

【产品名称】

Ki-67 抗体试剂（免疫组织化学）

【包装规格】

	货号	规格	稀释比
浓缩液	I11291A	0.1mL/瓶	1:100-1:200
	I11291B	1.0mL/瓶	
工作液	I11292C	1.5mL/瓶	N/A
	I11292D	3.0mL/瓶	
	I11292E	7.0mL/瓶	
	I11292F	0.3mL/瓶	

【预期用途】

在常规染色（如：HE染色）基础上进行免疫组织化学染色，为医师提供诊断的辅助信息。

【检测原理】

本试剂基于免疫组织化学检测原理：切片经抗原热修复处理后与一抗试剂进行孵育，在原位形成一抗与目标抗原的抗原-抗体复合物；抗原-抗体复合物中一抗分子再与辣根过氧化物酶（HRP）标记的聚合物二抗通过孵育结合，在原位进一步形成抗原-抗体-二抗聚合物的复合物；最后通过HRP催化二氨基联苯胺（DAB）在抗原部位形成棕色沉积物。光学显微镜下通过观察棕色部位来确定是否有目标抗原及其表达情况。

【主要组成成分】

本品为纯化兔单克隆抗体经稀释配制而成。所含的抗体为兔抗人Ki-67单克隆抗体，克隆号：BP6132。

其他需要但未提供的试剂材料：

PBST缓冲液（pH7.2-7.4）、酶标羊抗鼠/兔IgG聚合物、DAB显色液、Tris-EDTA修复液、30%过氧化氢、塑料湿盒、染色缸、染色架、纯化水、酒精、环保透明脱蜡液、苏木素染液、中性树胶、盖玻片、阴阳性对照片。

【储存条件及有效期】

储存条件：2-8℃，有效期12个月。

请在开瓶3个月内使用。

生产日期、有效期至：见标签。

【样本要求】

医院临床取材的组织标本离体后，应立即浸泡在含10%中性福尔马林的固定液中固定，固定时间为12-24小时。参照《临床技术操作规范 病理学分册》中要求进行常规取材、脱水、透明、浸蜡、石蜡包埋并制成蜡块。

组织蜡块应切成厚度为3-4μm的组织切片，黏附在经防脱处理的载玻片上，进行常规烤片后，放置冷却至室温。样本组织切片制备后保存条件为避光、室温，但为了良好地重现组织中抗原分布情况，要在30天内完成检测。

【检测方法】

1.石蜡切片经常规脱蜡和水化后，清洗切片。

2.组织抗原热修复

a) 在高压锅中加入适量的 1×Tris-EDTA。

b) 加热高压锅，待抗原修复液沸腾后，将染色架放入修复液中，然后盖上高压锅的盖子，继续加热。

c) 待高压锅阀门开始均匀吹气时开始计时，2分钟后关火，自然冷却至室温。

3.修复后的切片用自来水清洗切片。

4.用纯化水将30%过氧化氢稀释10倍，配制成3%的过氧化氢。将装有切片的染色架放入盛有3%过氧化氢的染色缸中浸泡10分钟，确保液面没过组织上缘。取出后用自来水清洗切片。

5.除去切片上残留的水，用免疫组化笔圈定玻片上的待测组织区域并放入PBST缓冲液中。

6.除去PBST缓冲液，每张切片滴加3滴Ki-67抗体试剂（视切片大小以完全覆盖切片组织为宜），室温下孵育30分钟。PBST缓冲液清洗切片。

注：工作液可直接滴加，浓缩液需按推荐稀释度配制工作液后使用。

7.除去PBST缓冲液，每张切片加酶标羊抗鼠/兔IgG聚合物100μL左右（视切片大小以完全覆盖切片组织为宜），室温下孵育30分钟。PBST缓冲液清洗切片。

8. 用新鲜配制的DAB显色液进行显色，每张切片加100μL左右DAB显色液（视切片大小以完全覆盖切片组织为宜），显色时间为1-5分钟（镜检控制染色），用自来水冲洗终止显色反应。

9.自来水冲洗，使用苏木素染液复染。

10.切片经过脱水，透明，封片。

11.光学显微镜下观察待测组织的染色情况，染色结果应由有资质的病理医生判断。

注：为了保证检测质量，每批实验建议同时设置阴阳性对照和空白对照；若将本试剂应用于自动检测平台，需根据实际情况确认反应条件。

【检测结果的解释】

1.在阴阳性对照和空白对照显色正常前提下，组织切片中预期细胞的细胞核部位呈棕色，无背景染色，则判定为阳性；组织切片中预期细胞无棕色，则判定为阴性。

2.在实验操作正常前提下，阳性对照出现阴性结果，则判为假阴性，该批实验结果无效，建议重新进行免疫组化实验或者联系试剂生产厂家。

导致假阴性结果的原因可能有：抗原修复不当；一抗、二抗种属匹配错误；抗体试剂过期；质控片放置时间过长等。

3.在实验操作正常前提下，阴性对照出现阳性结果，则判为假阳性，该批实验结果无效，建议重新进行免疫组化实验或者联系试剂生产厂家。

导致假阳性结果的原因可能有：抗原修复过度、抗体孵育时间过长、温度过高、显色时间过长等造成非特异性结合。

4.空白对照出现阳性染色结果，说明试剂使用过程中存在误操作，该

批实验结果无效。建议在排除原因后，重新进行检测。

【检测方法的局限性】

- 1.免疫组织化学是一种多步骤的检测过程，样本处理、试剂选择、实验操作等任一环节的不规范操作都有可能影响最终的实验结果。
- 2.专业的操作人员、经过认证的实验室将有助于实现检测过程的标准化，从而减少由于各种外界因素造成的染色偏差。
- 3.必须由有经验的病理专家结合临床病史、形态学和其他组织病理学标准来评估染色结果。
- 4.在免疫组化测试中如出现阴性结果，表示未检测出抗原，而不是经测定的细胞或者组织中不存在该抗原。

【产品性能指标】

产品性能符合本企业制定的产品技术要求。

【注意事项】

- 1.本试剂仅用于体外诊断，不作其他用途。
- 2.开始实验前，应仔细阅读此说明书。
- 3.请在试剂有效期内使用。
- 4.本试剂仅限有专业经验或经专业培训的人员使用。
- 5.若将本产品中的组分和其他公司的产品混合使用，染色过程中可能出现异常情况。
- 6.实验过程中的脱蜡液和梯度酒精应定期更换，以免影响检测效果。
- 7.避免试剂接触眼睛和粘膜，如接触到敏感区域，立即用大量清水冲洗。
- 8.采用适当的防护措施，比如操作者穿戴乳胶手套、口罩、护目镜、实验服等进行安全操作。
- 9.使用中所产生的各种废弃物都应按《医疗废物管理条例》处理。
- 10.每次检测均应设置阴阳性对照及空白对照。

【标识的解释】



体外诊断医疗器械



批次代码



货号



2-8°C保存



制造日期



使用期限

【参考文献】

1. Yerushalmi R , Woods R , Ravdin P M , et al. Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential.[J]. Lancet Oncology, 2010, 11(2):174-183.
2. Fasching P A , Heusinger K , Haeberle L , et al. Ki67, chemotherapy response, and prognosis in breast cancer patients receiving neoadjuvant treatment[J]. BMC Cancer, 2011, 11(1):486.
3. 中华医学会.《临床技术操作规范·病理学分册》.人民军医出版社, 2004.

【基本信息】

备案人/生产企业：图凌（杭州）生物医药有限公司

住所：浙江省杭州市滨江区长河街道滨安路 688 号 5 幢 1702 室

联系电话：0571- 88177683 传真：0571- 88177681

售后服务单位：图凌（杭州）生物医药有限公司

联系方式：0571- 88177683

生产地址：浙江省杭州市滨江区长河街道滨安路 688 号 5 幢 1702 室

生产备案凭证编号：浙杭食药监械生产备 20180068 号

【医疗器械备案凭证编号/产品技术要求编号】

浙杭械备 20190970 号

【说明书核准日期】 2019 年 12 月 10 日