**行业指南**

**FDA免疫组化应用提交指南**

**发布日期：1998年6月3日**

**美国卫生与公众服务部  
食品药品监督管理局  
器械与放射健康中心**

**免疫学分部  
临床实验室器械部  
器械评估办公室**

**前言**

**公共评论**

评论和建议可以随时提交给食品药品监督管理局，器械与放射健康中心（HFZ-440），Joseph L. Hackett博士，地址：2098 Gaither Road，Rockville，MD 20850，电话：（301）594-3084，Email：[JLH@cdrh.fda.gov](mailto:JLH@cdrh.fda.gov)，供机构审议。可能直到文件下次修订或更新时，评论才会被机构受理。有关本指南使用或解释的问题，请联系食品药品监督管理局，器械与放射健康中心（HFZ-440），Max Robinowitz博士，地址：2098 Gaither Road，Rockville，MD 20850，电话：（301）594-1293，Email：MYR @ cdrh.fda.gov。

**其他副本**

万维网／CDRH / [特定网页]主页：http：//www.fda.gov/cdrh/，或CDRH资源索取自动回传系统拨打电话1-800-899-0381或301-827-0111，提示输入文件索取号时输入指定数字364。

**[第1节简介](#_Toc477525681)** [1](#_Toc477525681)

[1.1 目的 1](#_Toc477525682)

[1.2](#_Toc477525683) [背景 1](#_Toc477525684)

[1.3 范围 2](#_Toc477525685)

[1.4 目标受众 2](#_Toc477525686)

[1.5 文件组织架构 2](#_Toc477525687)

[1.6 与其他文件的关系 3](#_Toc477525688)

[1.7 术语 3](#_Toc477525689)

[1.8 分类：21 CFR 864.1860免疫组化试剂和试剂盒 4](#_Toc477525690)

**[第2节关注水平](#_Toc477525691)** [4](#_Toc477525691)

[2.1 涉及IHC’s的安全性和有效性问题 4](#_Toc477525692)

[2.2 FDA对IHC’s的上市前审查 5](#_Toc477525693)

**[第3节上市前提交的文件](#_Toc477525694)** [6](#_Toc477525694)

[3.1 II类IHC’s提交的有效科学数据／信息：数据的类型和充分性 6](#_Toc477525695)

[3.2 分析性能特征：抗原／抗体表征 6](#_Toc477525696)

[3.3 所有类别的IHC’s与一组正常组织或细胞的免疫反应性的确认和验证 6](#_Toc477525697)

[3.4 一组正常组织使用的样本特征 7](#_Toc477525698)

[3.4.1 一组正常组织的研究目的 7](#_Toc477525699)

[3.5 通过临床上具有显著特征的一组组织或与已被广泛接受的参考方法对比来确认和验证II类IHC’s的免疫反应性 8](#_Toc477525700)

[3.6 II类IHC’s的临床重要结果的预测或预后的量化结果声明 9](#_Toc477525701)

[3.7 对比研究中的差异 9](#_Toc477525702)

[3.8 II类IHC’s的灵敏度和特异性检测 9](#_Toc477525703)

[3.9 用户给制造商的IHC性能验证的建议 9](#_Toc477525704)

[3.10 III类IHC’s的确认 10](#_Toc477525705)

[3.11 包装说明书的反应性总结 10](#_Toc477525706)

[3.11.1 包装说明书的预期染色反应性的显微照片（可选） 10](#_Toc477525707)

[3.12 安全性和有效性的有效科学证明文件，以支持II类IHC’s的预期用途 10](#_Toc477525708)

[3.13 现行良好制造规范（cGMP）现在是FDA质量体系规章的一部分（1997年6月） 11](#_Toc477525709)

[3.13.1 稳定性研究](#_Toc477525710)[4](#_Toc477525710)[： 11](#_Toc477525710)

[3.13.2 IHC试剂的处理、储存和稀释 11](#_Toc477525711)

[3.13.3 制造商质量控制发布标准方案 11](#_Toc477525712)

**[第4节包装说明制造商说明](#_Toc477525713)** [11](#_Toc477525713)

[4.1 除了21 CFR§809.10（b）中给出的建议和建议的格式1-3之外，还要考虑以下建议： 12](#_Toc477525714)

[4.1.1 产品命名 12](#_Toc477525715)

[4.1.2 预期用途 12](#_Toc477525716)

[4.1.3 器械的总结和说明 12](#_Toc477525717)

[4.1.4 提供的试剂 12](#_Toc477525718)

[4.1.5 程序 13](#_Toc477525719)

[4.1.6 局限性 13](#_Toc477525720)

[4.1.7 预期结果 13](#_Toc477525721)

[4.1.8 用于起草包装说明书建议的参考文献 14](#_Toc477525722)

**[附录A：FDA对IHC应用基于风险的评估](#_Toc477525723)** [16](#_Toc477525723)

**[附录B：申办者申请II类IHC’s时所需的完整性清单](#_Toc477525724)** [17](#_Toc477525724)

**[附录C：实现IHC’s特异性所需的正常组织来源](#_Toc477525725)** [18](#_Toc477525725)

**[附录D：用于记录每一组织的IHC染色结果的工作表，这些组织被测试以协助准备包装说明书总结](#_Toc477525726)** [20](#_Toc477525726)

**[附录E：在包装说明书中何处总结组织中II类IHC染色反应性的结果](#_Toc477525727)** [21](#_Toc477525727)

**[附录F：IHC抗体包装说明书模板](#_Toc477525728)** [21](#_Toc477525728)

**[附录G：包装说明书中IHC抗体的科学文档完整性清单](#_Toc477525729)** [33](#_Toc477525729)

**表**

**表1：日常质量控制的目的 30**

**第1节简介**

1.1 目的

本指导性文件取代和修订了1995年3月28日发布的“FDA免疫组化应用提交资料的指南草案”，取代和修订的根据为FDA良好指导规范（GGP's），FR文档编号95P-0110和FDA医疗器械；免疫组化器械的分类／再分类，FR文件编号94P-0341。

不强制使用本指南。符合相关法令或法规的替代方法是可接受的。然而，本指南旨在作为以下FDA法规的指导和解释，特别是21 CFR§809.10（b）和21 CFR§864.1860。其并不取代这些法规。本指南（1）更新了生物染色委员会和FDA先前发布的制造商IHC包装说明书的模板，“建议格式：用于免疫组化产品的包装说明书”1；（2）纳入由免疫组化制造商联合委员会（JCIM）2开发的包装说明书建议模板；和（3）修订本指南的先前版本，“FDA免疫组化应用提交资料的指南草案，1995年3月28日”。

本指导性文件旨在指导（1）免疫组化器械（IHC’s）的加工、完善和评估／提交批准；(2) IHC器械的设计、生产、制造和测试；（3）确定FDA工作人员和／或旨在实现机构监管方法一致性的公共政策；和（4）旨在确定作为根据21 CFR§864.1860的II类免疫组化（IHC）体外诊断器械（IVD）的特殊控制。

作为II类免疫组化器械（IHC’s）的特殊控制，本指导性文件（1）提供应由申办者提供的有效科学证据的类型和数量，为申办者对IHC器械安全有效地进行性能索赔提供合理保证，以及（2）依据21C.FR§809.10，对IHC器械的包装说明书提供可接受语言的模板。

本指南在附录中提供清单，以协助IHC制造商准备其上市前提交资料，也协助审查IHC提交资料的FDA审查员。

1.2 背景

这是FDA免疫组化指南1997年12月8日的版本。它由CDRH管理层和OGC工作人员审核后发布。作为对免疫组化制造商联合委员会（JCIM）、专业组织、病理学家个人和实验室科学家以及ODE / DCLD的评论的回应，该版本包括了FDA对1995年3月免疫组化指南进行的修订。该指南被编辑为II类IHC体外诊断器械的特殊控制，并且保留了先前版本中应对各类别IHC的一般控制问题的建议。该文件遵循FDA良好指导规范的建议。

1.3 范围

本指导性文件基于FDA对IHC器械提交的经验，并纳入FDA免疫组化研讨会上提出的科学和法规信息：1994年6月28 - 29日举行的科学和法规问题研讨会，以及1994年10月21日举行的血液学和病理学器械小组会议，与会人士有行业代表、科学组织、病理学家和其他实验室科学家（实验室工作人员）；以及来自行业代表、科学组织、病理学家、其他实验室工作人员以及小企业管理局对FR通知文档编号94P-0342的评论。

1.4 目标受众

本指导性文件预期供FDA CDRH器械评估办公室（ODE）审查员、医疗器械行业和其他相关方使用。

1.5 文件组织架构

本文件包括4节和8个附录。

* 第1节（简介）描述目的，背景，范围，目标受众，文件组织架构，与其他文件的关系和术语。
* 第2节（关注水平）解释了关注水平与审查上市前提交的关系。
* 第3节（上市前提交的文件）确定了上市前提交应包括哪些信息要素。
* 第4节（制造商的包装说明书）确定并说明了21 CFR 809.10的标签要求。
* 附录A（FDA对IHC的应用基于风险的评价）总结了IHC’s上市前风险评定中提出的问题。
* 附录B（II类IHC’s完整制造商提交资料的清单）列出了II类IHC’s的上市前提交的组成部分。
* 附录C（实现IHC’s特异性所需的正常组织类型）列出了可用于实现I，II或II类IHC’s特异性的正常组织类型。
* 附录D（用于记录每一受试组织的IHC染色结果的工作表，用于协助准备包装说明书里的测试结果总结）是记录由制造商申办的染色研究结果的工作表的模板。
* 附录E（在包装说明书中总结组织中II类IHC染色反应性的结果）确定了IHC’s的染色结果和性能特征在包装说明书中的位置。
* 附录F（IHC包装说明书模板）是II类IHC’s包装说明书依据21 CFR 809.10标签要求进行的叙述性描述。
* 附录G（包装说明书中IHC的完整科学文件的清单）是附录F中所述项目的清单。

1.6 与其他文件的关系

本文是一份指导性文件。FDA和器械制造商通过使用指导性文件提供一种满足法规和政策的方法。也可以通过合适的国家和国际共识标准来实现或证明合规性。

1.7 术语

确定免疫组化器械（IHC’s）及其预期用途和适应症

小组：血液学和病理学

法规编号：21 CFR§864.1860

鉴定：免疫组化试剂和试剂盒

免疫组化测试系统（IHC’s）是由多克隆或单克隆抗体组成的体外诊断器械，标记有使用说明和性能声明，可以与试剂盒中的辅助试剂一起包装。其的预期用途是通过免疫学技术鉴定组织或细胞学试样中的抗原。根据该规定，用于流式细胞术器械的类似器械不属于IHC’s。

本指南不适用于（1）单克隆或多克隆抗体的分析物特异性试剂（ASR），制造商不对其进行分析或临床性能声明，并且不提供使用说明；（2）用于检测DNA或RNA序列的基于核苷酸碱基器械，例如原位杂交；（3）流式细胞术产品；或（4）用于检测或测量组织或细胞学试样中传染病的病原体的IHC’s。涵盖这些产品领域的其他分类和指导性文件。

1.8 分类：21 CFR§864.1860免疫组化试剂和试剂盒

I类IHC’s（一般控制）。I类IHC’s向病理学家提供可以纳入病理学家报告中的辅助诊断信息，但是通常不作为独立发现向临床医生报告。这些IHC’s在通过常规组织病理学采用非免疫组化染色如苏木精和伊红进行肿瘤（瘤）初步诊断后使用。I类IHC’s的实例是分化标记物，例如角蛋白。I类IHC’s受一般控制，包括目前的药品生产质量管理规范。I类IHC’s豁免510（k）。

II类IHC’s（特别控制／指导性文件）。II类IHC’s旨在通过免疫学技术检测和／或测量某些目标分析物，以提供未由常规组织病理学内部和外部对照试样直接证实的预后和预测数据。这些IHC’s向病理学家提供诊断信息，这些诊断信息通常向临床医生报告为独立诊断信息，且有效的科学证据广泛接受并支持与数据相关的声明。II类IHC’s的实例是用于半定量测量分析物，例如乳腺癌中的激素受体。

III类IHC’s（上市前批准）。这些IHC’s是不符合I类或II类标准的IHC’s，或符合这些标准但提出新的安全性和有效性问题的IHC’s。实例是用于鉴定声称是临床上显著性基因突变并且不能由常规组织病理学内部和外部对照试样证实的组织中新的靶向分析物的标记物。

**第2节关注水平**

FDA / CDRH使用术语“关注水平”作为损伤严重程度的估计，即，由于潜在故障、设计缺陷或使用医疗器械，器械允许对患者或操作者造成（直接或间接）伤害的严重性。与医疗器械产品有关的上市前审查程序的程度与关注水平成正比。

2.1 涉及IHC’s的安全性和有效性问题

免疫组化器械（IHC）作为体外诊断医疗器械受到FDA的监管。IHC’s包括旨在用于患者诊断的单克隆一抗或多克隆一抗，无论是以试剂盒形式包装还是作为预稀释试剂单独销售，或作为未稀释（纯）或浓缩的一抗试剂。

IHC二抗和染色试剂是IHC一抗的辅助试剂。尽管这些辅助试剂是组织和细胞的最终免疫组化染色所必需的，但是其仅在作为一种或多种一抗的完整性测试系统的组件包装时才受21CFR§864.1860的约束。

IHC的安全性涉及其提供的诊断信息是否可能导致患者样本的误诊断。IHC器械的有效性涉及器械检测和／或测量患者样本中预期分析物的性能特征。

2.2 FDA对IHC’s的上市前审查

FDA的IHC’s的上市前审查基于器械的风险和收益。该过程如附录A中所述。FDA的审查涵盖了以下受试者：

提交的文件应包含充分、适当、有效的科学证据，用于合理保证IHC器械的预期用途的安全性和有效性。该证据可以基于（1）由申办者提供的测试数据；（2）研究和调查的参考文献，可以适当且足以表明相同或等效的IHC器械用于类似预期用途的安全性和有效性；和／或（3）未来国家或国际科学研讨会或由FDA主办的小组会议的共识评价。

如果证明II类IHC’s实质等同于合法上市的比较IHC器械，即在组织或细胞中检测或测量到实质等效的抗原，则有资格获得510（k）许可。

510（k）实质等同的确定要求预期使用中不存在安全性和有效性的新问题（1990年安全医疗器械修正案）。IHC的安全性和有效性与申办者对IHC的预期或暗示的用途以及根据IHC的医学理解用于诊断信息的临床适应症有关。

FDA对IHC（21 CFR§860.7）要求的有效科学证据的类型和数量取决于（1）使用来自测试的诊断信息作为独立测试和／或作为一组测试的一部分进行的医疗诊断；（2）已发表的科学文献中与所提交的IHC器械相关的文献数量，即，来自几个独立实验室的有效发表的支持性信息，记录了IHC的安全性和有效性。并且，制造商进行的测试中没有表明需要额外安全性和有效性数据的新信息。

用作独立IHC诊断测试的预后和预测标记物可能需要额外的有效科学证据。该证据可以是来自同行审查的科学医学文献和／或由制造商发起的临床测试，测试的目的是确定IHC用于声明的预期用途的安全性和有效性。

**第3节上市前提交的文件**

3.1 有效的科学数据／II类IHC’s提交的信息：数据的类型和充分性

为了获得II类IHC’s的510（k）许可，制造商应提交以下有效的科学数据／信息，以支持IHC’s的声明预期用途和适应症的分析性能、安全性和有效性：

即使IHC器械是由另一个制造商提供的，510（k）提交的申办者有责任在提交材料中提供这些数据／信息。

附录B提供了一个清单，帮助审查510（k）提交的完整性，包括II类IHC’s所必需的有效科学数据／信息。

3.2 分析性能特征：抗原／抗体表征

筛选／选择单克隆抗体克隆的方案。（适当参考同行审查的科学文献是可接受的。）

抗体识别蛋白质和／或其表位（如果已知的话）。

对一级抗原的表征，如果可能，包括照片，例如SDS凝胶，蛋白质免疫印迹，免疫电子显微镜等，特别是支持相关声明，例如细胞角蛋白的莫尔数反应性，HMB45的黑素体反应性等。

如果文件是基于同行审查文献中的有效科学数据，制造商应向FDA提供相关的参考文献的副本。制造商应提供证据证明在发表的参考文献中主要研究的IHC单克隆抗体器械与提交文件中涉及相同的克隆抗体，并且在反应性和预期用途上实质等同。

如果IHC基于多克隆一抗器械，则应该提供以下信息：关于多克隆器械的免疫反应性的表征，用于一抗器械的免疫原的材料，纯化过程以及用于作为化验校准物和对照的材料。

3.3 所有类别的IHC’s与一组正常组织或细胞的免疫反应性的确认和验证

通过测试组织或完整细胞在相同介质中包含和不包含同样矩阵中的靶向分析物，正如IHC预期用途设定的那样，确认IHC’s的免疫反应性需要确定IHC一抗与可接受的预期标记物二抗的性能。

I类IHC’s，不是本指南的特殊对照的受试者。然而， I类IHC’s的21 CFR§809.10法规的确要求在产品标签中纳入IHC的预期用途和性能特征。I类IHC’s的性能特征旨在检测分化标记物，应通过将IHC’s用于测试一组正常和／或异常组织，测试和记录其他分析物。以与预期试样相同的方式固定和处理的正常组织或细胞的多组织块对于实现反应性和最佳固定通常更可预测，并且足够一致地允许对比抗体和器械批与批之间的反应性。

预期的最终用户可以通过在最终用户的实验室中测试合适的阳性和阴性对照组织或细胞来验证IHC是否符合制造商的质量管理规范。

所有IHC’s的一抗的特异性应该在一组正常组织中确定。附录C列出了所有一抗需要测试的组织。对于所列的每种组织，应对取自三个不同人体的样本进行测试。由于许多抗体没有被正常组织完全表征，所以参考文献可能不满足这个要求。

3.4 一组正常组织使用的试样的表征

尽可能使用新鲜固定的手术试样。如果组织通过微观标准（最小自溶）良好保存，则允许使用新固定的尸检材料。

包括确认测试的组织是否充分固定（不是固定过度或固定不充分。如果使用热、缓冲溶液等预处理，记录具体时间，浓度等。

要记录提交中使用的每一测试组织的来源，包括患者的年龄和性别。不要包括具体患者身份信息，例如姓名，社会保障号码等。

可以使用多组织块，但是每片组织应该足以容纳充足样本，例如，肝组织切片应当包含至少一个肝门三联征；脑切片包含足量的代表性细胞类型等。

3.4.1 数组正常组织的研究目的

实验室间精度是商业化和内部开发的（公司自产自用）IHC器械的持续问题。数组正常组织的预期值可以指导病理学家和其他实验室工作人员验证IHC。正常组织具有比肿瘤组织更大的潜在重复性。有相同苏木精和伊红组织病理学外观的肿瘤在其免疫反应性和遗传组成上可以是异质的。

因为IHC器械中的一抗可用于区分低分化肿瘤是原发性还是转移性，所以在多种正常组织上测试每种一抗很有用。这种测试可以协助检测非预期的交叉反应性并且可以解释在整个身体的诸多组织中每种抗体的一些背景反应性。任何不寻常或非预期的染色都应总结在包装说明书中。

正常组织测试应实现以下染色反应性：每个测试器官的实质细胞的染色反应性或非反应性，细胞的哪些部分被染色[细胞膜（质膜），细胞质，细胞核），组织内和细胞内（所有细胞或细胞的一部分）的染色分布，以及定量和半定量染色的染色强度。（见附录D）

此外，一抗可用于检测表征细胞的生理或病理生理状态的细胞组分，例如细胞周期、分泌产物等不同阶段的标记物。在各种功能状态下，一组正常组织的细胞染色的文件可用于支持IHC一抗器械的性能特征，例如小肠隐窝中的上皮细胞，表皮基底细胞等的染色反应性。

3.5 通过测试临床上具有显著特征的或通过与已被广泛接受的参考方法对比而确定的组织试验小组来确认和验证II类IHC’s的免疫反应性

II类IHC’s旨在检测不能通过易于获得的内部和外部组织病理学或细胞病理学控制来控制的目标分析物。例如对于某些目标分析物的IHC’s，其存在或浓度和分布对增加或减少发病率或死亡率和／或对治疗的反应或抗性是可预测或预后的。要用作预测或预后标记物的II类IHC’s的性能特征的确认需要测试组织或细胞的适当样本，这些组织和细胞已经在临床上充分表征了相同预期用途的预期临床结果。研究应提供关于IHC在预期患者群体中的性能信息，并且具有足够大的研究规模。IHC的结果应与FDA批准或许可的体外诊断器械或与公认的、广泛接受的参考实验室的方法进行对比。

可接受的对比方法的实例有吸收同位素标记物的生物化学测试，例如雌激素受体检测，这已被广泛接受作为实现和确认适量患者试样的具有显著特征的临床结果。

如果没有适当的体外诊断对比方法，IHC的性能特征应通过测试患者样本实现和确认。用于确定或预测声明为IHC检测终点（例如发病率（例如肿瘤复发）、死亡率、治疗的反应或抗性等）的临床结果时，这些样本应当具有显著特征并且被广泛接受为科学适宜。

应该通过适当的标准来获得具有选择偏差的统计学控制的研究样本。数据量应该足以表征与所要求的临床结果对比的所有研究样本的IHC性能，即，没有选择偏差而获得的预期收集的试样或存档肿瘤组织，取自短期和长期自然病史的患者，和／或取自对特定治疗或组合治疗具有已知反应的患者。

3.6 II类IHC’s的临床重要结果的预测或预后的量化结果声明

定量IHC的检测结果应该在整个检测范围（从声明的活性的低水平到高水平）与临床结果进行测试，例如，治疗或未治疗的存活长度；发病率或死亡率的差异；等。使用适当的统计方法分析数据，以便在包装说明书的性能特征部分报告结果。临床决定验证研究的样本量。没有唯一的统计答案。数量取决于比例（灵敏度、特异性）所需的精度（置信区间的宽度）。样本量对于计算灵敏度和特异性的置信区间是重要的（其都是二项式比例，假设每次观察2×2表独立和随机分布，例如每个患者仅采样一次）。研究应在足够数量的阳性和阴性试样上进行，以支持统计学意义。统计学家可以为研究规模建议适当的数量。

3.7 对比研究中的差异

新的IHC和对比方法（FDA许可的比较器械或参考方法）之间的差异应进一步通过其他参考方法进行调查，以确定其的真假。（与参考方法相比，新器械可以具有改进的性能特征）。

3.8 II类IHC’s的灵敏度和特异性检测

应确定灵敏度和特异性及其95%置信区间，并在包装说明书的性能特征部分中记录。

3.9 用户给制造商的IHC性能确认的建议

II类IHC’s的制造商应向预期用户提供材料和方法的建议和指导，以验证IHC试剂或试剂盒是否根据制造商的质量标准执行。通常可以通过测试已知阳性和阴性组织对照来进行，这些组织对照由IHC制造商提供是或来自参考实验室方法测试的组织。

不推荐没有通过良好表征和广泛接受的参考方法表征的肿瘤组织进行测试的验证过程

用于IHC’s的预后或预测性使用。

来自各种正常组织细胞的不同功能状态的各种标记物的IHC染色可以用于支持IHC一抗的定性性能特征，例如小肠隐窝中上皮细胞的染色反应性，小肠的基底细胞表皮等，可以作为细胞增殖的证据。然而，该IHC结果不能单独被合适的良好表征的临床显著样品确认，并且不支持基于患者试样IHC结果的临床结果的定量预测或预后。

3.10 III类IHC’s的确认

III类IHC’s不属于本指南的受试者，然而制造商应用本指南用收集和分析有效的科学证据以实现IHC的分析和临床性能特征，由于缺乏被划分为I类或II类IHC的足够和充分的科学有效的证据，此类IHC被划分为III类IHC。

3.11 包装说明书的反应性总结

在包装说明中包括申办者染色结果的总结（有关建议提供项目，参见附录B）。每个IHC器械应注明每种组织类型是否存在免疫反应性。如果是定量或半定量器械，例如增殖标记物或受体，则应提交定量反应性的文件。

3.11.1 包装说明书的预期染色反应性的显微照片（可选）

鼓励制造商向最终用户提供包装说明书，另附真实彩色照片，或除对预期和非预期染色模式进行叙述性描述外，参考显示预期染色模式示例的参考文献。

3.12 安全性和有效性的有效科学证据文件用于支持II类IHC’s的预期用途

只要参考文献中使用的抗体与作为510（k）的受试者的抗体之间有联系，有效的科学证据可以来自参考文献。如果文件是以已发表的文献为基础，那么请在提交中提供文献副本。

应当提交靶组织中一抗的免疫染色模式的文件和描述，它能充分表征支持预期用途和声明的适应症。文件的基础可从使用相同克隆或相同制造商的产品的参考文献中获得反应性总结；或如果无法获得的话，则在510（k）提交中附上制造商进行的研究总结。

3.13 现行良好制造规范（cGMP）现在是FDA质量体系法规的一部分（1997年6月）

FDA管理的医疗器械的制造商服从“质量体系法规”的现行良好指导规范（cGMP）的要求。这包括接受定期GMP检查。

3.13.1 稳定性研究4：

在510（k）提交中，IHC制造商应提供包装说明书中所述的用于实现IHC器械的稳定性时间间隔的研究总结。

FDA的现行良好指导规范（cGMP）认为单独的加速稳定性方法对于单克隆抗体试剂不可靠。此外，单克隆抗体试剂的稳定性可能以不一致的方式变化很大，特别是在稀释以后4。

3.13.2 IHC试剂的处理、储存和稀释

在包装说明书中，向最终用户提供如何处理、储存和稀释所有IHC试剂的建议。这些建议应指导每个测试如何适当地控制组织，以验证IHC器械的稳定性和反应性。

3.13.3 制造商质量控制发布标准方案

制造商应在每份提交文件中附上每个生产批次的书面质量控制产品发布标准的副本。这些标准旨在确保一抗试剂的特异性与文献中报道的原始克隆的特异性相同，以及每个生产批次的特异性保持不变。

**第4节包装说明书制造商说明**

提交的包装说明书部分应遵循21 CFR§809.10（b）的规定。附录E至G提出了如何准备包装说明书的建议。尽管不是强制性的，附录F中的模板设计用于帮助FDA的510（k）审查，并确保包装说明书符合21 CFR§809.10（b）中的标签规定。该模板更新了生物染色委员会和FDA先前发表的文件“建议格式：用于免疫组化产品的包装说明书”1，并且包含由免疫组化制造商联合委员会（JCIM）2开发的建议包装说明书模板。制造商应提供数据或参考资料，以支持包装说明中的所有叙述和声明。附录G是一个帮助审查IHC产品的包装说明书的清单，特别是不使用模板的情况。

制造商可以将包装说明书分为两部分。一部分包含制造商应用于共享相同信息和程序的部分或全部IHC’s的通用信息。该部分不必与IHC体外诊断器械的每个包装一起分发，但是应易于获得，并且纳入实验室程序手册。包装说明书的其他部分应包含产品的具体特性、说明和文件。

4.1 除了21 CFR§809.10（b）中给出的建议和建议的格式1-3之外，还要考虑以下建议：

4.1.1 产品命名

如果使用簇名称术语，例如CDX，来表征抗体或抗原，则应提供世界卫生组织已将该抗体归为相关簇的文件。否则，使用抗体的另一个名称，和抗原的其他表征。

4.1.2 预期用途

用于有效性的包装说明书中的声明应限于制造商的研究和参考文献中使用的固定剂的类型（例如，福尔马林，酒精，B5等），研究和参考文献中作者使用的是相同的克隆或抗体来源。

如果产品作为预稀释或作为未稀释（纯）一抗器械而不是试剂盒出售，则包装说明书应指明哪些二次检测（标记物）抗体系统已用单独销售的预稀释或未稀释的抗体器械测试。

4.1.3 器械的总结和说明

包装说明书应包括对这些文献报告的简要总结和／或讨论，讨论在各种正常和异常组织中观察到的预期和差异的染色或非染色。

如果文献不适用于该产品，请总结具有相同预期用途和预期性能的基本等同产品的文献。

4.1.4 提供的试剂

应提供有关抗体浓度的以下信息：

总蛋白浓度。

代表特定免疫球蛋白的测量分数（占总蛋白的百分比）。

不相关抗体的浓度。

4.1.5 程序

作为试剂盒出售的IHC器械的包装说明书应提供最终用户可以遵循的说明，这些说明应基于制造商对测试的优化。制造商的说明应包括如何固定、处理和染色试样。

如果IHC器械作为单独的一抗试剂（预稀释；未稀释的；纯的）出售，制造商应建立或验证方案，并向最终用户提供指导以优化IHC体外诊断器械，同时提供书籍和期刊的参考文献。这些说明应该包括关于组织的固定和处理、抗原恢复技术（抗原修复技术），棋盘滴定技术的指导，以优化性能，包括如何稀释一抗和二抗，以及未稀释和稀释器械的储存和处理。

包装说明书中的此类说明可以使最终用户能够遵循制造商对使用本此IHC时出现的几乎所有情况的说明。如果制造商的建议遵循无“主要修改”，这些说明将允许最终用户符合CLIA'88要求，允许最终用户不太严格的验证。

4.1.6 局限性

包装说明书的局限性部分应包括适用于特定分析物以及安全性和有效性声明的这些额外局限性：

“免疫组化是一个多步诊断的过程，在以下方面需要专门的培训：选择适当的试剂、组织选择、固定、加工、IHC组织切片的制备和染色结果的解释。

“在分化不良的肿瘤里非预期的负反应可能是由于抗原表达的丧失或显著减少或编码抗原的基因中的丢失或无意义突变。肿瘤里非预期的阳性染色可能是来自在形态学上类似正常细胞通常不表达的抗原的表达，或是来自肿瘤抗原的持久或获得，这种肿瘤形成与另一种细胞谱系（发散分化）相关的形态学和免疫组化特征。肿瘤的组织病理学分类不是精确的科学，一些文献报道的非预期的染色可能是有争议的。

4.1.7 预期结果

包括测试的组织的汇总以建立该IHC体外诊断器械的特异性。

4.1.8 用于起草包装说明书建议的参考文献

1. 建议格式：免疫组化产品的包装说明书。生物技术组织化学1992；67：328-338。
2. 用于免疫组化产品的包装说明书的建议模板。免疫组化制造商联合委员会。1994. St. Louis, MO（未发表的与FDA的沟通）
3. FDA免疫组化应用提交指南草案，1995年3月28日，食品药品监督管理局，器械与放射健康中心，Rockville，MD。
4. 用于人类的单克隆抗体产品的制造和测试考虑要点。食品药品监督管理局，生物制剂评估和研究中心，Rockville，MD 20857 http：//fda.gov/cber/points.htm

免疫组化书籍

Harlow E，Lane D. 抗体。实验室手册。Cold Spring实验室。Cold Spring Harbor，NY，1988。

Taylor CR，Cote RJ。免疫显微镜：外科病理学家的诊断工具。第2版。Philadelphia：W. B.Saunders Co.，1994。

True LD Ed。诊断性免疫组织病理学图谱。Philadelphia：Lippincott，1990。

Nadji M，Morales AR。免疫过氧化物酶技术：肿瘤诊断的实用方法。Chicago：American Society of Clinical Pathologists Press，1986。

Tubbs RR，Gephardt GN，Petras RE。免疫组织学图谱。Chicago：American Society of Clinical Pathologist Press，1986。

免疫组化标准

Elias JM，Gown AM，Nakamura RM，Wilbur DC，Herman GE，Jaffe ES，Battifora H.特别报告：免疫组化中的质量控制。生物染色委员会主办的研讨会报告。美国临床病理学杂志 1989；92：836-43。

Wick MR。社论。诊断性免疫组化的质量保证。一个学科来临的时代。美国临床病理学杂志 1989；92：844。

Taylor CR.免疫组化的质量保证和标准化。生物染色委员会年会的提议，1991年6月。生物技术组织化学。1992；67：110-7。

Taylor CR.专家的提高：在免疫组化的标准化方面的集中努力。人类病理学。1994；25：2-11。

Swanson PE。诊断免疫组化。愚昧官僚实用教程。美国临床病理学杂志.1993：530-2。

一抗的特异性问题和非预期的IHC染色结果的解释：

Swanson PE，Scheithauer BW，Manivel JC，Wick MR。上皮膜抗原在间质瘤中的反应性：对306个软组织肉瘤的免疫组化研究。外科病理学 1989；2：313-22。

Swanson PE，Dehner LP，Sirgi KE，Wick MR。骨和软组织恶性肿瘤中的细胞角蛋白免疫反应性。重新评估细胞角蛋白作为诊断性免疫组化的可靠标记物。应用免疫组化。1994；2：103-12。

**附录A：FDA对IHC应用基于风险的评估**

在提交给FDA的申请中评定IHC的风险和收益时，FDA审评员可能提出以下问题：

IHC的预期用途是什么？

使用IHC的适应症是什么？

分析物是什么？

目标分析物是否声明只是一个定性、辅助分化标记物，可以在样本中通过内部和外部组织化学或细胞化学控制来验证？

目标分析物是否是功能活性（细胞增殖，激素受体水平等）的半定量或定量标记物，用户不能通过易得的良好表征的内部和外部组织病理学或细胞化学对照来验证其？

IHC是否被用作独立的诊断测试，无证实试验；或用作辅助测试；或作为将疾病或病症分类的测试组的一部分？

新提交的IHC器械声称和暗示的临床适应症是什么？

结果的临床意义是什么？

在同行审查的科学文献中是否有适当和足够的关于分析物和预期用途的信息，以支持对产品的安全性和有效性的合理保证，或是否有必要收集更多的测试数据以确认IHC？

免疫染色成功与否的临床-病理解释是否由合格的病理学家或其他合格的实验室工作人员给出？

质量控制材料和方法是否容易获得，可以确保病理学家能够验证IHC程序是否符合制造商的质量标准，以确定使用可接受？

**附录B：申办者申请II类IHC’s时所需的完整性清单**

制造商

抗体的全称

**Y N N/A（下面列出的每一项，在适当的空白处填写）**

**分析性能文档：**

1.抗原／抗体表征

a） 筛选／选择单克隆抗体克隆的方案。  
（参考文献可接受。）

b） 抗体识别的表位和／或蛋白质。

c） 抗原的表征。

2.用一组良好表征的组织样品表征（见附录C）

适当的样本数量足以为分析性能声明提供有效的科学证据

**安全性和有效性的有效科学证据（如果使用相同的抗体并且记录了特性测试条件，则参考文献是可接受的。**

1. 提供的安全性和有效性证据

2. 具有足够数量的适当样品的反应性和良好表征的临床结果，以支持临床表现的声明

**稳定性研究**

用于确定产品有效期的研究总结。

**质量控制产品发布标准**

标准总结

**附录C：实现IHC’s特异性所需的正常组织来源**

制造商

抗体的全称

对于以下解剖部位中的每一处，三（3）个测试样品（各自取自3个不同个体）

**Y N N/A（下面列出的每一项，在适当的空白处填写）**

中枢神经系统：

脑，小脑（含有神经元，神经胶质等的脑灰白质）

脑，小脑

内分泌：

肾上腺（皮质和髓质）

卵巢

胰腺（胰岛和胰腺外分泌）

甲状旁腺

垂体（腺垂体和神经垂体）

睾丸

甲状腺（滤泡上皮，甲状滤泡旁细胞，胶体等）

乳房：

乳腺（小叶，导管，肌上皮细胞等）

造血：

脾

扁桃体

胸腺（少年）

骨髓（淋巴细胞，单核细胞／巨噬细胞，粒细胞，红细胞前体，巨核细胞，肥大细胞，破骨细胞，成骨细胞

呼吸：

肺（支气管，细支气管，肺泡等）

**Y N N/A（下面列出的每一项，在适当的空白处填写）**

心血管：

心脏

胃肠道：

食管

胃（底部）

小肠（回肠，空肠或十二指肠）

结肠

肝（肝门三联征，肝细胞等）

唾液腺

泌尿生殖器：

肾

前列腺

子宫

宫颈

肌肉骨骼：

骨骼肌

皮肤：

皮肤（表皮，附件，真皮）

外周神经：

外周神经

间皮细胞：

从胸壁、腹壁、心包或从胃肠、心脏和／或肺部样品的表面取细胞

**附录D：用于记录每一组织的IHC染色结果的工作表，这些组织被测试以协助制备包装说明书总结**

（修改自生物染色委员会免疫染色质量控制分会的免疫试剂评价方案）：

用于测试抗体试剂的识别方案：

观察员： （注意观察员进行显微镜观察时是否是盲检的或未盲检识别抗体）。

一抗：

批号

抗体的特异性：

抗原决定簇

浓度：

总蛋白浓度：XX.X g / L；小鼠IgG浓度：XXX pg / mL和占总蛋白的百分比（如果是多克隆则不相关）；不相关抗体的浓度：XXXmg / mL

使用的免疫染色方法：

通过制造商的说明以稀释度Y使用或在试剂盒里预稀释抗体；

测试条件：

例如，缓冲液，温度，孵化时间，检测系统等。

用于实现临床表现的对比方法：

FDA批准或许可的试剂，具有良好表征的临床结果\_\_\_\_\_\_\_ \_\_

成熟的参考方法基于对具有已知临床结果的样品的确认\_ \_\_\_\_\_\_\_

具有已知临床结果的良好表征的肿瘤样品\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ \_\_\_\_

**附录E：在包装说明书中何处总结组织中II类IHC染色反应性的结果**

E.1 包装说明书中“总结和说明”部分：

简要总结预期和非预期的阳性和阴性的组织染色模式。包括可获得的参考文献。阐述哪些参考文献报道了使用与510（k）的针对对象相同的克隆或产物的结果，或无法获得，那么哪些参考文献讨论了一般反应性或基本上等同的产物的反应性。

E.2 包装说明书中“质量控制”部分：

每种一抗至少推荐一种组织用作阳性质量对照试样。理想情况下，一些阳性对照应在弱染色水平表达，以便可以较早地检测IHC试剂或方法的早期失败。

E.3 包装说明书中“染色的解释”部分：

详细描述所选质量控制试样的正确染色。例如：在小肠粘膜中，IHC在细胞增殖最大的隐窝基底中对上皮的细胞质（细胞核或两者均是）染色。

E.4 包装说明书中“局限性”部分：

总结目标组织中非预期的阳性和阴性染色结果。产品具体局限性可能基于申办者对器械的测试数据和适当的参考文献。一般局限性部分还应包括IHC方法的相关通用参考文献。这些当中的大多数应该在包含在包装说明书模板中。

E.5 包装说明书中“性能特征”部分：

报告由申办者实际测试目标组织的预期和非预期的染色结果总结。除非使用的是相同的克隆和相同的检测方法，否则不包括本节中的文献的结果。

**附录F：IHC抗体包装说明书模板：**

（修改自FDA和JCIM编制的模板，1994）

F.1 代码

F.2 抗体的识别

（***给出抗体的全名***）免疫酶染色

F.3 批号

F.4 **预期用途：** 用于体外诊断

（抗体名称） （指定是否单克隆抗体或多克隆抗体）旨在实验室用来通过光学显微镜进行定性鉴定\_\_\_\_\_\_ \_\_

（抗原／表位）正常和／或病理学 （列出由测试数据支撑的组织类型：石蜡包埋和／或冷冻组织，和／或细胞渗透）处理 （列出包含在测试组织中的固定剂类型）固定剂（如果数据可用于支持它，列出冷冻组织切片和／或细胞涂片）. （抗体和克隆的名称）特异性结合位于 （细胞中的位置）的抗原正常的 （细胞类型）

任何染色成功与否的临床解释应当通过使用适当对照的形态学研究来补充，并且应当由合格的病理学家在患者的临床历史和其他诊断测试的背景下进行评估。

（对于纯抗体：）列出已经测试了什么免疫组化染色方法，并适合与此抗体一起使用。

（对于预稀释的抗体：）该抗体已经最佳预稀释用于 二次染色系统／试剂盒。）

F.5 **总结和说明：**

已经显示***（抗体名称）***抗体与***（产物中使用的单克隆抗体的特异性的细节，例如共沉淀蛋白的分子量，抗原的性质等）反应。描述／列出正常和异常表达抗原和用抗体染色的细胞／组织。在可能的情况下提供参考进行支持。***

***如果不能获得制造商的克隆的参考文献，请包含实质等同的IHC的科学医学文献的总结。讨论任何假阳性和假阴性或有争议的反应。请用户向制造商的技术服务部门报告检测到的任何有争议的染色。***

F.6 **程序原理：**

（***抗体名***）可以作为一抗使用（***制造商推荐的免疫组化技术***）。通常，免疫组化（IHC）染色技术允许通过顺序施加抗原的特异性抗体（一抗），一抗到二抗（连接抗体），酶复合物和插入洗涤步骤的显色底物。色原体的酶促活化在抗原位点产生可见的反应产物。然后可以将试样复染色并盖上盖玻片。使用光学显微镜解释结果，并协助鉴别诊断病理生理过程，这可能与特定抗原相关，也可能无关。

***（如果抗体针对特定可视化系统进行了最佳稀释，请提供有关该系统的具体信息[特定制造商]。*例如**，对于基于标记物的抗生物素蛋白-生物素（LAB）免疫组化染色技术和辣根过氧化物酶的试剂盒，将试样与氢气一起温育过氧化物以猝灭内源性过氧化物酶活性，在该初始步骤之后，应用阻断剂以阻断组织与抗体的非特异性反应，然后将试样与一抗孵化，随后用生物素化的连接抗体和过氧化物酶在与底物-色原体（例如3-氨基-9-乙基咔唑（AEC）或3, 35-二氨基联苯胺（DAB）和任选的逆染色）孵化后完成染色。

***（如果抗体预期与自动染色器一同使用，应包括关于自动染色的附加信息）***

F.7 提供的试剂：

（抗体名称）是 （描述抗体，例如小鼠抗人单克隆抗体）作为组织培养上清液（或腹水或如果是多克隆的，提供动物来源和制剂，即全血清或免疫球蛋白部分）产生。该产品以（缓冲液）提供，含有（提供载体蛋白，例如胎牛血清，BSA或其它任何消毒剂）。（ mL总体积）。

F.8 免疫原：

F.9 克隆／参考：**（*如果是多克隆则不相关*）**

F10 子类：**（*包括识别轻链*）（*如果是多克隆的，则不相关*）**

F.11 总蛋白浓度：XX.X g / L

特异性IgG浓度：XXXμg/ mL和占总蛋白的百分比

不相关抗体的浓度：XXX mg / mL（***如果是多克隆则不相关***）

F12 特异性：**（*提供关于抗体反应性的信息，即抗原决定簇*）**

F13 方法：**（*如何生产和加工抗体*）**

（***如适用***：非特异性阴性试剂对照；（***表征和描述成分并给出总体积***）。

F.14 **重建，混合，稀释，滴定（如果试剂以最佳稀释形式出售使用）：**

最佳稀释用于（ ）（***自动化工具，二次染色系统，等等***）。进一步稀释可能导致抗原染色的丧失。用户必须对此类更改进行确认。在用户实验室进行的组织处理和技术程序的差异可能导致内部控制常规性能结果的显著变化（参见质量控制部分）。

F.14 **需要但不提供的材料：**

染色试剂例如（给出优选的染色试剂，例如标记的链霉亲和素-生物素（LSAB）剂盒或过氧化物酶–抗过氧化物酶（PAP）试剂盒），不提供抗体稀释剂、非特异性阴性试剂对照和辅助组分，包括阴性和阳性组织对照组织切片。（在适当情况下给出制造商和目录号）（或详细介绍二抗的包装说明书）。

F.15 **存储：**

储存于2-8℃或等分为方便使用的体积，在-20℃下冷冻。避免反复冻融。应在使用前进行抗体的新稀释，并在室温（20℃ -25℃）下稳定上升（***给定时间长度***）。抗体制剂的未使用部分应在（***相同的时间长度***）后丢弃。冷冻抗体可以作为小等分试样保存，直到定期验证检测到不可接受的反应性变化。（见分析验证部分。）

（***抗体名称***）适于使用（***给出产品稳定的时间长度***），从生产日期起，在2-8℃下储存。不要在瓶盖上注明的有效期之后使用。如果试剂在除包装说明书规定以外的任何条件下储存，则必须由用户进行验证23。

阳性和阴性对照应与所有患者试样同时进行。如果观察到无法通过实验室程序的变化解释的非预期染色，并且怀疑抗体存在问题，应立即联系（***公司名称和技术服务电话号码***）。

F.16 **试样制备：**

**石蜡组织切片**：固定的组织（***显示为适合此抗体的列表固定剂；如果有的话，提供参考文献***）适合在石蜡包埋之前使用。（***提供关于特定固定剂的优点／缺点的信息***）

骨组织应在组织处理前脱钙，利于组织切片并防止对组织切片机刀片的损伤。2, 3（***给出任何有用的参考文献或特定的抗体／组织的特定警告***）。

表达（***特异性抗原***）抗原的适当固定和包埋的组织应该储存在阴凉处。1988年临床实验室改进法案（CLIA）在42 CFR§493.1259（b）中要求“实验室必须从检查日期起至少十年内保留染色组织切片，并从检查日期起至少两年内保留试样块。”4

（如果有足够的科学证据支持，包括冷冻部分或细胞涂片的信息）

参考（***您最喜欢的免疫化学染色方法手册***）或参考文献2和3，了解试样制备的更多细节。

F.17 **染色前组织的处理：（*提供关于预处理的信息，以及特异性抗体的推荐类型，以及没有预处理可以观察到什么*）。**

F.18 **注意事项：**

包装说明书和标签必须带有“用于体外诊断”标签。***如果产品中含防腐剂，必须标明有毒和危害信息。*例如**：“用作防腐剂的叠氮化钠（NaN3）如果摄入会有毒性。叠氮化钠可能与铅和铜管道反应，形成高度易爆的金属叠氮化物。丢弃后，必须用大量的水冲洗，以防止在管道中积聚叠氮化物5, 6

***（警告涉及毒性、致癌性、免疫敏感性等，特定组织准备或染色的任何试剂。在包装说明书的第一个建议格式里查看潜在化合物列表和建议的措辞。）***

固定前后的试样，以及接触其的所有材料，都应处理以防止传播感染，并采取适当的预防措施处理。7切勿用嘴吸取试剂，避免皮肤和粘膜接触试剂和试样。如果试剂或试样与敏感部位接触，请用大量的水清洗。

可能会发生试剂最小微生物污染或非特异性染色的增加。

***除规定以外的孵化时间或温度可能会导致错误的结果。用户必须确认任何此类更改。（如果以试剂盒的形式出售，说明包含的试剂是否可以跨试剂盒批号替换。）***

F19 **使用说明：**

F.19.1 染色程序**（*浓缩／未稀释或预稀释抗体*）：**

在石蜡包埋的组织上使用标记的亲和素-生物素染色程序时，（***抗体名称***）可以稀释（***给出推荐的稀释度范围***）。过氧化物酶-抗过氧化物酶（PAP）和碱性磷酸酶／抗碱性磷酸酶（APAAP）方法可能需要更浓的溶液（***给出推荐的稀释度***）。咨询染色方案，以获得最佳或次优的稀释剂。（***列出可能适合使用的产品名称和产品目录编号。***）

参考（***公司最喜欢的免疫化学染色方法手册***，参考文献2和3，或商业试剂盒系统（如果使用）的包装说明书，有关制备稀释液和特异性染色方案的指南。

这些建议仅供参考。每一最终用户的实验室都应确定最佳稀释度和程序。如果溶液过浓或过稀，那么不适当稀释的一抗可能分别导致非特异性或假阴性染色。

F.19.2 **最佳稀释抗体的染色程序：**

***参考推荐的可视化试剂盒的染色程序部分，其中抗体被最佳地稀释。如果给出时间或温度，提供适当的估计范围，即“37℃+？或2分钟+？秒／分钟”，以向用户针对没有灵活性的步骤提供广泛灵活性的步骤。***

***当在限定条件下储存并使用指定的封固剂时，说明最终反应产物（染色组织切片）的稳定期。***

F.20 **质量控制：**

组织处理和用户实验室中的技术程序的差异可能在结果中产生显著的变化，除了以下程序之外还需要定期执行内部控制。参考质量控制指南10. Elias JM，Gown AM，Nakamura RM，Wilbur DC，Herman GE，Jaffe ES，Battifora H，Brigati J.特别报告：免疫组化中的质量控制。Am J Clin Path 1989；92：836，8 IHC9建议的NCCLS指南和／或附加信息的参考文献10。

**阳性组织对照**：外部阳性对照材料应该以与患者样品相同的方式尽快固定，处理和包埋新鲜尸检／活检／手术试样。阳性组织对照指示正确制备的组织和适当的染色技术。对于每组测试条件的一个阳性外部组织对照应当包括在每次染色过程中。

用于外部阳性对照材料的组织应选自具有良好表征的低水平的阳性靶标活性的患者试样，它产生弱阳性染色。设计外部阳性对照的低水平的阳性以确保检测一抗敏感性的微小变化，克服IHC方法的不稳定性或其他问题。市售组织切片，例如（如果可用于该抗体，对照切片的名称和目录编号）或与患者样品不同加工的样品只能验证试剂性能，不能验证组织制备。

***对用于作为每种抗体的阳性组织对照的组织（例如乳腺癌、肺癌等）提出具体建议。***

已知的阳性组织对照应仅用于监测处理的组织和测试试剂的正确性能，而不是用于协助制定患者样品的特异性诊断。如果阳性组织对照未能显示阳性染色，则测试样品的结果应视为无效。

**阴性组织对照：**使用阴性组织对照（已知（***称为特异性抗原／抗体***）阴性））以与患者样品相同的方式固定、处理和包埋，染色过程验证IHC一抗的特异性以证明靶抗原，并提供特异性背景染色（假阳性染色）的指示。此外，大多数组织切片中的各种不同细胞可以由实验室工作人员用作内部阴性对照位点以验证IHC’s的性能质量标准。列出包装说明书性能特征部分中可用于阴性组织对照试样的类型和来源，作为阴性组织对照的试样列表。

***应为用作每种抗体（例如乳腺组织，皮肤等）的阴性组织对照的组织提供具体建议。***

如果在阴性组织对照中发生特异性染色（假阳性染色），则认为患者试样的结果无效。

**非特异性阴性试剂对照**：使用非特异性阴性试剂对照代替每个患者样品的组织切片的一抗，以评价非特异性染色并可以更好地解释抗原位点处的特异性染色。理想情况下，阴性试剂对照包含与一抗相同的方式从组织培养物上清液产生的（***给出抗体的同种型，例如，如果是单克隆抗体，与一抗相同的同种型***）抗体，但是与一抗的人体组织不表现出特异性反应性基质／溶液作为（***抗体名称***）抗体。使用相同的稀释剂稀释（***给予同位素，例如IgG 1***）抗体（***如果可以获得的话，给出名称和目录号***）至与稀释的一抗相同的免疫球蛋白或蛋白浓度。如果胎牛血清在加工后保留在纯抗体（***抗体名称***）中，与相同稀释剂稀释的一抗相同的蛋白质浓度的胎牛血清也适用。（***参考提供的试剂***）。单独的稀释剂可以用作上述阴性试剂对照替代物，但不太理想。阴性试剂对照的孵化期应对应于一抗的孵化期。

（***如果一抗是多克隆的***：使用阴性试剂对照代替一抗，使用每位患者试样的一部分，以评估非特异性染色，并更好地解释抗原位点的特异性染色。为了制备阴性试剂对照，稀释正常／非免疫（***动物来源***）血清的免疫球蛋白组分（***或完整血清***）至与使用相同稀释剂稀释的一抗相同的蛋白质浓度）。

当在连续组织切片上使用几种抗体时，组织切片的负染色区域可以用作其他抗体的阴性／非特异性结合背景对照。

为了区分内源性酶活性或酶的非特异性结合与特异性免疫反应性，额外的患者组织可以分别用底物-色原体或酶复合物（PAP，抗生物素蛋白-生物素，链霉亲和素）和底物-色原体独自染色。

F.21 **检测验证：**

在诊断程序中首次使用抗体或染色系统之前，用户应当通过测试一系列内部组织来验证抗体的特异性，这些内部组织具有已知免疫组化性能特征，代表已知阳性和阴性组织。参考前面在产品说明书部分以及CAP认证计划8免疫组化和／或NCCLS IHC指南9的质量控制建议中总结的质量控制程序。对于每一新抗体批次，或每当检测参数发生变化时，应重复这些质量控制程序。性能特征部分列出的组织适用于检测验证。

F.22 **疑难解答：**

有关纠正措施，请参见先前引用的***（制造商的首选参考文献）***中的疑难解答部分，或联系***（公司名称）***技术服务部门***（电话号码）***以报告异常染色。

***（包含二次染色系统的IHC试剂盒的包装说明书的编写者应在包装说明书的参考文献部分之前的疑难解答部分中提供对完整染色系统疑难解答的更多细节。）***

F.23 **染色的解释：**

**阳性组织对照：**应首先检查用（***抗体名称***）染色的阳性组织对照，以确定所有试剂均正常使用。与靶细胞（位置）的玫瑰红（3-氨基-9-乙基咔唑，AEC），亮粉色（新品红或苋紫）或红棕色（3, 3'-二氨基联苯胺四氯化物，DAB）（在细胞中）指示阳性反应性。（***如果表征良好，描述细胞／组织中的反应性的模式。特别地，描述建议用作对照的一种或两种组织的染色反应性，注意关注质量控制的弱阳性区域***）。如果阳性组织对照未能显示阳性染色，则测试样品的结果应被视为无效。

如果使用不同于所述的底物色原体，那么反应产物的颜色会变化。有关预期的颜色反应，请参考基质包装说明书。此外，在染色方法的变化中可观察到变色。11

***（描述选择的复染色的变异性例如，）***：根据所用的苏木精的孵化长度和效力，复染将导致浅蓝色至深蓝色的细胞核。过多或不完全的复染可能会影响对结果的正确解释。

**阴性组织对照：**应在阳性组织对照后检查阴性组织对照，以验证通过一抗标记物靶抗原的特异性。在阴性组织对照中不存在特异性染色证实了缺乏与细胞／细胞组分的抗体交叉反应性。（***如果表征良好，描述细胞／组织中的反应性的模式。特别地，描述建议用作对照的一种或两种组织的染色反应性。***）如果在阴性外部组织对照中发生特异性染色（假阳性染色），患者试样的结果应视为无效。

如果存在非特异性染色的话，通常具有弥漫性外观。结缔组织的偶发性染色也可以在过度福尔马林固定的组织切片中观察到。使用完整的细胞解释染色结果。坏死或退化的细胞通常是非特异性染色。

**患者组织：**最后检查用（***抗体名称***）染色的患者试样。阳性染色强度应在阴性试剂对照的任何非特异性染色的背景下评估。与任何免疫组化测试一样，阴性结果意味着未检测到抗原，而不是在检测的细胞／组织中不存在抗原。如有必要，使用一组抗体来鉴定假阴性反应。

**表1：日常质量控制的目的**

| **组织：像患者样品那样固定和加工** | **特异性抗体和二抗** | **非特异性抗体\*或缓冲液加与用于特异性抗体的相同二抗** |
| --- | --- | --- |
| **阳性对照**：含有待检测的靶抗原的组织或细胞（可位于患者组织中）。*理想的对照是弱阳性染色组织对抗体降解最敏感。* | 控制分析的所有步骤。验证用于染色的试剂和程序 | 非特异性背景染色的检测 |
|  |  |  |
| **阴性对照：**预期为阴性的组织或细胞（可位于患者组织或阳性对照组织中） | 检测对细胞／细胞组分的非预期抗体交叉反应性 | 非特异性背景染色的检测 |
| **患者组织** | 特异性染色的检测 | 非特异性背景染色的检测 |

\* =与特异性抗体相同的来源和类型，但不针对相同的靶抗原。检测非特异性抗体结合，例如抗体的Fc部分被组织结合。

***（鼓励制造商向最终用户提供预期染色图案的彩色照片，或包装说明书、另附单页或提供显示预期染色模式示例的参考文献）***

有关（***抗体名称***）免疫反应性的特定信息，请参见总结和说明，局限性和性能特征。

F.24 **一般局限性：**

免疫组化是一种多步诊断过程，需要对以下方面进行专门培训：选择合适的试剂；组织的选择，固定和加工、准备IHC组织切片和染色结果的解释。

组织染色取决于染色前组织的处理和加工。不正确的固定、冷冻、解冻、洗涤、干燥、加热、组织切片或其他组织或液体的污染可能产生伪影、抗体捕获或假阴性结果。结果不一致可能是由于固定和包埋方法的变化，或由于组织内固有的不规则性。12

过多或不完全的复染可能会影响对结果的正确解释。

阳性或阴性染色的临床解释应在临床表现、形态学和其他组织病理学标准的背景下评估。阳性或阴性染色的临床解释应通过使用适当的阳性和阴性内部和外部对照以及其他诊断测试的形态学研究来补充。这是合格的病理学家的责任，合格的病理学家熟悉IHC抗体、试剂和方法的正确使用，可以解释最终制备IHC的所有步骤。

{仅适用于试剂盒}制造商提供这些抗体／试剂在最佳稀释使用的说明，按照IHC准备的组织切片或细胞学制备。任何偏离推荐的测试程序可能会使声明的预期结果失效；必须采用和记录适当的控制措施。用户偏离推荐测试程序，必须承担在这些情况下检测所得的患者结果的责任。

***（如果数据不能用于流式细胞术中的一抗）：本产品不适用于流式细胞术。尚未确定流式细胞术的性能特征。）***

来自感染乙型肝炎病毒和含有乙型肝炎表面抗原（HBsAg）的人体组织可能表现出与辣根过氧化物酶的非特异性染色。13

试剂可能在以前未测试的组织中显示出非预期的反应。由于肿瘤或其他病理组织中的抗原表达的生物变异性，即使在测试的组织组中也不可能完全消除非预期的反应的可能性。14联系（***给出公司名称和技术服务电话号码***），并记录非预期的反应。

来自与在阻断步骤中使用的二抗血清相同的动物来源的正常／非免疫血清可能由于自身抗体或天然抗体而导致假阴性或假阳性结果。

由于蛋白质或底物反应产物的非免疫结合，可以看到假阳性结果。其还可以由假过氧化物酶活性（红细胞），内源性过氧化物酶活性（细胞色素C）或内源性生物素（例如肝，乳腺，脑，肾）引起，这取决于所使用的免疫染色的类型。12

F.25 **产品具体局限性：**

***（提供关于抗体特异性局限性的信息讨论使用正常和肿瘤组织作为对照组织的假阴性／阳性，交叉反应性，优点和缺点等）***

F.26 **性能特点：**

F.26.1 **重复性：**

***描述进行的重复性测试和结果***

通过染色（X）含有相同正常组织的组织切片来检测染色的重复性。***（给出测试结果）***通过在（X）天／次染色含有相同正常组织的组织切片来检测染色的重复性。***（给出测试结果。）***

F.26.2 **免疫反应性：**

在组织（***列出组织的类型，即石蜡包埋的，冷冻组织切片或由测试数据支持的涂片***）中使用（***二次染色系统***）证明了以下阳性和阴性免疫反应性。下面提供的列表并不详尽，但表征了用抗体观察到的免疫反应性类型***（特定单克隆的克隆名称，或如果一抗是多克隆的，则提供来源和纯化：***

（***总结实际上由申办者测试的预期和未预期的组织染色的结果，不包括包装说明书中预期结果部分里的参考文献中的结果。***）

F.27 **参考书目**：酌情使用更少或更多的参考文献

1.食品药品监督管理局。FDA免疫组化应用提交指南。1997。http：//www./fda.gov/cdrh/dsma/dsmafod.html（本指导性文件取代食品药品监督管理局免疫组化应用提交的考虑因素，1995年1月17日；修订为“FDA免疫组化应用提交指南，1995年3月20日）

2. Kiernan JA.组织学和组织化学方法：理论与实践。New York：Pergamon Press 1981

3. Sheehan DC和Hrapchak BB。组织的理论与实践。St. Louis：C.V. Mosby Co. 1980

4. 1988年临床实验室改进修正案：最终规则，57 FR 7163, 1992年2月28日

5.“含铜和／或铅叠氮化物管道系统净化程序”，国立职业安全与健康研究所健康，教育和福利部，, Rockville, MD. 1976

6.疾病控制中心手册。指南：安全管理，No. CDC-22，Atlanta, GA。1976年4月30日。“实验室水槽排水的去污以去除叠氮盐”。

7.国家临床实验室标准委员会（NCCLS）。保护实验室工作人员免受血液和组织传播的传染病；建议指南。Villanova，PA 1991；7（9）。指令代码M29-P

8.美国病理学家学院（CAP）免疫组化认证计划。Northfield IL。Http：//www.cap.org (800) 323-4040。

9. O’Lary TJ，Edmonds P，Floyd AD，Mesa-Tejada R，Robinowitz M，Takes PA，Taylor CR。免疫细胞化学的质量保证；建议准则。MM4-P。国家临床实验室标准委员会（NCCLS）。Wayne，PA。1997；1-46

10. Elias JM，Gown AM，Nakamura RM，Wilbur DC，Herman GE，Jaffe ES，Battifora H，Brigati J.特别报告：免疫组化中的质量控制。Am J Clin Path 1989；92：836

11. Koretzik K，Lemain ET，Brandt I，and Moller P. 3-氨基-9-乙基咔唑（AEC）的变色及其在免疫过氧化物酶技术中的预防。组织化学1987；86：471-478

12. Nadji M，Morales AR。免疫过氧化物酶，第一部分：技术及其陷阱。Lab Med 1983；14：767

13.Omata M，Liew CT，Ashcavai M，Peters RL。辣根过氧化物酶与乙型肝炎表面抗原的非免疫结合：免疫组化中可能的错误来源。Am J Clin Path 1980；73：626

14. Herman GE和Elfont EA。免疫组化的控制：质量控制的新时代。Biotech＆Histochem 1991；66：194

（公司名称和地址和电话号码） 部分

编号：修订日期

**附录G：包装说明书中IHC抗体的科学文档完整性清单**

制造商

抗体的全称

**预期用途：**

**Y N N/A（下面列出的每一项，在适当的空白处填写）**

抗体的完整商品名

抗体克隆名称

抗体单克隆对多克隆

定量对定性

靶抗原（表位，如果已知）

测试方法

试样类型

固定剂

仪器仪表（如果适用）

产品被最佳稀释的二次染色系统（如果适用）

预期用途的安全性和有效性

“染色成功与否的临床解释应通过形态学研究和适当的对照进行补充，并且应该由患者的临床病史和由合格的病理学家进行其他诊断测试来评估。

**总结和说明：**

方法史（通常在二抗包装说明书中）

方法的优点和局限性（二抗包装说明书）

抗体特异性，抗原表征

共沉淀蛋白的分子量

抗原／表位的性质

参考WHO分类，如果声明

目标组织中阳性和阴性染色的总结

总结非预期的结果

尽可能在靶组织中染色的参考

参考非预期的结果

**程序原理：**

**Y N N/A（下面列出的每一项，在适当的空白处填写）**

原理得到充分解释

**提供的试剂：**

抗体试剂

提供的体积

来源（动物种类）

制备（例如，腹水、组织培养）

纯化技术

非反应性成分（缓冲剂、稳定剂和防腐剂）

免疫原与参考（这些参考文献应包含的方案筛选／选择单克隆抗体的克隆）。

克隆名称，参考文献，（如果要求的话，用于CD命名的参考文献）（如果是多克隆的，则不相关）

子类，如果可能的话，包括与参考的轻链同一性（如果是多克隆的，则不相关）

总蛋白浓度

特异性IgG浓度，以微克／mL和总蛋白的百分比表示

不相关抗体的浓度

特异性（简要总结，具体细节应加在总结和说明部分）

非特异性阴性试剂对照（如果有的话）

提供的体积

足以证明与一抗平行成分的表征

反应性和有害成分的化学名称

反应成分的数量、浓度或比例

缓冲液、防腐剂和稳定剂的表征

其他非抗体试剂（如果有的话）

提供的体积

反应性和有害成分的化学名称

反应成分的数量、浓度或比例

缓冲液、防腐剂和稳定剂的表征

**复溶，混合，稀释，滴定：**

**Y N N/A（下面列出的每一项，在适当的空白处填写）**

（最佳稀释使用的试剂）“最佳稀释用于（ ）（*自动化仪器，第二染色系统等*）进一步稀释可导致抗原染色的丧失。用户必须验证此类的变更。（参考：1988年临床实验室改进修正案，最终规则57FR 7163，1992年2月28日）用户实验室中组织处理和技术程序的差异可能导致需要定期执行内部控制的结果的显著差异（参见质量控制部分）。”

**未提供材料：**（具体细节可能在一抗的包装说明书中和二级染色试剂盒上）

试剂，未提供

中性缓冲福尔马林

阳性和阴性组织对照

阴性试剂控制

氢氧化铵，15M稀释至37mM

洗涤溶液

二次染色试剂盒或溶液

复染（推荐）

封固剂（推荐）

聚L-赖氨酸（或其他粘合材料）

蒸馏水

乙醇，无水乙醇和95％

二甲苯

消化酶（推荐）

过氧化氢

蛋白质封闭溶液

实验室设备，未提供

吸收性擦拭物

洗瓶

干燥炉能够保持温度70℃±5℃

自动化仪器

显微组织切片（给出质量标准或制造商推荐）

盖玻片（给出质量标准或制造商推荐）

**Y N N/A（下面列出的每一项，在适当的空白处填写）**

定时器（能够满足3到10分钟间隔）

湿度箱（可选）

染色罐或水浴

光学显微镜（20-80X）

**存储**：

建议如何处理、储存和稀释所提供的试剂

建议如何处理和储存稀释／制备的试剂

提供每种试剂从生产日期起的总保质期

“不要在瓶子上标注的有效期之后使用。”。

“如果试剂在除包装说明书规定以外的任何条件下储存，则用户必须进行验证。“（参考：1988年临床实验室改进修正：最终规则，第57卷第7163页，1992年2月28日）。

如果可能的话，特别是对于没有规定的有效期的重组试剂，设置过期变色标识。

**试样制备：（说明可以在一抗的包装说明书中和二级染色试剂盒上）**

所要求的试样类型，例如石蜡包埋、冷冻组织、细胞离心等等

参考、交叉参考和／或如何准备和修复所有声称的组织的说明。包括所有推荐固定浓度和固定时间的可接受的固定剂。

**染色前固定组织或细胞学试样的处理：**

试样的预处理：为组织或细胞学样品的预处理提供推荐性能和质量控制方法，交叉参考和／或指导说明。例如蛋白水解酶消化、脱钙、热（微波，蒸汽浴等））和／或测试材料的缓冲处理等。包括试剂的浓度、处理的持续时间、加热的温度范围、可接受结果的验证、疑难解答等。

给定的储存条件（X-X℃）

给定的组织块的稳定期

给定的切片或制备组织切片的稳定期

特殊预防措施

**注意事项：（见“建议格式：... 1”中的具体措辞）**

**Y N N/A（下面列出的每一项，在适当的空白处填写）**

“用于体外诊断”  
**（如果产品中含防腐剂，应标明有毒和危害信息。）。**

“用作防腐剂的叠氮化钠（NaN3）如果摄入会有毒性。叠氮化钠可能与铅和铜管道反应，形成高度易爆的金属叠氮化物。丢弃后，必须用大量的水冲洗，以防止在管道中积聚叠氮化物”21, 22。

“过度暴露于ProClin 300的症状可能包括皮肤和眼睛刺激以及对粘膜和上呼吸道的刺激。

***（如果适用的话，警告涉及毒性、致癌性、免疫敏感性等，特定组织准备或染色的任何试剂。参见包装说明书中潜在化合物列表和建议的措辞1。 ）***

AEC

DAB

OPD

将OPD和TMB避光存储

N，N-二甲基甲酰胺

甲醛（多聚甲醛）

有机试剂的易燃性

“甲醇有毒。请勿摄入“。

痕量金属的毒性作用

“有关处理任何潜在有毒物质的信息，请参见联邦、州或当地法规。”

“固定前后的试样，以及接触其的所有材料，都应处理以防止传播感染，并采取适当的预防措施处理.20切勿用嘴吸取试剂，避免皮肤和粘膜接触试剂和样品。如果试剂或样品与敏感部位接触，请用大量的水清洗。

“可能会发生试剂最小微生物污染或非特异性染色的增加。”

除规定以外的孵化时间或温度可能会导致错误的结果。用户必须确认任何此类的更改。

（如果以试剂盒的形式出售，说明是否包含的试剂可以跨试剂盒批号替换。）

**使用／染色程序的说明：**

**Y N N/A（下面列出的每一项，在适当的空白处填写）**

给出了充分的说明，包括交叉参考二次染色试剂盒、仪器手册或其他辅助标签或说明书或参考文献。

**质量控制：**

对照应该以与患者样品相同的方式尽快固定，处理和包埋新鲜尸检／活检／手术试样。这样的控制监测所有的分析步骤，从组织制备直到染色。使用与测试样品不同的组织固定或加工需要对所有试剂和方法步骤加以控制，除了固定和组织处理。

阳性组织对照：

推荐特定组织含弱阳性染色。

具有弱阳性染色的组织比具有强阳性染色的组织更适合于最佳质量控制和检测较小水平的试剂降解。参考文献：Battifora H.抗体对角蛋白的诊断用途：7个单克隆抗体和3个多克隆抗体的综述和免疫组化比较。“手术路径的进展6：1-15。eds。Fenoglio-Preiser C，Wolff CM，Rilke F.Field＆Wood，Inc.，Philadelphia。

使用阳性质量控制组织的频率。

“每次染色过程中应包括每组测试条件的一个阳性组织对照。

如果阳性组织对照未能显示阳性染色，样品的检测结果应视为无效。

阴性组织对照：

推荐用作阴性对照的特定组织

“该组织应显示不存在特异性染色，并提供特异性背景染色的指导。它也应该用来协助解释结果。

“大多数组织切片中存在不同细胞类型的多样性通常提供阴性对照位点，但这应由用户验证。

“如果在阴性组织对照中发生特异性染色，则认为患者试样的结果无效。

非特异性阴性试剂对照：

**Y N N/A（下面列出的每一项，在适当的空白处填写）**

（解释此对照的目的：）“使用阴性试剂对照代替一抗，使用每位患者样品的一部分，以评估非特异性染色，并更好地解释抗原位点的特异性染色。”

推荐理想的对照试剂。

推荐替代方案

“将阴性试剂对照物质稀释至与一抗／抗血清相同稀释度的稀释液。”

“阴性试剂对照的孵化期应对应于一抗的孵化期。”

“当在连续组织切片上使用几种抗体时，组织切片的负染色区域可以用作其他抗体的阴性／非特异性结合背景对照。”

检测验证：

“在诊断程序中首次使用抗体或染色系统之前，用户应当通过测试一系列内部组织来验证抗体的特异性，这些内部组织具有已知免疫组化性能特征，代表已知阳性和阴性组织。”

“对于每一新抗体批次，或每当检测参数发生变化时，应重复这些质量控制程序。性能特征部分列出的组织适用于检测验证。”

疑难解答（纠正措施）：

“请参见前面引用的疑难解答部分（***制造商的首选参考***）纠正措施，或联系（***公司名称***）技术服务部门（***电话号码***）报告异常染色。”

**染色的解释：**

阳性组织对照：

详细描述推荐的阳性对照组织的染色

“如果阳性组织对照未能显示阳性染色，测试样品的任何结果应视为无效。”

**Y N N/A（下面列出的每一项，在适当的空白处填写）**

（描述复染的表观：）“根据所用的苏木精的孵化长度和效力，复染将导致细胞核变为浅蓝色至深蓝色。过多或不完全的复染可能会影响结果的正确解释。

阴性组织控制：

（说明此控制的目的）“应在阳性组织对照后检查阴性组织对照，以验证通过一抗标记物靶抗原的特异性。在阴性组织对照中不存在特异性染色证实了缺乏与细胞／细胞组分的抗体交叉反应性。”

详细描述推荐的染色的阴性对照组织

如果在阴性外部组织对照中发生特异性染色，患者试样的结果应视为无效。

“如果存在非特异性染色的话，通常具有弥漫性外观。结缔组织的偶发性染色也可以在过度福尔马林固定的组织切片中观察到。使用完整的细胞解释染色结果。坏死或退化的细胞通常是非特异性染色。”（参考文献：Nadji M，Morales AR.免疫过氧化物酶，第一部分：技术和陷阱。Lab Med 1983；14：767）

患者组织：

“最后检查用（抗体名称）染色的患者试样。阳性染色强度应在阴性试剂对照的任何非特异性染色的背景下评估。”

“与任何免疫组化测试一样，阴性结果意味着未检测到抗原，而不是在检测的细胞／组织中不存在抗原。”

“如有必要，使用一组抗体来鉴定假阴性反应。”

“有关免疫反应性的特定信息，请参见总结和说明、局限性和性能特征。”

**一般局限性：**

免疫组化是一种多步诊断过程，需要对以下方面进行专门培训：选择合适的试剂；组织的选择，固定和加工、准备IHC组织切片和染色结果的解释。

**Y N N/A（下面列出的每一项，在适当的空白处填写）**

“组织染色取决于染色前组织的处理和加工。不正确的固定、冷冻、解冻、洗涤、干燥、加热、组织切片或其他组织或液体的污染可能产生伪影、抗体捕获或假阴性结果。结果不一致可能是由于固定和包埋方法的变化，或由于组织内固有的不规则性。”

“过多或不完全的复染可能会影响对结果的正确解释”。

“阳性或阴性染色的临床解释应在临床表现、形态学和其他组织病理学标准的背景下评估。阳性或阴性染色的临床解释应通过使用适当的阳性和阴性内部和外部对照以及其他诊断测试的形态学研究来补充。这是合格的病理学家的责任，合格的病理学家熟悉IHC抗体、试剂和方法的正确使用，可以解释最终制备IHC的所有步骤。

染色应在经认证的许可实验室中在病理学家的监督下进行，病理学家负责检查染色组织切片并确保阳性和阴性对照的充分性。

{仅适用于试剂盒}制造商提供这些抗体／试剂在最佳稀释使用的说明，按照IHC准备的组织切片或细胞学制备。任何偏离推荐的测试程序可能会使声明的预期结果失效；必须采用和记录适当的控制措施。用户偏离推荐测试程序，必须承担在这些情况下检测所得的患者结果的责任。

“在分化不良的肿瘤里非预期的负反应可能是由于抗原表达的丧失或显著减少或编码抗原的基因中的丢失或无意义突变。肿瘤里非预期的阳性染色可能是来自在形态学上类似正常细胞通常不表达的抗原的表达，或是来自形成与另一种细胞谱系（发散分化）相关的形态学和免疫组化特征的肿瘤抗原的持久或获得。肿瘤的组织病理学分类不是精确的科学，一些文献报道的非预期的染色可能是有争议的”。

**（如果数据不能用于流式细胞术中的一抗）：**本产品不适用于流式细胞术。尚未确定流式细胞术的性能特征。）。

“来自感染乙型肝炎病毒和含有乙型肝炎表面抗原（HBsAg）的人体组织可能表现出与辣根过氧化物酶的非特异性染色.27”

“试剂可能在以前未测试的组织中显示出非预期的反应。”

**Y N N/A（下面列出的每一项，在适当的空白处填写）**

“由于肿瘤或其他病理组织中抗原表达的生物变异性，测试的组织组里也可能产生非预期反应。联系***（公司名称和技术服务电话）***，并记录非预期的反应。”

“来自与所使用的二抗血清相同的动物来源的正常／非免疫血清在阻断步骤中可能由于自身抗体或天然抗体而导致假阴性或假阳性结果。

“由于蛋白质的非免疫结合，可以看到假阳性结果或底物反应产物。其还可以由假过氧化物酶活性（红细胞），内源性过氧化物酶活性（细胞色素C）或内源性生物素（例如肝、乳腺、大脑、肾）引起，这取决于所使用的免疫染色的类型。26

**产品具体局限性：（**充分讨论了产品的具体局限性）

假阴性

假阳性

交叉反应（如适用）

分析或临床测试结果的争议

**性能特征：**

重复性：

在使用／天内和使用／天之间的重复性结果充分呈现

免疫反应性：

测试的固定剂类型

测试的二次染色系统

组织反应性的总结

**疑难解答（用于二次染色试剂盒包装说明书）：**

组织切片没有染色

组织切片弱染色

组织切片背景过多

在孵化期间组织从组织切片上洗掉

特异性染色太暗

**参考书目：**

**Y N N/A（下面列出的每一项，在适当的空白处填写）**

所提供的参考是适当和充分的

制造商、包装商或经销商的名称／地点

上次修订标签的日期

