anamneze in drugih diagnostičnih testov..

## Povzetek in razlaga:

ONCORE Pro Hematoxylin je na vodni osnovi in je posebej oblikovan za kontrastno barvanje na Biocare ONCORE Pro Automated Stainer. ONCORE Pro Hematoxylin obarva jedra nebesno modro in zagotavlja obarvanje z visokim kontrastom za postopke kromogenega obarvanja.

## Načelo postopka:

Ta reagent za nasprotno barvanje, ko ga nanesemo na predhodno obdelane s formalinom fiksirane in v parafin vdlane odseke tkiva, obarva celična jedra v odsekih tkiva in celičnih pripravkih.

## Priloženi reagenti:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Znane aplikacije:

Imunohistokemija (tkiva, fiksirana s formalinom in parafinom)

## Dobavljeno kot:

Raztopina hematoksilina. Za dodatne podrobnosti glejte varnostni list.

## Rekonstitucija, redčenje in mešanje:

ONCORE Pro Hematoxylin je optimiziran za uporabo s protitelesi in pomožnimi reagenti Biocare ter pripravljen za uporabo s protitelesi in pomožnimi reagenti Biocare IHC. Rekonstitucija, mešanje, redčenje ali titracija niso potrebni.

## Potrebni materiali in reagenti, ki niso priloženi:

Mikroskopska stekelca pozitivno nabita.  
Puščavska komora\* (sušilna peč)  
Pozitivne in negativne kontrole tkiva  
Ksilen (lahko se nadomesti z nadomestkom za ksilen\*)  
Etanol ali reagentni alkohol  
Komora za razkrivanje\* (lonc na pritisk)  
Deionizirana ali destilirana voda  
Pralni pufer\*  
Reagenti za predobdelavo\*  
Encimska prebava\*  
Komplet za blokiranje avidin-biotina\* (samo kompleti z označenim streptavidinom)

Blok peroksidaze\* (izbirno)  
Beljakovinski blok\* (izbirno)  
Primarno protitelo\*  
Reagenti negativne kontrole\*  
Kompleti za odkrivanje\*  
Kromogeni\*  
Reagent za pomodrelo\*  
Montažni medij\*  
Avtomatizirana platforma za barvanje ONCORE Pro\*  
\* Biocare Medical Products: Za informacije o kataloških številkah in naročanju obiščite spletno mesto Biocare Medical na naslovu <http://biocare.net>. Nekateri zgoraj navedeni reagenti temeljijo na specifični uporabi in uporabljenem sistemu odkrivanja.

## Shranjevanje in stabilnost:

Hraniti pri sobni temperaturi stran od svetlobe. Pri shranjevanju pod temi pogoji je izdelek stabilen do datuma izteka roka uporabnosti, ki je natisnjen na nalepki vial. Ne uporabljajte po preteku roka uporabnosti. Preveriti je treba shranjevanje pod kakršnimi koli pogoji, razen navedenih. Reagenti kompleta so pripravljene za uporabo in jih ne smete redčiti. Biocare ni ugotovil stabilnosti uporabniško razredčenega reagenta.

## Priprava vzorca:

Robčki, fiksirani v formalinu, so primerni za uporabo pred vgradnjo v parafin. Kostna tkiva je treba pred obdelavo tkiva dekalificirati, da olajšamo rezanje tkiva in preprečimo poškodbe rezil mikrotoma.<sup>1,2</sup>

Pravilno fiksirana in vdela 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.<sup>3</sup>

## 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.<sup>4,5</sup>

## Opozorilo in previdnostni ukrepi:

1. Komplet reagentov vsebuje manj kot 0,05 % ProClin 300 in/ali manj kot 1 % ProClin 950. Nosite rokavice in zaščitno obleko ter pri rokovanju upoštevajte razumne previdnostne ukrepe, saj je ProClin razvrščen kot dražilno sredstvo in lahko povzroči preobčutljivost kože. Izogibajte se stiku z očmi, kožo in sluznicami.
2. S snovmi človeškega ali živalskega izvora ravnajte kot s potencialno biološko nevarnimi snovmi in jih odstranite z ustreznimi varnostnimi ukrepi. V primeru izpostavljenosti upoštevajte zdravstvene smernice pristojnih organov, kjer jih uporabljate.<sup>6,7</sup>
3. 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.<sup>8</sup>
4. Mikrobna kontaminacija reagentov lahko povzroči povečanje nespecifičnega obarvanja.
5. Časi inkubacije ali temperature, ki niso navedene, lahko dajo napačne rezultate. Uporabnik mora vsako takšno spremembo potrditi.
6. Reagenta ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti, ki je natisnjen na viali.
7. Reagenti kompleta za odkrivanje mikropolimerov so optimizirani in pripravljene za uporabo s protitelesi Biocare in pomožnimi reagenti. Za priporočene protokole in pogoje uporabe glejte navodila za uporabo primarnega protitelesa in drugega pomožnega reagenta.

 Biocare Medical

60 Berry Drive  
Pacheco, CA 94553  
USA

75/99



TP v1 (04/07/2022)

Tel: 800-799-9499 | [www.biocare.net](http://www.biocare.net) | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60  
6827 AT Arnhem  
The Netherlands

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Slovenian

**BIOCARE**  
M E D I C A L


8. Upoštevajte zahteve lokalnih in/ali državnih oblasti glede načina odstranjevanja.

9. Varnostni list je na voljo na zahtevo in se nahaja na <http://biocare.net>.

10. Prijavite vse resne incidente, povezane s to napravo, tako da kontaktirate lokalno

Predstavniki Biocare in ustrežni pristojni organ države članice ali države, kjer se uporabnik nahaja.

Ta ONCORE Pro Hematoxylin vsebuje komponente, razvrščene kot je navedeno v spodnji tabeli v skladu z Uredbo (ES) št. 1272/2008

Nevarnost	Koda	Izjava o nevarnosti
	H315 H319	Povzroča draženje kože. Povzroča hudo draženje oči.

## Navodila za uporabo:

Reagenti ONCORE Pro Hematoxylin so optimizirani za uporabo s protitelesi Biocare in pomožnimi reagenti. Za priporočene protokole in pogoje uporabe glejte informacije o primarnih protitelesih za uporabo. Časi in temperature inkubacije se bodo razlikovali glede na določen protokol protiteles, ki se uporablja.

Pri uporabi avtomatiziranega instrumenta za obarvanje si o operativnih parametrih oglejte priročnik za uporabo posebnega instrumenta in navodila za uporabo.

## Navodila za uporabo:

ONCORE Pro Hematoxylin je na voljo v vialah, ki so pripravljene za uporabo na ONCORE Pro Automated Slide Stainer. Odprite vialo in jo postavite v pladenj za reagente ONCORE Pro. ONCORE Pro Automated Slide Stainer bo nanesele reagent, kot je zahtevano v izbranem protokolu. Za priporočeni protokol obarvanja glejte ustrežni list s podatki o protitelesih. Za podrobna navodila o delovanju instrumenta in dodatnih možnostih protokola glejte uporabniški priročnik za avtomatiziran sistem za barvanje stekelc ONCORE Pro.

## Tehnične opombe:

1. Če opazite delce, izdelek filtrirajte z 0,4-mikronskim filtrom.  
2. Biocare Medical uporablja le barve, ki jih je potrdila Komisija za biološke barve. ONCORE Pro Hematoxylin je posebej oblikovan za odpravo potrebe po diferenciaciji odseka.

OPOMBA: Največji ugovor proti Mayerjevemu hematoksilinu, kot se je uporabljal v preteklosti, je bil, da obarvana preparata pogosto zbledijo po 1-3 letih. To težavo pa je mogoče odpraviti, če stekelca po hematoksilinu speremo v tekoči vodi najmanj 3-4 minute.

OPOMBA: Raziskovalne študije podjetja Biocare kažejo, da pH vode iz pipe in DI vode za izpiranje objektnih stekelc lahko vpliva na obarvanje, pH se lahko spremeni od kislega do bazičnega sezonsko v različnih regijah države. Nadalje so poročali, da je v nekaterih državah prišlo do sprememb v vodi iz pipe od jutra do popoldneva. Dolgi časi izpiranja po pomodrenju lahko razlikujejo Hematoksilin. Čas izpiranja smo spremenili na 3-4 minute, namesto prejšnjih 7-10 minut.

## 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](http://www.clsi.org)). 2011<sup>o</sup>

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 sumite na težavo z reagentom, se obrnite na tehnično podporo Biocare na 1-800-542-2002 ali prek informacij o tehnični podpori na [biocare.net](http://biocare.net).

## Pozitivna kontrola tkiva:

Materiali za zunanjo pozitivno kontrolo morajo biti sveži vzorci, fiksirani, obdelani in vdeleni čim prej na enak način kot vzorci bolnikov. Pozitivne kontrole tkiva kažejo na pravilno pripravljena tkiva in pravilne tehnike 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 proizvedeno in pripravljeno protitelo (tj. razredčeno na enako koncentracijo z istim razredčilom) za uporabo na enak način kot primarno protitelo, vendar ne kaže specifične reaktivnosti s človeškimi tkivi v istem matriksu/raztopini kot Biocare protitelesa. 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.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

76/99



TP v1 (04/07/2022)

Tel: 800-799-9499 | [www.biocare.net](http://www.biocare.net) | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Slovenian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

## 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<sup>®</sup> za imunohistokemijo in/ali smernico NCCLS IHC<sup>1</sup>. Te postopke nadzora kakovosti je treba ponoviti za vsako novo serijo protiteles ali vsakič, ko pride do spremembe parametrov testa. Tkiva, navedena v razdelku z značilnostmi delovanja, so primerna za preverjanje testa.

## 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:

Primarno protitelo deluje v povezavi s pomožnimi reagenti, da povzroči barvno reakcijo na mestih antigena, ki jih lokalizira primarno protitelo. Pomožni reagenti za blokiranje ozadja pomagajo zmanjšati nespecifično obarvanje ozadja, da olajšajo interpretacijo reakcije obarvanja, specifične za protitelo-antigen. Pred interpretacijo bolnikovih rezultatov mora obarvanje kontrol oceniti usposobljen patolog. Negativne kontrole se ovrednotijo in primerjajo z formalinimi preparati, da se zagotovi, da morebitno opaženo obarvanje ni posledica nespecifičnih interakcij.

## 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.<sup>12</sup>

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 zadnji. 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.

Glejte povzetek in razlago, omejitve in značilnosti delovanja za posebne informacije glede indicirane imunoreaktivnosti protiteles.

## Omejitve:

### Splošne omejitve:

1. *Zain vitro* diagnostična (IVD) 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. Samo za uporabo po zdravniškem receptu. (Samo Rx)
4. 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 povzročijo artefakte, ujetost protiteles ali lažno negativne rezultate. Neskladni rezultati so lahko posledica razlik v metodah fiksacije in vdelave ali inherentnih nepravilnosti v tkivu.<sup>12</sup>
5. Prekomerno ali nepopolno kontrastno barvanje lahko ogrozi pravilno interpretacijo rezultatov.
6. Klinično interpretacijo kakršnega koli pozitivnega ali negativnega obarvanja je treba ovrednotiti v okviru klinične slike, morfolojije 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.
7. Optimalni protokoli za določeno aplikacijo se lahko razlikujejo. Ti vključujejo, vendar niso omejeni na fiksacijo, metodo odvzema toplote, čas inkubacije, razredčitvev protiteles, debelino odseka tkiva in uporabljen komplet za odkrivanje. Za priporočene protokole in pogoje uporabe glejte navodila za uporabo primarnega protitelesa in drugega pomožnega reagenta. Priporočila in protokoli podatkovnega lista temeljijo na izključni uporabi izdelkov Biocare. Navsezadnje je odgovornost raziskovalca, da določi optimalne pogoje.
8. Ta izdelek ni namenjen uporabi v pretočni citometriji. Značilnosti delovanja za pretočno citometrijo niso bile določene.
9. Tkiva oseb, okuženih z virusom hepatitisa B in vsebujejo površinski antigen hepatitisa B (HBsAg), so lahko nespecifično obarvana s hrenovo peroksidazo.<sup>14</sup>
10. 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.<sup>15</sup> 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.
11. 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.
12. Lažno pozitivne rezultate lahko opazimo zaradi neimunološke vezave beljakovin ali reakcijskih produktov substrata. Lahko jih povzročijo tudi aktivnost psevdno peroksidaze (eritrociti), aktivnost endogene peroksidaze (citokrom C) ali endogeni biotin (npr. jetra, dojke, možgani, ledvice), odvisno od vrste uporabljenega imunskega barvanja.<sup>13</sup>
13. Negativen rezultat pomeni, da antigen ni bil odkrit, ne pa, da antigena ni bilo v pregledanih celicah ali tkivu.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Slovenian

**BIOCARE**  
M E D I C A L

## Posebne omejitve izdelka:

*Ni dodatnih posebnih omejitev za izdelek.*

## **Značilnosti delovanja:**

Barvanje je bilo izvedeno z uporabo protokolov, navedenih v navodilih za uporabo za protitelesa ali kot je določeno. Občutljivost in specifičnost obarvanja sta bili ovrednoteni za vrsto normalnih in neoplastičnih vrst tkiv, ocenjenih med razvojem primarnih protiteles.

## Ponovljivost:

Ponovljivost Biocarejevih reagentov za protibarvanje je preverjena z meritvijo vmesne natančnosti, pri kateri so bile različne serije reagentov testirane v daljšem časovnem obdobju z uporabo različnih operaterjev, analitikov, serij reagentov, vzorcev tkiv in opreme. Dobljeno barvanje za vsak ovrednoten detekcijski reagent je bilo dosledno in izvedeno po pričakovanjih.

## **Odpravljanje težav:**

1. Nobeno stekelcec ni obarvan – preverite, da ugotovite, ali so bila uporabljena ustrezna pozitivna kontrola, tkivo, protitelesa in izdelki za odkrivanje. Preverite nepopolno ali nepravilno odstranjevanje ali predobdelavo voska.
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 naelektrena.
5. Specifično barvanje je pretemno – Preverite protokol, da ugotovite, ali je bil na objektu 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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. 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.
9. 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
10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. Http://www.cap.org (800) 323-4040.
11. 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.

12. 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.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Spanish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Uso previsto:

Para *in vitro* uso de diagnóstico

ONCORE Pro Hematoxylin está diseñado para que lo utilicen usuarios profesionales de laboratorio para la visualización de núcleos celulares en secciones de tejido fijadas con formalina e incluidas en parafina (FFPE) en procedimientos manuales o automatizados. Se utiliza como contratinción en aplicaciones inmunohistoquímicas (IHC) y de hibridación *in situ* cromogénica (CISH). También se puede utilizar para la tinción rutinaria de hematoxilina y eosina. La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos y controles adecuados y debe ser evaluada dentro del contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas por un patólogo calificado.

## Resumen y explicación:

ONCORE Pro Hematoxylin es a base de agua y está especialmente formulado para contratinción en ONCORE Pro Automated Stainer de Biocare. ONCORE Pro Hematoxylin tiñe los núcleos de color azul cielo y proporciona una tinción de alto contraste para procedimientos de tinción cromogénica.

## Principio de Procedimiento:

Este reactivo de contratinción, cuando se aplica a secciones de tejido embebidas en parafina y fijadas con formalina, tiñe los núcleos celulares en secciones de tejido y preparaciones celulares.

## Reactivos proporcionados:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Aplicaciones conocidas:

Inmunohistoquímica (tejidos fijados en formalina e incluidos en parafina)

## Suministrado como:

Solución de hematoxilina. Consulte la Hoja de datos de seguridad para obtener detalles adicionales.

## Reconstitución, Dilución y Mezcla:

ONCORE Pro Hematoxylin está optimizado para su uso con anticuerpos y reactivos auxiliares de Biocare y listo para usar con anticuerpos IHC y reactivos auxiliares de Biocare. No se requiere reconstitución, mezcla, dilución o titulación.

## Materiales y reactivos necesarios pero no proporcionados:

Portaobjetos de microscopio cargados positivamente.  
Cámara del desierto\* (horno de secado)  
Controles de tejidos positivos y negativos  
Xileno (se puede sustituir con sustituto de xileno\*)  
Etanol o alcohol reactivo  
Cámara de decapado\* (Olla a presión)  
Agua desionizada o destilada  
Tampón de lavado\*  
Reactivos de pretratamiento\*  
Digestión enzimática\*

Kit de bloqueo de avidina-biotina\* (solo kits de estreptavidina etiquetados)  
Bloque de peroxidasa\* (Opcional)  
Bloque proteico\* (Opcional)  
Anticuerpo primario\*  
Reactivos de control negativo\*  
Equipos de detección\*  
Cromógenos\*  
Reactivo de azulado\*  
Medio de montaje\*  
Plataforma de tinción automatizada ONCORE Pro\*

\* Productos médicos de Biocare: Consulte el sitio web de Biocare Medical ubicado en <http://biocare.net> para obtener información sobre los números de catálogo y los pedidos. Ciertos reactivos enumerados anteriormente se basan en la aplicación específica y el sistema de detección utilizado.

## Almacenamiento y Estabilidad:

Conservar a temperatura ambiente protegido de la luz. El producto es estable hasta la fecha de caducidad 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 bajo cualquier condición distinta a las especificadas. Los reactivos del kit están listos para usar y no deben diluirse. Biocare no ha establecido la estabilidad del reactivo diluido por el usuario.

## Preparación de espécimen:

Los 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 en las hojas del micrótopo.<sup>1,2</sup>

Los tejidos debidamente fijados e incluidos que expresen el antígeno diana especificado deben almacenarse en un lugar fresco. La Ley de Mejoramiento de Laboratorios Clínicos (CLIA) de 1988 requiere en 42 CFR§493.1259(b) que "El laboratorio debe conservar los portaobjetos teñidos durante al menos diez años a partir de la fecha de examen y conservar los bloques de muestras al menos dos años a partir de la fecha del examen".<sup>3</sup>

## 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 IHQ minimiza la inconsistencia y estandariza la tinción.<sup>4,5</sup>

## Advertencias y precauciones:

- Los reactivos del kit contienen menos del 0,05 % de ProClin 300 y/o menos del 1 % de ProClin 950. Use guantes y ropa protectora y tome precauciones razonables cuando lo manipule, ya que ProClin está clasificado como irritante y puede causar sensibilización por contacto con la piel. Evite el contacto con los ojos, la piel y las membranas mucosas.
- Manipule materiales de origen humano o animal como potencialmente biopeligrosos y deséchelos con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, siga las directivas sanitarias de las autoridades responsables donde se utilice.<sup>6,7</sup>
- Las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a ellas deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infecciones y eliminarse con las precauciones adecuadas. Nunca pipete los reactivos con la boca y evite el contacto de la piel y las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con áreas sensibles, lávelas con abundante agua.<sup>8</sup>
- La contaminación microbiana de los reactivos puede provocar un aumento de la tinción inespecífica.
- Los tiempos o temperaturas de incubación distintos a los especificados pueden dar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier cambio de este tipo.
- No utilice el reactivo después de la fecha de caducidad impresa en el vial.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Spanish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

7. Los reactivos del kit de detección de micropolímeros están optimizados y listos para usar con los anticuerpos y reactivos auxiliares de Biocare. Consulte las instrucciones de uso del anticuerpo primario y otros reactivos auxiliares para conocer los protocolos y las condiciones de uso recomendados.


8. Siga los requisitos de las autoridades locales y/o estatales para el método de eliminación.

9. La SDS está disponible a pedido y se encuentra en <http://biocare.net>.

10. Informe cualquier incidente grave relacionado con este dispositivo poniéndose en contacto con el local

Representante de Biocare y la autoridad competente aplicable del Estado miembro o país donde se encuentra el usuario.

Este ONCORE Pro Hematoxilina contiene componentes clasificados como se indica en la siguiente tabla de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008

Peligro	Código	Indicación de peligro
	H315 H319	Causa irritación de la piel. Provoca irritación ocular grave.

## Instrucciones de uso:

Los reactivos ONCORE Pro Hematoxylin están optimizados para su uso con anticuerpos Biocare y reactivos auxiliares. Consulte la información de uso de anticuerpos primarios para conocer los protocolos y las condiciones de uso recomendados. Los tiempos y las temperaturas de incubación variarán según el protocolo de anticuerpos específico que se siga.

Cuando utilice un instrumento de tinción automatizado, consulte el manual del operador del instrumento específico y las instrucciones de uso para conocer los parámetros de funcionamiento.

## Instrucciones de uso:

ONCORE Pro Hematoxylin se proporciona en viales listos para usar en el ONCORE Pro Automated Slide Stainer. Destape el vial y colóquelo en la bandeja de reactivos de ONCORE Pro. El sistema automático de tinción de portaobjetos ONCORE Pro aplicará el reactivo según se requiera en el protocolo seleccionado. Consulte la hoja de datos de anticuerpos adecuada para conocer el protocolo de tinción recomendado. Consulte el Manual del usuario del sistema de tinción de portaobjetos automatizado ONCORE Pro para obtener instrucciones detalladas sobre el funcionamiento del instrumento y las opciones de protocolo adicionales.

## Notas técnicas:

1. Filtre el producto con un filtro de 0,4 micras si se observan partículas.  
2. Biocare Medical utiliza únicamente tinciones certificadas por la Comisión de tinciones biológicas. ONCORE Pro Hematoxylin está especialmente formulado para eliminar la necesidad de diferenciación de la sección.

NOTA: La mayor objeción a la hematoxilina de Mayer, tal como se usaba en el pasado, ha sido que los portaobjetos teñidos a menudo se desvanecen después de 1 a 3 años. Sin embargo, este problema se puede eliminar cuando los portaobjetos se lavan después de la hematoxilina en agua corriente durante un mínimo de 3-4 minutos.

NOTA: Los estudios de investigación de Biocare muestran que el pH del agua del grifo y desionizada para enjuagar los portaobjetos puede influir en la tinción. El pH puede cambiar de ácido a básico estacionalmente en diferentes regiones del país. Se ha informado además que ha habido cambios en el agua del grifo de la mañana a la tarde en algunos estados. Los largos tiempos de enjuague después del azulado pueden diferenciar la hematoxilina. Hemos

modificado nuestro tiempo de enjuague a 3-4 minutos, en lugar de los 7-10 minutos anteriores.

## Control de calidad:

Consulte los Estándares de calidad CLSI para el diseño y la implementación de ensayos de inmunohistoquímica; Guía aprobada, segunda edición (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA EE. UU. (www.clsi.org). 2011\*

Los controles positivos y negativos deben ejecutarse 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 que hay un problema con el reactivo, 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](http://biocare.net).

## Control de tejido positivo:

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 preparados correctamente y técnicas de tinción adecuadas. Se debe incluir un control de tejido externo positivo para cada conjunto de condiciones de prueba en cada ciclo de tinción.

Los tejidos utilizados para los materiales de control positivo externo deben seleccionarse de muestras de pacientes con niveles bajos bien caracterizados de la actividad diana positiva que da una tinción positiva débil. El bajo nivel de positividad de los controles positivos externos está diseñado para garantizar la detección de cambios sutiles en la sensibilidad del anticuerpo primario por inestabilidad o problemas con la metodología IHC. Los portaobjetos de control de tejidos disponibles en el mercado o las muestras procesadas de forma diferente a las muestras del paciente solo validan el rendimiento del reactivo y no verifican la preparación del tejido.

Los controles de tejido positivos conocidos solo deben utilizarse para controlar el rendimiento correcto de los tejidos procesados y los reactivos de prueba, en lugar de ayudar a formular un diagnóstico específico de muestras de pacientes. Si los controles de tejido positivos no demuestran una tinción positiva, los resultados con las muestras de prueba deben considerarse inválidos.

## Control de tejido negativo:

Utilice un control de tejido negativo fijado, procesado e incluido de manera idéntica a la(s) muestra(s) del paciente con cada ciclo de tinción para verificar la especificidad del anticuerpo primario IHC para demostración del antígeno diana y para proporcionar una indicación de la tinción de fondo específica (tinción falso positivo). Además, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de las secciones de tejido puede ser utilizados por el laboratorista como sitios de control negativo interno para verificar el rendimiento de la IHC especificaciones. Los tipos y fuentes de especímenes que se pueden usar para tejido negativo los controles se enumeran en la sección Características de rendimiento.

Si se produce una tinción específica (tinción de falso positivo) en el control de tejido negativo, los resultados con las muestras de pacientes deben considerarse no válidos.

## Control de reactivos negativos no específicos:

Utilice un control de reactivo negativo inespecífico en lugar del anticuerpo primario con una sección de cada muestra de paciente para evaluar la tinción inespecífica y

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Spanish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

permitir una mejor interpretación de la tinción específica en el sitio del antígeno. Idealmente, un control de reactivo negativo contiene un anticuerpo producido y preparado (es decir, diluido a la misma concentración usando el mismo diluyente) para usar de la misma manera que el anticuerpo primario pero no muestra una reactividad específica con tejidos humanos en la misma matriz/solución que Biocare. anticuerpo. El diluyente solo se puede usar como una alternativa menos deseable a los controles de 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 de tinción negativa 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 analizando en una serie de tejidos internos con características inmunohistoquímicas 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,<sup>10</sup> para inmunohistoquímica y/o la guía NCCLS IHC<sup>11</sup>. 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 de acuerdo con la hoja de datos provista. Si se producen resultados atípicos, comuníquese con el soporte técnico de Biocare al 1-800-542-2002.

## Interpretación de la tinción:

Un anticuerpo primario trabaja junto con reactivos auxiliares para producir una reacción coloreada en los sitios del antígeno localizados por el anticuerpo primario. Los reactivos auxiliares del bloque de fondo ayudan a reducir la tinción de fondo no específica para facilitar la interpretación de la reacción de tinción específica de anticuerpo-antígeno. Antes de la interpretación de los resultados de los pacientes, un patólogo calificado debe evaluar la tinción de los controles. Los controles negativos se evalúan y comparan con portaobjetos teñidos para garantizar que cualquier tinción observada no sea el resultado de interacciones no específicas.

## Control de tejido positivo:

El control de tejido positivo teñido con el anticuerpo indicado debe examinarse primero para asegurarse de que todos los reactivos funcionan correctamente. La tinción adecuada de las células diana (como se indicó anteriormente) es indicativa de una reactividad positiva. Si los controles de tejido positivos no demuestran una tinción positiva, cualquier resultado con las muestras de prueba debe considerarse inválido.

El color del producto de reacción puede variar dependiendo de los sustratos cromógenos 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.<sup>12</sup>

Cuando se usa una contratinción, según 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 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 marcado del antígeno diana por el 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 positiva falsa) en el control de tejido externo negativo, los resultados con la muestra del paciente deben considerarse no válidos.

La tinción inespecífica, si está presente, suele tener un aspecto difuso. También se puede observar una tinción esporádica del tejido conectivo en secciones de tejidos excesivamente fijados en formalina. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. Las células necróticas o degeneradas a menudo se tiñen de manera inespecífica.

## Tejido del paciente:

Examinar muestras de pacientes teñidas con el anticuerpo indicado último. La intensidad de tinción positiva debe evaluarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Al igual que con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se detectó el antígeno, no que el antígeno estuviera ausente en las células/tejidos analizados. Si es necesario, utilice un panel de anticuerpos para identificar reacciones negativas falsas.

Consulte Resumen y explicación, limitaciones y características de rendimiento para obtener información específica sobre la inmunorreactividad del anticuerpo indicado.

## **Limitaciones:**

### Limitaciones generales:

1. Para *in vitro* diagnóstico (IVD) Uso
2. Este producto es solo para uso profesional: La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico de varios pasos que consiste en capacitación especializada en la selección de los reactivos apropiados; selección, fijación y procesamiento de tejidos; preparación del portaobjetos IHC; e interpretación de los resultados de la tinción.
3. Para uso exclusivo con prescripción médica. (Solo receta)
4. La tinción del tejido depende de la manipulación y el 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.<sup>12</sup>
5. Una contratinción excesiva o incompleta puede comprometer la interpretación adecuada de los resultados.
6. 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 anticuerpos, reactivos y métodos de IHC interpretar todos los pasos utilizados para preparar e interpretar la preparación final de IHC.
7. Los protocolos óptimos para una aplicación específica pueden variar. Estos incluyen, entre otros, la fijación, el método de recuperación de calor, los tiempos de incubación, la dilución de anticuerpos, el grosor de la sección de tejido y el kit de detección utilizado. Consulte las

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Spanish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

instrucciones de uso del anticuerpo primario y otros reactivos auxiliares para conocer los protocolos y las condiciones de uso recomendados. 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.

- Este producto no está diseñado para su uso en citometría de flujo. No se han determinado las características de rendimiento para la citometría de flujo.
- 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 mostrar una tinción inespecífica con peroxidasa de rábano picante.<sup>14</sup>
- Los reactivos pueden mostrar reacciones inesperadas en tejidos no probados previamente. La posibilidad de reacciones inesperadas, incluso en grupos de tejidos analizados, no puede eliminarse por completo debido a la variabilidad biológica de la expresión de antígenos en neoplasmas u otros tejidos patológicos.<sup>15</sup> Comuníquese con el soporte técnico de Biocare al 1-800-542-2002, oa través de la información de soporte técnico proporcionada en biocare.net, con reacciones inesperadas documentadas.
- Los sueros normales/no inmunes de la misma fuente animal que los antisueros secundarios utilizados en los pasos de bloqueo pueden generar resultados falsos negativos o falsos positivos debido a autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
- Es posible que se observen resultados falsos positivos debido a la unión no inmunológica de proteínas o productos de reacción del sustrato. También pueden ser causados por actividad de pseudoperoxidasa (eritrocitos), actividad de peroxidasa endógena (citocromo C) o biotina endógena (p. ej., hígado, mama, cerebro, riñón) según el tipo de inmunotinción utilizada.<sup>13</sup>
- Un resultado negativo significa que no se detectó el antígeno, no que el antígeno estaba ausente en las células o tejidos examinados.

## Limitaciones específicas del producto:

*Sin limitaciones adicionales específicas del producto.*

## Características de presentación:

La tinción se realizó utilizando los protocolos proporcionados en las instrucciones de uso específicas del anticuerpo o como se especifica. La sensibilidad y la especificidad de la tinción se evaluaron en una variedad de tipos de tejidos normales y neoplásicos evaluados durante el desarrollo de anticuerpos primarios.

## Reproducibilidad:

La reproducibilidad de los reactivos de contratinción de Biocare se verifica a través de una medición de precisión intermedia en la que se probaron varios lotes de reactivos durante un período prolongado utilizando varios operadores, analistas, lotes de reactivos, muestras de tejido y equipos. La tinción obtenida para cada reactivo de detección evaluado fue consistente y se realizó como se esperaba.

## Solución de problemas:

- Ningún portaobjetos se tiñe: verifique que se hayan utilizado tejidos de control positivo, anticuerpos y productos de detección apropiados. Verifique que no haya remoción de cera o pretratamiento incompletos o inadecuados.
- Tinción débil de todos los portaobjetos: verifique que se hayan utilizado los productos de detección, anticuerpos y tejido de control positivo apropiados.
- Fondo excesivo de todos los portaobjetos: puede haber niveles altos de biotina endógena (si se utilizan productos de detección a base de biotina), actividad de HRP endógena que convierte el cromógeno en un producto final coloreado (utilice un bloque de peroxidasa) o un exceso de interacción proteica no específica (utilice una proteína bloquea, como suero o solución de bloqueo a base de caseína).
- Las secciones de tejido se lavan de los portaobjetos durante la incubación. Compruebe los portaobjetos para asegurarse de que estén cargados positivamente.
- Tinción específica demasiado oscura: compruebe 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 después de completar los pasos de incubación.

## Referencias:

- 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.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
- 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](http://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.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Swedish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Avsedd användning:

För *in vitro* Diagnostisk användning

ONCORE Pro Hematoxylin är avsedd att användas av professionella laboratorieanvändare för visualisering av cellkärnor i formalinfixerade, paraffinbäddade (FFPE) vävnadssektioner i manuella eller automatiserade procedurer. Det används som en motfärgning i immunhistokemiska (IHC) och kromogena *in situ* hybridisering (CISH) tillämpningar. Det kan också användas för rutinfärgning av hematoxylin och eosin. Den kliniska tolkningen av eventuell färgning eller frånvaro av denna bör kompletteras med morfologiska studier och lämpliga kontroller och bör utvärderas inom ramen för patientens kliniska historia och andra diagnostiska tester av en kvalificerad patolog.

## Sammanfattning och förklaring:

ONCORE Pro Hematoxylin är vattenbaserat och är speciellt framtaget för motfärgning på Biocares ONCORE Pro Automated Stainer. ONCORE Pro Hematoxylin färgar kärnor himmelsblå och ger högkontrastfärgning för kromogena färgningsprocedurer.

## Procedurprincip:

Detta motfärgningsreagens färgar cellkärnorna i vävnadssnitt och cellpreparat när det appliceras på förbehandlade formalinfixerade, paraffinbäddade vävnadssektioner.

## Reagens som tillhandahålls:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Kända applikationer:

Immunhistokemi (formalinfixerade paraffinbäddade vävnader)

## Levereras som:

Hematoxylinlösning. Se säkerhetsdatabladet för ytterligare information.

## Beredning, utspädning och blandning:

ONCORE Pro Hematoxylin är optimerad för användning med Biocare-antikroppar och hjälpreakenser och redo att användas med Biocare IHC-antikroppar och hjälpreakenser. Ingen beredning, blandning, spädning eller titrering krävs.

## Material och reagens som krävs men medföljer inte:

Objektglas positivt laddade.  
Desert Chamber\* (torkugn)  
Positiva och negativa vävnadskontroller  
Xylen (Kan ersättas med xylensättning\*)  
Etanol eller reagens alkohol  
Decloaking Chamber\* (tryckkokare)  
Avjoniserat eller destillerat vatten  
Tvättbuffert\*  
Förbehandlingsreagens\*  
Enzymnedbrytning\*  
Avidin-Biotin Blocking Kit\* (Endast märkta streptavidin-kit)  
Peroxidasblock\* (valfritt)

Proteinblock\* (valfritt)  
Primär antikropp\*  
Negativa kontrollreagens\*  
Detektionssatser\*  
kromogener\*  
Blånande reagens\*  
Monteringsmedium\*

ONCORE Pro Automated Staining Platform\*

\* Biocare Medical Products: Se Biocare Medicals webbplats på <http://biocare.net> för information om katalognummer och beställning. Vissa reagenser listade ovan är baserade på specifik tillämpning och detektionssystem som används.

## Lagring och stabilitet:

Förvara i rumstemperatur borta från ljus. 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. Kit-reagenserna är färdiga att använda och bör inte spädas ut. Stabiliteten för användarens utspädda reagens har inte fastställts av Biocare.

## Provförberedelse:

Vävnader fixerade i formalin är lämpliga för användning före paraffinbäddning. Ossös vävnad bör avkalkas före vävnadsbearbetning för att underlätta vävnadsskäring och förhindra skador på mikrotombladen.<sup>1,2</sup>

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 problocken minst två år från datumet för undersökningen."<sup>3</sup>

## 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.<sup>4,5</sup>

## Varning och försiktighetsåtgärder:

- Kitreagenser innehåller mindre än 0,05 % ProClin 300 och/eller mindre än 1 % ProClin 950. Bär handskar och skyddskläder och vidta rimliga försiktighetsåtgärder vid hantering eftersom ProClin är klassificerat som irriterande och kan orsaka hudkontaktsensibilisering. Undvik kontakt med ögon, hud och slemhinnor.
- Hantera material av mänskligt eller animaliskt ursprung som potentiellt biologiskt farligt och kassera sådant material med lämpliga försiktighetsåtgärder. I händelse av exponering, följ hälsodirektiven från de ansvariga myndigheterna där det används.<sup>6,7</sup>
- 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.<sup>8</sup>
- Mikrobiell kontaminering av reagenser kan resultera i en ökning av ospecifik färgning.
- Andra inkubationstider eller temperaturer än de angivna kan ge felaktiga resultat. Användaren måste validera alla sådana ändringar.
- Använd inte reagens efter det utgångsdatum som är tryckt på flaskan.
- Mikropolymerdetektionsreagenserna är optimerade och redo att användas med Biocare-antikroppar och hjälpreakenser. Se den primära antikroppen och andra hjälpreakensanvisningar för användning för rekommenderade protokoll och villkor för användning.
- Följ lokala och/eller statliga myndigheters krav för avfallshantering.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Swedish


**BIOCARE**  
M E D I C A L

9. Säkerhetsdatabladet är tillgängligt på begäran och finns på <http://biocare.net>.

10. Rapportera alla allvarliga incidenter relaterade till denna enhet genom att kontakta lokalen

Biocare-representant och tillämplig behörig myndighet i den medlemsstat eller det land där användaren befinner sig.

Denna ONCORE Pro Hematoxylin innehåller komponenter som klassificeras enligt tabellen nedan i enlighet med förordning (EG) nr 1272/2008

Fara	Koda	Faroangivelse
	H315 H319	Orsakar hudirritation. Orsakar allvarlig ögonirritation.

## Användningsinstruktioner:

ONCORE Pro Hematoxylin-reagenser är optimerade för användning med Biocare-antikroppar och hjälpreagenser. Se den primära antikroppsinformation för användning för rekommenderade protokoll och villkor för användning. Inkubationstider och temperaturer kommer att variera beroende på det specifika antikroppsprotokoll som följs.

När du använder ett automatiserat färgningsinstrument, se den specifika instrumentets användarmanual och bruksanvisningar för driftsparametrar.

### Användningsinstruktioner:

ONCORE Pro Hematoxylin tillhandahålls i flaskor redo att användas på ONCORE Pro Automated Slide Stainer. Ta av locket på flaskan och placera i ONCORE Pro-reagensbrickan. ONCORE Pro Automated Slide Stainer applicerar reagens som krävs i det valda protokollet. Se tillämpligt antikroppsdatablad för det rekommenderade färgningsprotokollet. Se ONCORE Pro Automated Slide Staining System User Manual för detaljerade instruktioner om instrumentets användning och ytterligare protokollalternativ.

### Tekniska anmärkningar:

1. Filtrera produkten med ett 0,4 mikron filter om partiklar ses.  
2. Biocare Medical använder endast fläckor som är certifierade av Biological Stain Commission. ONCORE Pro Hematoxylin är speciellt framtagen för att eliminera behovet av differentiering av sektionen.

OBS: Den största invändningen mot Mayers hematoxylin som användes tidigare har varit att färgade objektglas ofta bleknar efter 1-3 år. Detta problem kan emellertid elimineras när objektglasen tvättas efter hematoxylin i rinnande vatten i minst 3-4 minuter.

OBS: Biocares forskningsstudier visar att pH-värdet i kran- och DI-vatten för att skölja objektglas kan påverka färgning. pH kan ändras från surt till basiskt säsongvis i olika regioner i landet. Det har vidare rapporterats att det har skett förändringar i kranvattnet från morgonen till eftermiddagen i vissa stater. Långa sköljtider efter blåning kan skilja hematoxylin ut. Vi har ändrat vår sköljtid till 3-4 minuter, istället för tidigare 7-10 minuter.

### Kvalitetskontroll:

Se CLSI kvalitetsstandarder för design och implementering av immunhistokemianalyser; Godkänd guideline-andra upplagan (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011<sup>5</sup>

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 reagenset misstänks, kontakta

Biocares tekniska support på 1-800-542-2002 eller via den tekniska supportinformationen på [biocare.net](http://biocare.net).

### Positiv vävnadskontroll:

Extern positiv kontrollmaterial bör vara färsk prov fixerade, bearbetade och inbäddade så snart som möjligt på samma sätt som patientproverna. Positiva vävnadskontroller tyder på korrekt preparerade vävnader och korrekta färgningstekniker. En positiv extern 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 målkativiteten 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 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 vävnadssnitt 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 antikropp som producerats och preparerats (d.v.s. spädd till samma koncentration med samma spädningsmedel) för användning på samma sätt som den primära antikroppen men uppvisar ingen specifik reaktivitet med mänskliga vävnader i samma matris/lösning som Biocare antikropp. 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.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Swedish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

## Assayverifiering:

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<sup>®</sup> för immunhistokemi och/eller NCCLS IHC-riktlinje<sup>1</sup>. 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 databladet som tillhandahålls. Om atypiska resultat uppstår, kontakta Biocares tekniska support på 1-800-542-2002.

## Tolkning av färgning:

En primär antikropp arbetar tillsammans med hjälpreagenser för att producera en färgad reaktion vid antigenställena lokaliserade av den primära antikroppen. Tilläggsreagens för bakgrundsblock hjälper till att minska ospecifik bakgrundsfärgning för att underlätta tolkningen av den antikropp-antigen-specifika färgningsreaktionen. Före tolkning av patientresultat måste färgningen av kontroller utvärderas av en kvalificerad patolog. Negativa kontroller utvärderas och jämförs med färgade objektglas för att säkerställa att eventuell observerad färgning inte är ett resultat av ospecifika interaktioner.

## 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.<sup>12</sup>

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.

Se Sammanfattning och förklaring, begränsningar och prestandaegenskaper för specifik information om indikerad antikroppsimmunreaktivitet.

## Begränsningar:

### Allmänna begränsningar:

1. För *in vitro* diagnostisk (IVD) 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. Endast för användning av läkares recept. (Endast Rx)
4. 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 negativt resultat. Inkonsekventa resultat kan bero på variationer i fixerings- och inbäddningsmetoder, eller på inneboende oregelbundenheter i vävnaden.<sup>12</sup>
5. Överdriven eller ofullständig motfärgning kan äventyra korrekt tolkning av resultaten.
6. 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.
7. De optimala protokollen för en specifik applikation kan variera. Dessa inkluderar, men är inte begränsade till fixering, värmeåtervinningsmetod, inkubationstider, antikroppsspädning, vävnadssnittjocklek och detektionskit som används. Se den primära antikroppen och andra hjälpreagensanvisningar för användning för rekommenderade protokoll och villkor för användning. Databladets rekommendationer och protokoll är baserade på exklusiv användning av Biocare-produkter. Ytterst är det utredarens ansvar att fastställa optimala förhållanden.
8. Denna produkt är inte avsedd för användning i flödescytometri. Prestandaegenskaper har inte fastställts för flödescytometri.
9. Vävnader från personer infekterade med hepatit B-virus och som innehåller hepatit B-ytantigen (HBsAg) kan uppvisa ospecifik färgning med pepparrotsperoxidasa.<sup>14</sup>
10. 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.<sup>15</sup> Kontakta Biocares tekniska support på 1-800-542-2002, eller via den tekniska supportinformationen på biocare.net, med dokumenterade oväntade reaktioner.
11. Normala/icke-immuna sera från samma djurkälla som sekundära antiserer som används i blockeringssteg kan orsaka falsknegativa eller falskt positiva resultat på grund av autoantikroppar eller naturliga antikroppar.
12. Falskt positiva resultat kan ses på grund av icke-immunologisk bindning av proteiner eller substratreaktionsprodukter. De kan också orsakas av pseudoperoxidasaktivitet (erythrocyter), endogen peroxidaktivitet

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

Swedish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

(cytokrom C) eller endogent biotin (t.ex. lever, bröst, hjärna, njure) beroende på vilken typ av immunfärgning som används.<sup>13</sup>

13. Ett negativt resultat betyder att antigenet inte detekterades, inte att antigenet saknades i de undersökta cellerna eller vävnaden.

## Produktspecifika begränsningar:

*Inga ytterligare produktspecifika begränsningar.*

## Prestandaegenskaper:

Färgning utfördes med hjälp av protokoll som tillhandahålls i de antikroppsspecifika bruksanvisningarna eller som specificerats. Färgningens känslighet och specificitet utvärderades över en rad normala och neoplastiska vävnadstyper som utvärderades under utveckling av primära antikroppar.

## Reproducerbarhet:

Reproducerbarheten av Biocares motfärgningsreagens verifieras genom en mätning av medelprecision där olika reagenslots testades under en längre tidsperiod med hjälp av olika operatörer, analytiker, reagenslots, vävnadsprover och utrustning. Färgningen som erhöles för varje detektionsreagens som utvärderades var konsekvent och utfördes som förväntat.

## Felsökning:

1. Ingen färgning av några objektglas – Kontrollera att lämplig positiv kontrollvävnad, antikroppar och detektionsprodukter har använts. Kontrollera om det finns ofullständig eller felaktig borttagning eller förbehandling av vax.
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 endogent biotin (om du använder biotinbaserade detektionsprodukter), endogen HRP-aktivitet som omvandlar kromogen till färgad slutprodukt (använd peroxidblock) 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 objektglaset, 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 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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. 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.
9. 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

10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. 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.
12. 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.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Turkish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Kullanım amacı:

İçin laboratuvar ortamında Teşhis Kullanımı

ONCORE Pro Hematoksilin, manuel veya otomatik prosedürlerde formalinle sabitlenmiş, parafine gömülmüş (FFPE) doku kesitlerinde hücresel çekirdeklerin görselleştirilmesi için laboratuvar profesyonel kullanıcıları tarafından kullanılmak üzere tasarlanmıştır. İmmünohistokimyasal (IHC) ve kromojenik in situ hibridizasyon (CISH) uygulamalarında karşıt boya olarak kullanılır. Rutin Hematoksilin ve Eozin boyama için de kullanılabilir. Herhangi bir lekelenmenin veya yokluğunun klinik yorumu, morfolojik çalışmalar ve uygun kontrollerle tamamlanmalı ve hastanın klinik geçmişi ve diğer tanılal testler bağlamında kalifiye bir patolog tarafından değerlendirilmelidir.

## Özet ve Açıklama:

ONCORE Pro Hematoxylin su bazlıdır ve Biocare'in ONCORE Pro Otomatik Boyama Cihazında zıt boyama için özel olarak formüle edilmiştir. ONCORE Pro Hematoxylin, çekirdekleri gök mavisine boyar ve kromojenik boyama prosedürleri için yüksek kontrastlı boyama sağlar.

## Prosedür Prensipleri:

Bu karşı boyama reaktifi, önceden işlenmiş formalinle sabitlenmiş, parafine gömülmüş doku kesitlerine uygulandığında, doku kesitlerindeki ve hücresel preparasyonlardaki hücresel çekirdekleri boyar.

## Sağlanan Reaktifler:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Bilinen Uygulamalar:

İmmünohistokimya (formalinle sabitlenmiş parafine gömülmüş dokular)

## Şu Şekilde Sağlanır:

Hematoksilen Çözelti. Ek ayrıntılar için Güvenlik Veri Sayfasına bakın.

## Sulandırma, Seyreltme ve Karıştırma:

ONCORE Pro Hematoksilin, Biocare antikorları ve yardımcı reaktiflerle kullanım için optimize edilmiştir ve Biocare IHC antikorları ve yardımcı reaktiflerle kullanıma hazırdır. Sulandırma, karıştırma, seyreltme veya titrasyon gerekli değildir.

## Gerekli ama Sağlanmayan Malzemeler ve Reaktifler:

Mikroskop slaytları pozitif yüküdür.  
Çöl Odası\* (Kurutma fırını)  
Pozitif ve negatif doku kontrolleri  
Ksilen (Ksilen yerine kullanılabilir\*)  
Etanol veya reaktif alkol  
Gizlenme Odası\* (Düdüklü tencere)  
Deiyonize veya damıtılmış su  
Yıkama tamponu\*  
Ön işlem reaktifleri\*  
Enzim sindirimi\*  
Avidin-Biotin Engelleme Kiti\* (yalnızca etiketli streptavidin kitleri)  
Peroksidaz bloğu\* (İsteğe bağlı)  
Protein bloğu\* (İsteğe bağlı)

Birincil antikor\*  
Negatif kontrol reaktifleri\*  
Tespit kitleri\*  
kromojenler\*  
Bluing reaktifi\*  
Montaj ortamı\*  
ONCORE Pro Otomatik Boyama Platformu\*

\* Biocare Medikal Ürünleri: Katalog numaraları ve sipariş ile ilgili bilgi için <http://biocare.net> adresinde bulunan Biocare Medical web sitesine bakın. Yukarıda listelenen belirli reaktifler, kullanılan özel uygulamaya ve algılamaya sistemine dayalıdır.

## Depolama ve Stabilite:

Oda sıcaklığında ışıktan uzakta saklayın. Ürün, bu koşullar altında saklandığında flakon etiketinde yazılı olan son kullanma tarihine kadar stabildir. Son kullanma tarihinden sonra kullanmayınız. Belirtilenler dışındaki herhangi bir koşulda depolama doğrulanmalıdır. Kit reaktif(ler)i kullanıma hazırdır ve seyreltilmemelidir. Kullanıcı tarafından seyreltilmiş reaktifin stabilitesi Biocare tarafından belirlenmemiştir.

## Numune hazırlama:

Formalin içinde fikse edilmiş dokular, parafine gömmeden önce kullanım için uygundur. Doku kesimini kolaylaştırmak ve mikrotom bıçaklarının zarar görmesini önlemek için doku işlemeyen önce kemikli dokuların kireci giderilmelidir.<sup>1,2</sup>

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 gerektirir §493.1259(b) "Laboratuvar, lekeli lamaları teslim tarihinden itibaren en az on yıl muhafaza etmelidir. inceleme ve numune bloklarını inceleme tarihinden itibaren en az iki yıl saklayın."<sup>3</sup>

## Boyamadan Önce Dokuların Tedavisi:

Aşağıda önerilen protokole göre Isı Kaynaklı Epitop Toplama (HIER) gerçekleştirin. IHC'den önce HIER'in rutin kullanımının tutarsızlığı en aza indirdiği ve boyamayı standartlaştırdığı gösterilmiştir.<sup>4,5</sup>

## Uyarı ve Önlemler:

- Kit reaktifleri %0,05'ten az ProClin 300 ve/veya %1'den az ProClin 950 içerir. ProClin tahriş edici olarak sınıflandırıldığından ve cilt temasında hassasiyete neden olabileceğinden eldiven ve koruyucu kıyafet giyin ve kullanırken makul önlemler alın. Göz, cilt ve mukoza zarlarıyla temasından kaçınınız.
- İnsan veya hayvan kökenli malzemeleri potansiyel olarak biyolojik olarak tehlikeli olarak ele alın ve bu tür malzemeleri uygun önlemlerle imha edin. Maruz kalma durumunda, kullanıldığı yerde sorumlu makamların sağlık direktiflerine uyun.<sup>6,7</sup>
- Fiksasyondan önce ve sonra numuneler ve bunlara maruz kalan tüm malzemeler, enfeksiyon bulaştırabileceği gibi ele alınmalı ve uygun önlemler alınarak imha edilmelidir. Reaktifleri asla ağız yoluyla pipetlemeyin ve reaktifler ve örneklerle cilt ve mukoza zarlarına temas etmekten kaçınınız. Reaktifler veya numuneler hassas alanlarla temas ederse bol miktarda su ile yıkayınız.<sup>8</sup>
- Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonu spesifik olmayan boyamada artışa neden olabilir.
- Belirtilenlerin dışındaki inkübasyon süreleri veya sıcaklıkları hatalı sonuçlar verebilir. Kullanıcı bu tür değişiklikleri doğrulamalıdır.
- Reaktif flakonun üzerinde yazılı olan son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
- Mikro polimer saptama kiti reaktif(ler)i optimize edilmiştir ve Biocare antikorları ve yardımcı reaktiflerle kullanıma hazırdır. Önerilen protokoller ve kullanım koşulları için birincil antikor ve diğer yardımcı reaktif kullanım talimatlarına bakın.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923


Turkish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

- Ber taraf etme yöntemi için yerel ve/veya eyalet makamlarının gerekliliklerine uyun.
- SDS istek üzerine mevcuttur ve <http://biocare.net> adresinde bulunmaktadır.
- Bu cihazla ilgili herhangi bir ciddi olayı, yerel yetkililerle iletişime geçerek bildirin.

Biocare temsilcisi ve Üye Devletin veya kullanıcının bulunduğu ülkenin geçerli yetkili makamı.

Bu ONCORE Pro Hematoksilin, 1272/2008 Sayılı Yönetmeliğe (EC) göre aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde sınıflandırılan bileşenler içerir.

tehlike	kod	Tehlike Bildirimi
	H315 H319	Cilt tahrişine neden olur. Ciddi göz tahrişine neden olur.

## Kullanım için talimatlar:

ONCORE Pro Hematoksilen reaktifleri, Biocare antikorları ve yardımcı reaktiflerle kullanım için optimize edilmiştir. Önerilen protokoller ve kullanım koşulları için kullanıma yönelik birincil antikor bilgilerine bakın. Kuluçka süreleri ve sıcaklıkları, izlenen spesifik antikor protokolüne bağlı olarak değişecektir.

Otomatik bir boyama aleti kullanırken, ilgili aletin kullanım kılavuzuna ve çalışma parametreleri için kullanım talimatlarına bakın.

## Kullanım için talimatlar:

ONCORE Pro Hematoksilin, ONCORE Pro Otomatik Slayt Boyayıcıda kullanıma hazır şişelerde sağlanır. Şişenin kapağını açın ve ONCORE Pro reaktif tepsinine yerleştirin. ONCORE Pro Otomatik Slayt Boyayıcı, reaktif seçilen protokolle gerektiği gibi uygulayacaktır. Önerilen boyama protokolü için uygun antikor veri sayfasına bakın. Cihazın çalıştırılması ve ek protokol seçenekleri hakkında ayrıntılı talimatlar için ONCORE Pro Otomatik Slayt Boyama Sistemi Kullanıcı Kılavuzuna bakın.

## Teknik Notlar:

- Parçacık görülürse ürünü 0,4 mikron filtre ile filtreleyin.
  - Biocare Medical yalnızca Biyolojik Leke Komisyonu tarafından onaylanan boyaları kullanır. ONCORE Pro Hematoksilin, kesit ayırımı gerekliliğini ortadan kaldırmak için özel olarak formüle edilmiştir.
- NOT: Geçmişte kullanılan Mayer hematoksilenine en büyük itiraz, lekeli slaytların genellikle 1-3 yıl sonra solmasıdır. Ancak hematoksilin sonrası lamlar akan suda minimum 3-4 dakika yıkandığında bu sorun ortadan kalkabilir.
- NOT: Biocare'in araştırma çalışmaları, durulama slaytları için musluk ve DI suyunun pH'ının lekelenmeyi etkileyebileceğini göstermektedir. pH, ülkenin farklı bölgelerinde mevsimsel olarak asidikten baza değişebilir. Bazı eyaletlerde sabahtan öğleden sonraya kadar musluk suyuunda değişiklikler olduğu da bildirildi. Mavileştirmeden sonra uzun durulama süreleri Hematoksilini ayırt edebilir. Durulama süremizi önceki 7-10 dakika yerine 3-4 dakika olarak değiştirdik.

## Kalite kontrol:

İmmünohistokimya Testlerinin Tasarımı ve Uygulanması için CLSI Kalite Standartlarına bakın; Onaylı Kılavuz-İkinci baskı (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA ABD (www.clsi.org). 2011<sup>1</sup>

Pozitif ve negatif kontroller, tüm hasta numuneleriyle aynı anda yapılmalıdır. Laboratuvar prosedürlerindeki değişikliklerle açıklanamayan beklenmedik bir lekelenme gözlemlenirse ve reaktifle ilgili bir sorundan şüpheleniliyorsa, 1-800-542-2002 numaralı telefondan veya [biocare.net](http://biocare.net)'te sağlanan teknik destek bilgileri aracılığıyla Biocare'in Teknik Desteği ile iletişime geçin.

## Pozitif Doku Kontrolü:

Harici pozitif kontrol malzemeleri, hasta numune(ler)yle aynı şekilde mümkün olan en kısa sürede sabitlenmiş, işlenmiş ve gömülmüş taze numuneler olmalıdır. Pozitif doku kontrolleri, doğru hazırlanmış dokuların ve uygun boyama tekniklerinin göstergesidir. Her test koşulu seti için bir pozitif harici doku kontrolü, her boyama işlemine dahil edilmelidir.

Harici pozitif kontrol materyalleri için kullanılan dokular, zayıf pozitif boyama veren pozitif hedef aktivitenin iyi karakterize edilmiş düşük seviyelerine sahip hasta numunelerinden seçilmelidir. Harici pozitif kontroller için düşük pozitiflik düzeyi, IHC metodolojisindeki istikrarsızlık veya sorunlardan kaynaklanan birincil antikor duyarlılığındaki ince değişikliklerin saptanmasını sağlayacak şekilde tasarlanmıştır. Ticari olarak temin edilebilen doku kontrol slaytları veya hasta numunelerinden farklı şekilde işlenmiş numuneler, yalnızca reaktif performansını doğrular ve doku hazırlığını doğrulamaz.

Bilinen pozitif doku kontrolleri, hasta numunelerinin belirli bir teşhisini formüle etmeye yardımcı olmaktan ziyade, yalnızca işlenmiş dokuların ve test reaktiflerinin doğru performansını izlemek için kullanılmalıdır. Pozitif doku kontrolleri pozitif boyanmayı gösteremezse, test örnekleriyle alınan sonuçlar geçersiz kabul edilmelidir.

## Negatif Doku Kontrolü:

IHC birincil antikorunun özgüllüğünü doğrulamak için her boyama çalışmasında hasta örnekleriyle aynı şekilde sabitlenmiş, işlenmiş ve gömülmüş bir negatif doku kontrolü kullanın. hedef antijenin gösterilmesi ve spesifik arka plan boyamasının bir göstergesinin sağlanması (yanlış pozitif boyama). Ayrıca, çoğu doku kesitinde bulunan farklı hücre tiplerinin çeşitliliği, laboratuvar tarafından IHC'nin performansını doğrulamak için dahili negatif kontrol alanları olarak kullanılabilir 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 alınan sonuçlar geçersiz kabul edilmelidir.

## 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 kullanılmak üzere üretilmiş ve hazırlanmış (yani, aynı seyreltici kullanılarak aynı konsantrasyona seyreltilmiş) bir antikor içerir, ancak Biocare ile aynı matris/çözültü içinde insan dokuları ile spesifik bir reaktivite sergilemez. antikor. Tek başına seyreltici, daha önce açıklanan negatif reaktif kontrollerine göre daha az tercih edilen bir alternatif olarak kullanılabilir. Negatif reaktif kontrolü için inkübasyon süresi, birincil antikorunkine karşılık gelmelidir.

Seri kesitlerde birkaç antikordan oluşan paneller kullanıldığında, bir slaydın negatif boyanan alanları, diğer antikorlar için negatif/spesifik olmayan bağlanma arka plan kontrolü görevi görebilir. Endojen enzim aktivitesini veya enzimlerin spesifik olmayan bağlanmasını spesifik immünoreaktiviteden ayırt etmek için ilave hasta dokuları, sırasıyla substrat-kromojen veya enzim

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Turkish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

kompleksleri (PAP, avidin-biotin, streptavidin) ve substrat-kromojen ile özel olarak boyanabilir.

## Tahlil Doğrulaması:

Tanısal bir prosedürde bir antikor veya boyama sisteminin ilk kullanımından önce kullanıcı, bilinen pozitif ve negatif dokuları temsil eden bilinen immünohistokimyasal performans özelliklerine sahip bir dizi kurum içi doku üzerinde test ederek antikorun özgüllüğünü doğrulamalıdır. Ürün ekinin bu bölümünde daha önce belirtilen kalite kontrol prosedürlerine ve CAP Sertifikasyon Programının kalite kontrol tavsiyelerine bakın.<sup>10</sup> İmmünohistokimya ve/veya NCCLS IHC kılavuzu için<sup>11</sup>. Bu kalite kontrol prosedürleri, her yeni antikor lotu için veya tahlil parametrelerinde bir değişiklik olduğunda tekrarlanmalıdır. Performans Özellikleri bölümünde listelenen dokular test doğrulaması için uygundur.

## Sorun giderme:

Sağlanan veri sayfasına göre antikora özgü protokol önerilerini izleyin. Alışılmadık sonuçlar ortaya çıkarsa, 1-800-542-2002 numaralı telefondan Biocare'in Teknik Desteği ile iletişime geçin.

## Boyamanın Yorumlanması:

Bir birincil antikor, birincil antikor tarafından lokalize edilen antijen bölgelerinde renkli bir reaksiyon üretmek için yardımcı reaktiflerle birlikte çalışır. Arka plan bloğu yardımcı reaktifleri, antikor-antijene özgü boyama reaksiyonunun yorumlanmasını kolaylaştırmak için spesifik olmayan arka plan boyamasının azaltılmasına yardımcı olur. Hasta sonuçlarının yorumlanmasından önce, kontrollerin boyanması kalifiye bir patoloğ tarafından değerlendirilmelidir. Negatif kontroller değerlendirilir ve gözlenen herhangi bir lekelenmenin spesifik olmayan etkileşimlerin bir sonucu olmadığından emin olmak için lekeli slaytlarla karşılaştırılır.

## Pozitif Doku Kontrolü:

Belirtilen antikora boyanmış pozitif doku kontrolü, tüm reaktiflerin düzgün çalıştığından emin olmak için önce incelenmelidir. Hedef hücrelerin uygun şekilde boyanması (yukarıda belirtildiği gibi), pozitif reaktivitenin göstergesidir. Pozitif doku kontrolleri pozitif boyanmayı göstermezse, test numuneleri ile elde edilen tüm sonuçlar geçersiz kabul edilmelidir.

Reaksiyon ürününün rengi, kullanılan substrat kromojenlerine bağlı olarak değişebilir. Beklenen renk reaksiyonları için alt tabaka prospektüslerine bakın. Ayrıca, boyama yönteminin varyasyonlarında metakromazi görülebilir.<sup>12</sup>

Bir karşı boyama kullanıldığında, kullanılan karşı boyamanın inkübasyon uzunluğuna ve gücüne bağlı olarak, karşı boyama hücre çekirdeğinin renklenmesine neden olur. Aşırı veya eksik zıt boyama, sonuçların doğru yorumlanmasını tehlikeye atabilir. Önerilen karşı boyama için protokol(ler)e bakın.

## Negatif Doku Kontrolü:

Negatif doku kontrolü, birincil antikor tarafından hedef antijenin etiketlenmesinin özgüllüğünü doğrulamak için pozitif doku kontrolünden sonra incelenmelidir. Negatif doku kontrolünde spesifik lekelenmenin olmaması, hücrelere/hücresel bileşenlere karşı antikor çapraz reaktivitesinin olmadığını doğrular. Negatif dış doku kontrolünde spesifik boyama (yanlış pozitif boyama) meydana gelirse, hasta örneğinden alınan sonuçlar geçersiz kabul edilmelidir.

Spesifik olmayan boyama varsa, genellikle dağınık bir görünüme sahiptir. Aşırı formalinle sabitlenmiş dokulardan alınan kesitlerde bağ dokusunun sporadik boyanması da gözlenebilir. Boyama sonuçlarının yorumlanması için bozulmamış hücreleri kullanın. Nekrotik veya dejenere hücreler genellikle spesifik olmayan şekilde boyanır.

## Hasta Dokusu:

Belirtilen antikora boyanmış hasta örneklerini inceleyin son. Pozitif boyama yoğunluğu, negatif reaktif kontrolünün herhangi bir spesifik olmayan arka plan boyaması bağlamında değerlendirilmelidir. Herhangi bir immünohistokimyasal teste olduğu gibi, negatif bir sonuç, antijenin test edilen hücrelerde/dokuda bulunmadığı anlamına gelmez, antijenin saptanmadığı anlamına gelir. Gerekirse, yanlış negatif reaksiyonları belirlemek için bir antikor paneli kullanın.

Belirtilen antikor immünoreaktivitesine ilişkin özel bilgiler için Özet ve Açıklama, Sınırlamalar ve Performans Özelliklerine bakın.

## Sınırlamalar:

### Genel Sınırlamalar:

1. İçin laboratuvar ortamında teşhis (IVD) Kullanımı
2. Bu ürün yalnızca profesyonel kullanım içindir: İmmünohistokimya, uygun reaktiflerin seçiminde özel eğitimden oluşan çok adımlı bir teşhis sürecidir; doku seçimi, sabitleme ve işleme; IHC slaytının hazırlanması; ve boyama sonuçlarının yorumlanması.
3. Sadece doktor reçetesi ile kullanım içindir. (Yalnızca Rx)
4. Doku boyama, boyamadan önce dokunun işlenmesine ve işlenmesine bağlıdır. Uygun olmayan fiksasyon, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit alma veya diğer dokular veya sıvılarla kontaminasyon artefaktlara, antikor yakalamaya veya yanlış negatif sonuçlara neden olabilir. Tutarsız sonuçlar, fiksasyon ve gömme yöntemlerindeki farklılıklardan veya doku içindeki doğal düzensizliklerden kaynaklanabilir.<sup>12</sup>
5. Aşırı veya eksik zıt boyama, sonuçların doğru yorumlanmasını tehlikeye atabilir.
6. Herhangi bir pozitif veya negatif boyamanın klinik yorumu, klinik sunum, morfoloji ve diğer histopatolojik kriterler bağlamında 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 antikorumlarının, reaktiflerinin ve yöntemlerinin doğru kullanımına aşına olan kalifiye bir patoloğün sorumluluğundadır.
7. Belirli bir uygulama için optimum protokoller değişebilir. Bunlar arasında, bunlarla sınırlı olmamak üzere, fiksasyon, ısı geri alma yöntemi, inkübasyon süreleri, antikor dilüsyonu, doku kesit kalınlığı ve kullanılan tespit kiti yer alır. Önerilen protokoller ve kullanım koşulları için birincil antikor ve diğer yardımcı reaktif kullanım talimatlarına bakın. Veri sayfası önerileri ve protokoller, Biocare ürünlerinin özel kullanımına dayanmaktadır. Nihayetinde, optimal koşulları belirlemek araştırmacının sorumluluğundadır.
8. Bu ürün, akış sitometrisinde kullanılmak üzere tasarlanmamıştır. Akış sitometrisi için performans özellikleri belirlenmemiştir.
9. Hepatit B virüsü ile enfekte olmuş ve hepatit B yüzey antijeni (HBsAg) içeren kişilerden alınan dokular, yaban turpu peroksidazı ile spesifik olmayan lekelenme sergileyebilir.<sup>14</sup>
10. Reaktifler, önceden test edilmiş dokularda beklenmeyen reaksiyonlar gösterebilir. Neoplazmalarda veya diğer patolojik dokularda antijen ekspresyonunun biyolojik değişkenliği nedeniyle, test edilen doku gruplarında bile beklenmeyen reaksiyon olasılığı tamamen ortadan kaldırılamaz.<sup>15</sup> Belgelenmiş beklenmedik reaksiyon(lar) ile 1-800-542-2002 numaralı telefondan veya biocare.net'te sağlanan teknik destek bilgileri aracılığıyla Biocare'in Teknik Desteği ile iletişime geçin.
11. Bloke etme adımlarında kullanılan sekonder antiserumlarla aynı hayvan kaynağından alınan normal/immün olmayan serumlar, otoantikolar veya doğal antikorlar nedeniyle yanlış negatif veya yanlış pozitif sonuçlara neden olabilir.
12. Proteinlerin veya substrat reaksiyon ürünlerinin immünojenik olmayan bağlanması nedeniyle yanlış pozitif sonuçlar görülebilir. Ayrıca kullanılan immün boyanın tipine bağlı olarak psödo peroksidaz aktivitesi

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

Turkish

**BIOCARE**  
M E D I C A L

- (eritrositler), endojen peroksidaz aktivitesi (sitokrom C) veya endojen biotin (örn. karaciğer, meme, beyin, böbrek) neden olabilir.<sup>13</sup>
13. Negatif bir sonuç, antijenin incelenen hücrelerde veya dokuda bulunmadığı anlamına gelmez, antijenin tespit edilmediği anlamına gelir.

## Ürüne Özgü Sınırlamalar:

Ürüne özgü ek sınırlamalar yoktur.

## Performans Özellikleri:

Boyama, antikora özgü kullanım talimatlarında sağlanan protokoller kullanılarak veya belirtildiği şekilde gerçekleştirildi. Boyamanın duyarlılığı ve özgüllüğü, birincil antikoların gelişimi sırasında değerlendirilen bir dizi normal ve neoplastik doku tipinde değerlendirildi.

## Yeniden üretilebilirlik:

Biocare'in karşı boyama reaktiflerinin tekrar üretilebilirliği, çeşitli reaktif lotlarının çeşitli operatörler, analistler, reaktif lotları, doku numuneleri ve ekipman kullanılarak uzun bir süre boyunca test edildiği bir ara kesinlik ölçümüyle doğrulanır. Değerlendirilen her tespit reaktif için elde edilen boyama tutarlıydı ve beklendiği gibi yapıldı.

## Sorun giderme:

- Herhangi bir slaytta boyanma yok – Uygun pozitif kontrol dokusu, antikor ve algılama ürünlerinin kullanıldığını belirlemek için kontrol edin. Eksik veya yanlış mum çıkarma veya ön işlem olup olmadığını kontrol edin.
- Tüm slaytların zayıf boyanması – Uygun pozitif kontrol dokusu, antikor ve algılama ürünlerinin kullanıldığını belirlemek için kontrol edin.
- Tüm slaytlarda aşırı arka plan – 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 edici solüsyon gibi).
- İnkübasyon sırasında lamları doku bölümleri yıkayarak aşındırır – Pozitif yüklü olduklarından emin olmak için lamları kontrol edin.
- Spesifik boyama çok koyu – Slayta uygun antikor titresinin uygulanıp uygulanmadığını ve ayrıca tüm reaktifler için uygun inkübasyon sürelerini belirlemek için protokolü kontrol edin. Ek olarak, inkübasyon adımları tamamlandıktan sonra protokolün fazla reaktifleri çıkarmak için 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.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
- 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.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

French

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Utilisation prévue :

Pour *in vitro* utilisation diagnostique

L'ONCORE Pro Hematoxylin est destiné à être utilisé par les utilisateurs professionnels de laboratoire pour la visualisation de noyaux cellulaires dans des coupes de tissus fixées au formol et incluses en paraffine (FFPE) dans le cadre de procédures manuelles ou automatisées. Il est utilisé comme contre-colorant dans les applications immunohistochimiques (IHC) et d'hybridation chromogénique *in situ* (CISH). Il peut également être utilisé pour la coloration de routine à l'hématoxyline et à l'éosine. L'interprétation clinique de toute coloration ou de son absence doit être complétée par des études morphologiques et des contrôles appropriés et doit être évaluée dans le contexte des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

## Résumé et explication :

ONCORE Pro Hematoxylin est à base d'eau et est spécialement formulé pour la contre-coloration sur le colorant automatisé ONCORE Pro de Biocare. ONCORE Pro Hematoxylin colore les noyaux en bleu ciel et permet une coloration à contraste élevé pour les procédures de coloration chromogène.

## Principe de procédure :

Ce réactif de contre-coloration, lorsqu'il est appliqué sur des coupes de tissu prétraitées fixées au formol et incluses en paraffine, colore les noyaux cellulaires dans les coupes de tissu et les préparations cellulaires.

## Réactifs fournis :

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Applications connues :

Immunohistochimie (tissus enrobés de paraffine fixés au formol)

## Fourni comme :

Solution d'hématoxyline. Voir la fiche de données de sécurité pour plus de détails.

## Reconstitution, dilution et mélange :

L'ONCORE Pro Hematoxylin est optimisé pour une utilisation avec les anticorps et les réactifs auxiliaires Biocare et prêt à être utilisé avec les anticorps et les réactifs auxiliaires Biocare IHC. Aucune reconstitution, mélange, dilution ou titrage n'est requis.

## Matériels et réactifs requis mais non fournis :

Lames de microscope chargées positivement  
Chambre du Désert\* (Four de séchage)  
Contrôles tissulaires positifs et négatifs  
Xylène (pourrait être remplacé par un substitut de xylène\*)  
Éthanol ou alcool réactif  
Chambre de décloaking\* (autociseur)  
Eau déminéralisée ou distillée  
Tampon de lavage\*  
Réactifs de prétraitement\*  
Digestion enzymatique\*

Kit de blocage avidine-biotine\* (kits de streptavidine étiquetés uniquement)  
Bloc de peroxydase\* (facultatif)  
Bloc protéique\* (facultatif)  
Anticorps primaire\*  
Réactifs de contrôle négatifs\*  
Kits de détection\*  
Chromogènes\*  
Réactif de bleuissement\*  
Milieu de montage\*  
Plateforme de coloration automatisée ONCORE Pro\*

\* Produits médicaux Biocare : consultez le site Web de Biocare Medical à l'adresse <http://biocare.net> pour obtenir des informations sur les numéros de catalogue et les commandes. Certains réactifs énumérés ci-dessus sont basés sur l'application spécifique et le système de détection utilisé.

## Stockage et stabilité :

Conserver à température ambiante à l'abri de la lumière. 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 du kit sont prêts à l'emploi et ne doivent pas être dilués. La stabilité du réactif dilué par l'utilisateur n'a pas été établie par Biocare.

## Préparation du spécimen :

Les tissus fixés dans le formol peuvent être utilisés avant l'inclusion de 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.<sup>1,2</sup>

Les tissus correctement fixés et intégrés exprimant la cible antigénique spécifiée 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 l'examen et conserver les blocs d'échantillons au moins deux ans à compter de la date de l'examen."<sup>3</sup>

## Traitement des tissus avant la coloration :

Effectuez une récupération d'épitope 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 normalise la coloration.<sup>4,5</sup>

## Avertissement et précautions:

1. Les réactifs du kit contiennent moins de 0,05 % de ProClin 300 et/ou moins de 1 % de ProClin 950. Portez des gants et des vêtements de protection et prenez des précautions raisonnables lors de la manipulation car ProClin est classé comme irritant et peut provoquer une sensibilisation par contact avec la peau. Éviter le contact avec les yeux, la peau et les muqueuses.
2. Manipulez les matériaux d'origine humaine ou animale comme potentiellement dangereux et éliminez ces matériaux avec les précautions appropriées. En cas d'exposition, suivre les directives sanitaires des autorités responsables du lieu d'utilisation.<sup>6,7</sup>
3. Les échantillons, avant et après fixation, et tous les matériaux qui y sont exposés doivent être manipulés comme s'ils pouvaient transmettre une infection et éliminés avec les précautions appropriées. Ne jamais pipeter les réactifs à la bouche et éviter tout contact de la peau et des muqueuses avec les réactifs et les échantillons. Si des réactifs ou des échantillons entrent en contact avec des zones sensibles, laver abondamment à l'eau.<sup>8</sup>
4. La contamination microbienne des réactifs peut entraîner une augmentation de la coloration non spécifique.
5. Des durées d'incubation ou des températures autres que celles spécifiées peuvent donner des résultats erronés. L'utilisateur doit valider un tel changement.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

French

**BIOCARE**  
M E D I C A L

6. Ne pas utiliser de réactif après la date de péremption imprimée sur le flacon.

7. Le ou les réactifs du kit de détection des micropolymères sont optimisés et prêts à l'emploi avec les anticorps et réactifs auxiliaires Biocare. Reportez-vous aux instructions d'utilisation de l'anticorps primaire et des autres réactifs auxiliaires pour connaître les protocoles et les conditions d'utilisation recommandés.


8. Suivez les exigences des autorités locales et/ou nationales pour la méthode d'élimination.

9. La FDS est disponible sur demande et se trouve sur <http://biocare.net>.

10. Signalez tout incident grave lié à cet appareil en contactant le

Le représentant de Biocare et l'autorité compétente applicable de l'État membre ou du pays où se trouve l'utilisateur.

Cet ONCORE Pro Hématoxyline contient des composants classés comme indiqué dans le tableau ci-dessous conformément au Règlement (CE) n° 1272/2008

Danger	Code	Mention de danger
	H315 H319	Provoque une irritation cutanée. Provoque une grave irritation des yeux.

## Mode d'emploi:

Les réactifs ONCORE Pro Hematoxylin sont optimisés pour une utilisation avec les anticorps Biocare et les réactifs auxiliaires. Reportez-vous aux informations sur les anticorps primaires à utiliser pour les protocoles recommandés et les conditions d'utilisation. Les temps et les températures d'incubation varient en fonction du protocole d'anticorps spécifique suivi.

Lors de l'utilisation d'un instrument de coloration automatisé, consulter le manuel d'utilisation de l'instrument spécifique et les instructions d'utilisation pour les paramètres de fonctionnement.

## Mode d'emploi:

ONCORE Pro Hematoxylin est fourni dans des flacons prêts à l'emploi sur le ONCORE Pro Automated Slide Stainer. Débouchez le flacon et placez-le dans le plateau de réactifs ONCORE Pro. L'ONCORE Pro Automated Slide Stainer appliquera le réactif selon les besoins du protocole sélectionné. Reportez-vous à la fiche de données d'anticorps appropriée pour le protocole de coloration recommandé. Reportez-vous au manuel d'utilisation du système de coloration automatique de lames ONCORE Pro pour obtenir des instructions détaillées sur le fonctionnement de l'instrument et les options de protocole supplémentaires.

## Remarques techniques :

1. Filtrer le produit avec un filtre de 0,4 micron si des particules sont visibles.
2. Biocare Medical utilise uniquement des colorants certifiés par la Biological Stain Commission. ONCORE Pro Hematoxylin est spécialement formulé pour éliminer la nécessité de différencier la section.

REMARQUE : La plus grande objection à l'hématoxyline de Mayer telle qu'utilisée dans le passé, a été que les diapositives colorées s'estompent souvent après 1 à 3 ans. Ce problème peut cependant être éliminé lorsque les lames sont lavées après l'hématoxyline dans de l'eau courante pendant au moins 3 à 4 minutes.

REMARQUE : Les études de recherche de Biocare montrent que le pH de l'eau du robinet et de l'eau DI pour le rinçage des lames peut influencer la coloration. Le pH peut changer d'acide à basique selon les saisons dans différentes régions du pays. Il a en outre été signalé qu'il y avait eu des

changements dans l'eau du robinet du matin à l'après-midi dans certains États. De longs temps de rinçage après le bleuissage peuvent différencier l'hématoxyline. Nous avons modifié notre temps de rinçage à 3-4 minutes, au lieu des 7-10 minutes précédentes.

## Contrôle de qualité:

Reportez-vous aux normes de qualité CLSI pour la conception et la mise en œuvre des tests d'immunohistochimie ; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA ([www.clsi.org](http://www.clsi.org)). 2011\*

Les contrôles positifs et négatifs doivent être exécutés simultanément avec tous les échantillons de patients. Si une coloration inattendue est observée qui ne peut pas être expliquée par des variations dans les procédures de laboratoire et qu'un problème avec le réactif est suspecté, contactez le support technique de Biocare au 1-800-542-2002 ou via les informations de support technique fournies sur [biocare.net](http://biocare.net).

## Contrôle tissulaire positif :

Les matériaux de contrôle positif externe doivent être des échantillons frais fixés, traités et enrobés dès que possible de la même manière que le ou 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 cycle 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 de l'activité cible positive qui donne une faible coloration positive. Le faible niveau de positivité des contrôles positifs externes est conçu pour assurer 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 des tissus disponibles dans le commerce ou les échantillons traités différemment des échantillons du patient valident uniquement les performances des réactifs 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 comme une aide à la formulation d'un diagnostic spécifique d'échantillons de patients. Si les contrôles de tissus positifs ne présentent pas de coloration positive, les résultats avec les échantillons de test doivent être considérés comme non valides.

## Contrôle tissulaire négatif :

Utilisez un contrôle tissulaire négatif fixé, traité et intégré de manière identique au(x) échantillon(s) du patient avec chaque cycle de coloration pour vérifier la spécificité de l'anticorps primaire IHC pour démonstration de l'antigène cible, et pour fournir une indication de coloration de fond spécifique (coloration faussement positive). En outre, la variété des différents types de cellules présentes dans la plupart des coupes de tissus peut être utilisé par le laboratoire comme site de contrôle négatif interne pour vérifier la performance de l'IHC Caractéristiques. Les types et les sources d'échantillons qui peuvent être utilisés pour les tissus négatifs Les commandes sont répertoriées dans la section Caractéristiques de performance.

Si une coloration spécifique (coloration faussement positive) se produit dans le tissu de contrôle négatif, les résultats avec les échantillons de patients doivent être considérés comme non valides.

 Biocare Medical

60 Berry Drive

Pacheco, CA 94553

USA

92/99



TP v1 (04/07/2022)

Tel: 800-799-9499 | [www.biocare.net](http://www.biocare.net) | Fax: 925-603-8080

 EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

French

**BIOCARE**  
M E D I C A L

## Contrôle de réactif négatif non spécifique :

Utilisez un contrôle de 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 de réactif négatif contient un anticorps produit et préparé (c'est-à-dire dilué à la même concentration en utilisant le même diluant) pour une utilisation de la même manière que l'anticorps primaire mais ne présente aucune réactivité spécifique avec les tissus humains dans la même matrice/solution que le Biocare anticorps. Le diluant seul peut être utilisé comme une alternative moins souhaitable aux contrôles réactifs négatifs décrits précédemment. La période d'incubation du contrôle de 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 enzymatique (PAP, avidine-biotine, streptavidine) et substrat-chromogène, respectivement.

## Vérification du dosage :

Avant l'utilisation initiale 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 avec des caractéristiques de performance immunohistochimiques connues représentant des tissus positifs et négatifs connus. Reportez-vous aux procédures de contrôle de la qualité décrites précédemment dans cette section de la notice du produit et aux recommandations de contrôle de la qualité du programme de certification CAP<sup>®</sup> pour l'immunohistochimie et/ou la directive NCCLS IHC<sup>1</sup>. Ces procédures de contrôle de la 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 dosage.

## **Dépannage:**

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

## **Interprétation de la coloration :**

Un anticorps primaire fonctionne en conjonction avec des réactifs auxiliaires pour produire une réaction colorée au niveau des sites antigéniques localisés par l'anticorps primaire. Les réactifs auxiliaires de bloc de fond aident à réduire la coloration de fond non spécifique pour faciliter l'interprétation de la réaction de coloration spécifique anticorps-antigène. Avant l'interprétation des résultats des patients, la coloration des contrôles doit être évaluée par un pathologiste qualifié. Les contrôles négatifs sont évalués et comparés aux lames colorées pour s'assurer que toute coloration observée n'est pas le résultat d'interactions non spécifiques.

## Contrôle tissulaire positif :

Le contrôle tissulaire positif coloré avec l'anticorps indiqué doit d'abord être examiné 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 de tissus positifs ne présentent pas de coloration positive, tous les résultats avec les échantillons de test doivent être considérés comme non valides.

La couleur du produit de réaction peut varier en fonction des substrats chromogènes utilisés. Reportez-vous aux notices d'emballage du substrat

pour les réactions de couleur attendues. De plus, une métachromasie peut être observée dans des variantes de la méthode de coloration.<sup>12</sup>

Lorsqu'une contre-coloration est utilisée, selon la durée d'incubation et la puissance de la contre-coloration utilisée, la contre-coloration se traduira par 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 la contre-coloration recommandée.

## Contrôle tissulaire négatif:

Le contrôle tissulaire négatif doit être examiné après le contrôle tissulaire positif pour vérifier la spécificité du marquage de l'antigène cible par l'anticorps primaire. L'absence de coloration spécifique dans le tissu de contrôle négatif confirme l'absence de réactivité croisée des anticorps vis-à-vis des cellules/composants cellulaires. Si une coloration spécifique (coloration faussement positive) se produit dans le contrôle de tissu externe négatif, les résultats avec l'échantillon du patient doivent être considérés comme non valides.

La coloration non spécifique, si elle est présente, a généralement un aspect diffus. Une coloration sporadique du tissu conjonctif peut également être observée dans les coupes de tissus excessivement fixés au formol. Utiliser des cellules intactes pour l'interprétation des résultats de coloration. Les cellules nécrotiques ou dégénérées se colorent souvent de manière non spécifique.

## Tissu 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 des cellules/tissus analysés. Si nécessaire, utilisez un panel d'anticorps pour identifier les réactions faussement négatives.

Reportez-vous à Résumé et explication, Limites et Caractéristiques de performance pour des informations spécifiques concernant l'immunoréactivité des anticorps indiquée.

## **Limites:**

### Limites générales :

1. Pour *in vitro* diagnostic (IVD) Utilisation
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 l'interprétation des résultats de coloration.
3. À utiliser uniquement sur prescription médicale. (Rx uniquement)
4. La coloration des tissus dépend de la manipulation et du traitement du tissu avant la coloration. Une fixation, une congélation, une décongélation, un lavage, un séchage, un chauffage, une coupe ou une contamination inappropriés avec d'autres tissus ou fluides peuvent 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'enrobage, ou à des irrégularités inhérentes au tissu.<sup>12</sup>
5. Une contre-coloration excessive ou incomplète peut compromettre la bonne interprétation des résultats.
6. 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

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

French

**BIOCARE**  
M E D I C A L

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 est familiarisé avec 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.

7. Les protocoles optimaux pour une application spécifique peuvent varier. Ceux-ci incluent, mais sans s'y limiter, la fixation, la méthode de récupération de la chaleur, les temps d'incubation, la dilution des anticorps, l'épaisseur de la coupe de tissu et le kit de détection utilisé. Reportez-vous aux instructions d'utilisation de l'anticorps primaire et des autres réactifs auxiliaires pour connaître les protocoles et les conditions d'utilisation recommandés. 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'investigateur de déterminer les conditions optimales.
8. 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.
9. Les tissus provenant de personnes infectées par le virus de l'hépatite B et contenant l'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) peuvent présenter une coloration non spécifique à la peroxydase de raifort.<sup>14</sup>
10. 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 pas être complètement éliminée en raison de la variabilité biologique de l'expression de l'antigène dans les néoplasmes ou d'autres tissus pathologiques.<sup>15</sup> Contactez le support technique de Biocare au 1-800-542-2002, ou via les informations de support technique fournies sur biocare.net, avec la ou les réaction(s) inattendue(s) documentée(s).
11. Les sérums normaux/non immuns provenant de la même source animale que les antisérums secondaires utilisés dans les étapes de blocage peuvent entraîner des résultats faussement négatifs ou faussement positifs en raison d'auto-anticorps ou d'anticorps naturels.
12. Des résultats faussement positifs peuvent être observés en raison de la 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 endogène de la peroxydase (cytochrome C) ou de la biotine endogène (par exemple, foie, sein, cerveau, rein) selon le type d'immunocolorant utilisé.<sup>13</sup>
13. Un résultat négatif signifie que l'antigène n'a pas été détecté, et non que l'antigène était absent des cellules ou des tissus examinés.

## Limitations spécifiques au produit :

*Aucune limitation supplémentaire spécifique au produit.*

## **Caractéristiques de performance:**

La coloration a été réalisée en utilisant les protocoles fournis dans les instructions d'utilisation spécifiques à l'anticorps ou comme spécifié. La sensibilité et la spécificité de la coloration ont été évaluées sur une gamme de types de tissus normaux et néoplasiques évalués au cours du développement d'anticorps primaires.

## Reproductibilité :

La reproductibilité des réactifs de contre-coloration de Biocare est vérifiée par une mesure de précision intermédiaire dans laquelle divers lots de réactifs ont été testés sur une longue période de temps en utilisant divers opérateurs, analystes, lots de réactifs, échantillons de tissus et équipements. La coloration obtenue pour chaque réactif de détection évalué était cohérente et réalisée comme prévu.

## **Dépannage:**

1. Aucune coloration des lames – Vérifiez pour déterminer si des tissus de contrôle positif, des anticorps et des produits de détection appropriés ont été utilisés. Vérifiez l'élimination ou le prétraitement de la cire incomplets ou inappropriés.
2. Faible coloration de toutes les lames – Vérifier pour déterminer si des tissus de contrôle positif, des anticorps et des 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 un excès d'interaction protéique non spécifique (utilisez une protéine bloc, comme une solution de blocage à base de sérum ou de caséine).
4. Les coupes de tissus lavent les lames pendant l'incubation – Vérifier les lames pour s'assurer qu'elles sont chargées positivement.
5. Coloration spécifique trop sombre – 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. *Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories*. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. *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.*
9. *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*
10. *College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry*. Northfield IL. <http://www.cap.org> (800) 323-4040.
11. 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.
12. 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.
13. Nadji M, Morales AR. *Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls*. *Lab Med* 1983; 14:767.
14. 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.
15. Herman GE and Elfont EA. *The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control*. *Biotech & Histochem* 1991; 66:194.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923

German

**BIOCARE**  
M E D I C A L

Available Product Formats	
Catalog Number	Volume
OPRI6087T60	60 Tests

## Verwendungszweck:

Für *in vitro* Diagnostische Verwendung

Das ONCORE Pro Hematoxylin ist für die Verwendung durch professionelle Laboranwender zur Visualisierung von Zellkernen in formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten (FFPE) Gewebeschnitten in manuellen oder automatisierten Verfahren vorgesehen. Es wird als Gegenfärbung bei immunhistochemischen (IHC) und chromogenen In-situ-Hybridisierungsanwendungen (CISH) verwendet. Es kann auch für die routinemäßige Hämatoxylin- und Eosin-Färbung verwendet werden. Die klinische Interpretation jeglicher Verfärbung oder ihres Fehlens sollte durch morphologische Studien und geeignete Kontrollen ergänzt und im Kontext der Krankengeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests durch einen qualifizierten Pathologen bewertet werden.

## Zusammenfassung und Erklärung:

ONCORE Pro Hämatoxylin ist wasserbasiert und wurde speziell für die Gegenfärbung mit dem automatisierten ONCORE Pro Färbegerät von Biocare entwickelt. ONCORE Pro Hämatoxylin färbt Kerne himmelblau und bietet eine kontrastreiche Färbung für chromogene Färbeverfahren.

## Verfahrensgrundsatz:

Wenn dieses Gegenfärbemittel auf vorbehandelte, formalinfixierte, in Paraffin eingebettete Gewebeschnitte aufgetragen wird, färbt es die Zellkerne in Gewebeschnitten und Zellpräparaten.

## Mitgelieferte Reagenzien:

Kit Catalog No.	Component Description	Quantity x Volume
OPRI6087T60	ONCORE Pro Hematoxylin	1 x 8.5 mL

## Bekannte Anwendungen:

Immunhistochemie (formalinfixierte, in Paraffin eingebettete Gewebe)

## Geliefert als:

Hämatoxylin-Lösung. Weitere Einzelheiten finden Sie im Sicherheitsdatenblatt.

## Rekonstitution, Verdünnung und Mischen:

Das ONCORE Pro Hematoxylin ist für die Verwendung mit Biocare-Antikörpern und Hilfsreagenzien optimiert und kann sofort mit Biocare IHC-Antikörpern und Hilfsreagenzien verwendet werden. Es ist keine Rekonstitution, Mischung, Verdünnung oder Titration erforderlich.

## Erforderliche, aber nicht bereitgestellte Materialien und Reagenzien:

Objektträger positiv geladen.  
Wüstenkammer\* (Trockenofen)  
Positive und negative Gewebekontrollen  
Xylol (Kann durch Xylol-Ersatz ersetzt werden\*)  
Ethanol oder Reagenzalkohol  
Enttarnungskammer\* (Schnellkochtopf)  
Entionisiertes oder destilliertes Wasser  
Waschpuffer\*  
Vorbehandlungsreagenzien\*

Enzymverdauung\*

Avidin-Biotin-Blockierungskits\* (nur gekennzeichnete Streptavidin-Kits)

Peroxidase-Block\* (Optional)

Proteinblock\* (Optional)

Primärantikörper\*

Negativkontrollreagenzien\*

Erkennungskits\*

Chromogene\*

Bläunungsreagenz\*

Eindeckmedium\*

ONCORE Pro Automatisierte Färbepattform\*

\* Produkte von Biocare Medical: Informationen zu Katalognummern und zur Bestellung finden Sie auf der Website von Biocare Medical unter <http://biocare.net>. Bestimmte oben aufgeführte Reagenzien basieren auf der spezifischen Anwendung und dem verwendeten Nachweissystem.

## Lagerung und Stabilität:

Bei Raumtemperatur und vor Licht geschützt 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. Die Reagenzien des Kits sind gebrauchsfertig und sollten nicht verdünnt werden. Die Stabilität des vom Benutzer verdünnten Reagenzes wurde von Biocare nicht nachgewiesen.

## Probenvorbereitung:

Zur Verwendung vor der Paraffineinbettung eignen sich in Formalin fixierte Gewebe. Knochengewebe sollte vor der Gewebearbeitung entkalkt werden, um das Gewebescheiden zu erleichtern und Schäden an den Mikrotomklingen zu verhindern.<sup>1,2</sup>

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.“<sup>3</sup>

## 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.<sup>4,5</sup>

## Warnung und Vorsichtsmaßnahmen:

1. Kit-Reagenzien enthalten weniger als 0,05 % ProClin 300 und/oder weniger als 1 % ProClin 950. Tragen Sie Handschuhe und Schutzkleidung und treffen Sie bei der Handhabung angemessene Vorsichtsmaßnahmen, da ProClin als reizend eingestuft ist und eine Sensibilisierung bei Hautkontakt verursachen kann. Kontakt mit Augen, Haut und Schleimhäuten vermeiden.
2. Behandeln Sie Materialien menschlichen oder tierischen Ursprungs als potenziell biologisch gefährlich und entsorgen Sie diese Materialien mit den entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen. Befolgen Sie im Falle einer Exposition die Gesundheitsvorschriften der zuständigen Behörden am Einsatzort.<sup>6,7</sup>
3. 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.<sup>8</sup>
4. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien kann zu einer Zunahme unspezifischer Färbungen führen.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent  
901-6087-082923


German

**BIOCARE**  
M E D I C A L

5. Andere als die angegebenen Inkubationszeiten oder Temperaturen können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Der Benutzer muss jede solche Änderung validieren.
6. Verwenden Sie das Reagenz nach dem auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfallsdatum nicht mehr.
7. Die Reagenzien des Mikropolymer-Nachweiskits sind optimiert und können mit Biocare-Antikörpern und Hilfsreagenzien verwendet werden. Empfohlene Protokolle und Verwendungsbedingungen finden Sie in den Gebrauchsanweisungen für Primärintikörper und andere Hilfsreagenzien.
8. Befolgen Sie die Anforderungen der örtlichen und/oder staatlichen Behörden hinsichtlich der Entsorgungsmethode.
9. Das Sicherheitsdatenblatt ist auf Anfrage erhältlich und befindet sich unter <http://biocare.net>.
10. Melden Sie alle schwerwiegenden Vorfälle im Zusammenhang mit diesem Gerät, indem Sie sich an die örtlichen Behörden wenden

Biocare-Vertreter und die zuständige Behörde des Mitgliedstaats oder Landes, in dem der Benutzer ansässig ist.

Dieses ONCORE Pro Hämatoxylin enthält Komponenten, die gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 wie in der folgenden Tabelle angegeben klassifiziert sind

Gefahr	Code	Gefahrenhinweis
	H315 H319	Verursacht Hautreizungen. Verursacht schwere Augenreizung.

## Gebrauchsanweisung:

Die ONCORE Pro Hämatoxylin-Reagenzien sind für die Verwendung mit Biocare-Antikörpern und Hilfsreagenzien optimiert. Die empfohlenen Protokolle und Verwendungsbedingungen finden Sie in den Informationen zu den primären Antikörpern. Die Inkubationszeiten und -temperaturen variieren je nach dem spezifischen Antikörperprotokoll.

Wenn Sie ein automatisiertes Färbegerät verwenden, konsultieren Sie die jeweilige Bedienungsanleitung und Gebrauchsanweisung des Geräts zu den Betriebsparametern.

## Gebrauchsanweisung:

ONCORE Pro Hämatoxylin wird in Fläschchen zur Verwendung auf dem ONCORE Pro Automated Slide Stainer bereitgestellt. Öffnen Sie den Deckel des Fläschchens und legen Sie es in das ONCORE Pro-Reagenztablett. Der ONCORE Pro Automated Slide Stainer trägt das Reagenz entsprechend dem ausgewählten Protokoll auf. Das empfohlene Färbeprotokoll finden Sie im entsprechenden Antikörperdatenblatt. Ausführliche Anweisungen zum Gerätebetrieb und zu zusätzlichen Protokolloptionen finden Sie im Benutzerhandbuch des ONCORE Pro Automated Slide Staining System.

## Technische Hinweise:

1. Filtern Sie das Produkt mit einem 0,4-Mikron-Filter, wenn Partikel sichtbar sind.
2. Biocare Medical verwendet nur Färbemittel, die von der Biological Stain Commission zertifiziert sind. ONCORE Pro Hämatoxylin wurde speziell entwickelt, um eine Differenzierung der Abschnitte überflüssig zu machen. HINWEIS: Der größte Einwand gegen Mayers Hämatoxylin, wie es in der Vergangenheit verwendet wurde, war, dass gefärbte Objektträger oft nach 1–3 Jahren verblassen. Dieses Problem kann jedoch behoben werden, wenn die Objektträger nach der Hämatoxylin-Behandlung mindestens 3–4 Minuten lang unter fließendem Wasser gewaschen werden.

HINWEIS: Forschungsstudien von Biocare zeigen, dass der pH-Wert von Leitungs- und DI-Wasser zum Spülen von Objektträgern die Färbung beeinflussen kann. Der pH-Wert kann in verschiedenen Regionen des Landes saisonal von sauer zu basisch wechseln. Darüber hinaus wurde berichtet, dass es in einigen Bundesstaaten von morgens bis nachmittags zu Veränderungen im Leitungswasser kam. Lange Spülzeiten nach dem Bläuen können zur Differenzierung von Hämatoxylin führen. Wir haben unsere Spülzeit auf 3–4 Minuten geändert, statt wie bisher auf 7–10 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](http://www.clsi.org)). 2011

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 Reagenz vermutet wird, wenden Sie sich an den technischen Support von Biocare unter 1-800-542-2002 oder über die technischen Supportinformationen auf [biocare.net](http://biocare.net).

## Positive Gewebekontrolle:

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.

Bekannte 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.

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

German

**BIOCARE**  
M E D I C A L

## Negative Gewebekontrolle:

Verwenden Sie bei jedem Färbedurchlauf eine negative Gewebekontrolle, die auf die gleiche Weise wie die Patientenprobe(n) fixiert, verarbeitet und eingebettet ist, um die Spezifität des IHC-Primärantikörpers 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 Primärantikörpers 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 Antikörper, der auf die gleiche Weise wie der Primärantikörper hergestellt und vorbereitet (d. h. mit demselben Verdünnungsmittel auf die gleiche Konzentration verdünnt) wurde, aber keine spezifische Reaktivität mit menschlichen Geweben in derselben Matrix/Lösung wie Biocare zeigt Antikörper. Die Verwendung von Verdünnungsmittel allein kann eine weniger wünschenswerte Alternative zu den zuvor beschriebenen negativen Reagenzkontrollen sein. Die Inkubationszeit der Negativreagenzkontrolle sollte der des Primärantikörpers entsprechen.

Wenn Panels mit mehreren Antikörpern auf Serienschnitten 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-Zertifizierungsprogramms® für Immunhistochemie und/oder die NCCLS IHC-Leitlinie<sup>1</sup>. 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:

Ein Primärantikörper arbeitet mit Hilfsreagenzien zusammen, um an den vom Primärantikörper lokalisierten Antigenstellen eine farbige Reaktion hervorzurufen. Hintergrundblocker-Hilfsreagenzien tragen dazu bei, unspezifische Hintergrundfärbungen zu reduzieren, um die Interpretation der

Antikörper-Antigen-spezifischen Färbereaktion zu erleichtern. Vor der Interpretation der Patientenergebnisse muss die Färbung der Kontrollen von einem qualifizierten Pathologen beurteilt werden. Negativkontrollen werden ausgewertet und mit gefärbten Objektträgern verglichen, um sicherzustellen, dass die beobachtete Färbung nicht auf unspezifische Wechselwirkungen zurückzuführen ist.

## 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.<sup>2</sup>

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.

## 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.

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

## **Einschränkungen:**

### Allgemeine Einschränkungen:

1. Für *in vitro* diagnostische (IVD) Verwendung

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

German

**BIOCARE**  
M E D I C A L

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. Nur auf ärztliche Verschreibung anwenden. (Nur Rx)
4. 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, Antikörpereinschlüssen oder falsch negativen Ergebnissen führen. Inkonsistente Ergebnisse können auf unterschiedliche Fixierungs- und Einbettungsmethoden oder auf inhärente Unregelmäßigkeiten im Gewebe zurückzuführen sein.<sup>12</sup>
5. Übermäßiges oder unvollständiges Gegenfärben kann die korrekte Interpretation der Ergebnisse beeinträchtigen.
6. 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.
7. Die optimalen Protokolle für eine bestimmte Anwendung können variieren. Dazu gehören unter anderem Fixierung, Wärmerückgewinnungsmethode, Inkubationszeiten, Antikörperverdünnung, Gewebeschnittstärke und das verwendete Nachweiskit. Empfohlene Protokolle und Verwendungsbedingungen finden Sie in den Gebrauchsanweisungen für Primärantikörper und andere Hilfsreagenzien. 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.
8. Dieses Produkt ist nicht für die Verwendung in der Durchflusszytometrie bestimmt. Für die Durchflusszytometrie wurden keine Leistungsmerkmale ermittelt.
9. Gewebe von Personen, die mit dem Hepatitis-B-Virus infiziert sind und Hepatitis-B-Oberflächenantigen (HBsAg) enthalten, können eine unspezifische Färbung mit Meerrettichperoxidase aufweisen.<sup>14</sup>
10. 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.<sup>15</sup> Kontaktieren Sie den technischen Support von Biocare unter 1-800-542-2002 oder über die technischen Supportinformationen auf biocare.net mit dokumentierten unerwarteten Reaktionen.
11. 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.
12. 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.<sup>13</sup>
13. Ein negatives Ergebnis bedeutet, dass das Antigen nicht nachgewiesen wurde und nicht, dass das Antigen in den untersuchten Zellen oder im untersuchten Gewebe fehlte.

## Produktspezifische Einschränkungen:

*Keine zusätzlichen produktspezifischen Einschränkungen.*

## **Leistungsmerkmale:**

Die Färbung wurde unter Verwendung der Protokolle durchgeführt, die in der spezifischen Gebrauchsanweisung des Antikörpers enthalten sind oder wie angegeben. Die Sensitivität und Spezifität der Färbung wurde für eine Reihe normaler und neoplastischer Gewebetypen bewertet, die während der Entwicklung von Primärantikörpern untersucht wurden.

## Reproduzierbarkeit:

Die Reproduzierbarkeit der Gegenfärbungsreagenzien von Biocare wird durch eine Messung mittlerer Präzision überprüft, bei der verschiedene Reagenzienchargen über einen längeren Zeitraum unter Verwendung verschiedener Bediener, Analysten, Reagenzienchargen, Gewebeproben und Geräte getestet wurden. Die für jedes ausgewertete Nachweisreagenz erhaltene Färbung war konsistent und verlief wie erwartet.

## **Fehlerbehebung:**

1. Keine Färbung der Objektträger – Überprüfen Sie, ob geeignetes positives Kontrollgewebe, Antikörper und Nachweisprodukte verwendet wurden. Überprüfen Sie, ob die Wachsentrufung oder Vorbehandlung unvollständig oder unsachgemäß erfolgt ist.
2. Schwache Färbung aller Objektträger – Überprüfen Sie, ob geeignetes positives Kontrollgewebe, Antikörper und Nachweisprodukte verwendet wurden.
3. Übermäßiger Hintergrund auf allen Objektträgern – Möglicherweise liegen hohe Mengen an endogenem Biotin vor (bei Verwendung biotinbasierter Nachweisprodukte), endogene HRP-Aktivität, die Chromogen in ein farbiges Endprodukt umwandelt (Peroxidase-Block verwenden), oder übermäßige unspezifische Proteininteraktion (Verwenden eines Proteins). (z. B. eine Serum- oder Casein-basierte Blockierungslösung).
4. Gewebeschnitte werden während der Inkubation von den Objektträgern abgewaschen – Überprüfen Sie die Objektträger, um sicherzustellen, dass sie positiv geladen sind.
5. 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 Waschstufen enthält, um überschüssige Reagenzien nach Abschluss der Inkubationsschritte zu entfernen.

## **Verweise:**

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. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. 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.
9. 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

# ONCORE Pro Hematoxylin

Counterstain Reagent

901-6087-082923

German

**BIOCARE**  
M E D I C A L

10. College of American Pathologists (CAP) Certification Program for Immunohistochemistry. Northfield IL. [Http://www.cap.org](http://www.cap.org) (800) 323-4040.
11. 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.
12. 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.
13. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767.
14. 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.
15. Herman GE and Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech & Histochem 1991; 66:194.