

EBER 探针（原位杂交法）说明书

【产品名称】

EBER 探针（原位杂交法）

【包装规格】

货号	规格
I12432A	10 测试/盒
I12432B	50 测试/盒
I12432C	100 测试/盒
I12432D	200 测试/盒

【预期用途】

通过原位杂交（ISH）法检测福尔马林固定石蜡包埋的组织切片中表达的E-B病毒编码的RNA (EBER)。临床上为医师提供诊断的辅助信息。

【检测原理】

本试剂盒根据 EBER 的特有序列设计的 EBER 单链 DNA 探针能特异地与 EBER 靶序列互补、杂交，从而检测 EB 病毒是否存在。切片经过抗原热修复处理后加入地高辛标记的探针与细胞组织上的核酸靶点杂交；再加入抗地高辛抗体（一抗）来识别组织切片上地高辛标记的靶点；再与辣根过氧化物酶（HRP）标记的聚合物二抗通过孵育结合，在原位形成核酸靶点-一抗-二抗复合物；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】

本品由地高辛标记的探针构成。
其他需要但未提供的试剂材料：
PBST 缓冲液（pH7.2-7.4）、Tris-EDTA 修复液、纯化水、酒精、环保透明脱蜡液、免疫组化笔、中性树胶、塑料湿盒、染色缸、染色架、盖玻片、阴阳对照片等。

【储存条件及有效期】

储存条件：2-8℃，有效期18个月。
请在开瓶3个月内使用。
生产日期、有效期至：见标签。

【适用仪器】

全自动免疫组化染色机。

【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】

选择需检验的组织切片、试剂类型以及实验数量，通过软件进行“试剂设置”步骤、“玻片设置”步骤、“程序设置”步骤等相关设置，确定染色运行程序，打印标签，对应的组织切片上贴好标

签，将贴好标签的玻片和试剂放入染色机中进行质检，质检通过后，进入染色程序，如下：

- 1.在操作界面任务栏选择“新玻片”进入“玻片设置”界面。
- 2.选择“添加病例”进入“编辑病例”界面，填写病例ID、患者姓名、病例注释等相关信息。
- 3.确定后进入“编辑玻片”界面，填写玻片注释，染色方法选择“单染”“常规”。
- 4.程序选择
 - 1) 处理：选择“原位杂交（ISH）”；
 - 2) 标记：无需勾选；
 - 3) 染色程序：选择“ISH+免疫显色试剂”；
 - 4) 制备程序：选择“烤片和脱蜡”
 - 5) 抗原热修复程序：选择“抗原修复 碱修20”
- 5.程序选择完毕，即可开始染色程序，待程序运行结束后，取出切片。
- 6.切片经过脱水，透明，封片。
- 7.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；若将本试剂应用于手工平台，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，建议重新进行原位杂交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；探针杂交出错；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，建议重新进行原位杂交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.原位杂交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。

【产品性能指标】

- 1.外观和性状

外包装标识清晰准确，试剂为均一的液体。

2.净含量不低于标示量。

3.符合性

阳性对照组织 EBER 阳性的鼻咽癌/EBER 阳性伯基特淋巴瘤或其它阳性组织的肿瘤细胞细胞核染色结果呈阳性；阴性对照组织周围淋巴组织及正常组织/或其它阴性组织细胞染色结果呈阴性。

4.批内重复性

同一批次试剂对同一组织来源的组织切片染色强度和定位无明显差异。

5.批间重复性

不同批次试剂对同一组织来源的组织切片染色强度和定位无明显差异。

【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. 李琳, 田玉旺, 朱红艳,等. 应用EBER原位杂交检测EB病毒的体会[J]. 诊断病理学杂志, 2011, 18(4):2.

2. Clarke P A , Sharp N A , Clemens M J . Translational control by the Epstein-Barr virus small RNA EBER-1. Reversal of the double-stranded RNA-induced inhibition of protein synthesis in reticulocyte lysates.[J]. Febs Journal, 2010, 193(3):635-641.

3. Gul G , Zcan M A , Zkal S . EBER In Situ Hybridization Experience In Hodgkin Lymphoma[J]. 2021.

【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 20230168

【说明书核准日期及修改日期】 2023 年 03 月 30 日