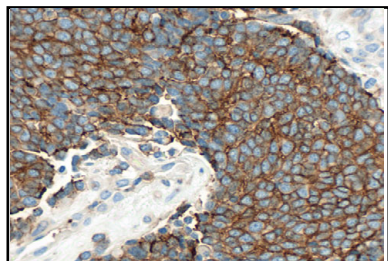


CONFIRM anti-CD99 (O13) Mouse Monoclonal Primary Antibody

REF 790-4452



Obrázek 1. Ewingův sarkom barvený pomocí protilátky CONFIRM anti-CD99 (O13) Mouse Monoclonal Antibody a soupravy *ultraView* Universal DAB Detection Kit

POUŽITÍ

Ventana Medical Systems' (Ventana) CONFIRM anti-CD99 (O13) Mouse Monoclonal Primary Antibody (CONFIRM anti-CD99 (O13)) působí proti lidskému CD99 exprimovanému na T lymfocytech, kortikálních tymocytech, buňkách granulózy ovaria, ostrůvkových buňkách pankreatu, ependymálních buňkách CNS a Sertolihových buňkách. CD99 se nachází na plazmatické membráně. Tato protilátka může být použita jakou součást panelu k identifikaci Ewing sarkomu a příbuzných periferních neuroektodermálních tumorů. Tato protilátka je určena ke

kvalitativnímu barvení tkáňových řezů fixovaných ve formalinu a zalitých v parafínu. Tento výrobek musí být interpretován kvalifikovaným patologem ve spojení s histologickým vyšetřením, relevantními klinickými informacemi a vhodnými kontrolami.

Tato protilátka je určena k diagnostice *in vitro* (IVD).

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Tato myši monoklonální protilátka, známá také jako MIC-2, je transmembránový glykoprotein přítomný na buněčné membráně Ewing sarkomu a primitivních periferních neuroektodermálních tumorů (PNET).¹ V hematopoetickém systému se CD99 účastní na buněčné adhezii a buněčné smrti, přispívá tedy k diferenciaci prekurzorů T-buněk.² CD99 je velmi rozšířen na mnoha typech normálních buněk se zvláště silnou expresí na buněčné linii T-buněk. Exprese je pozorována u normálních buněk, jako jsou např. ostrůvkové buňky pankreatu, kortikální tymocyty, Sertolihovy buňky a buňky ovariální granulózy.¹ Zralé granulocyty mají velmi malou nebo žádnou expresi CD99. Imunoreaktivita na proteiny byla rovněž pozorována na celé řadě neoplastických tkání, včetně gastrointestinálních a plicních neuroendokrinních tumorů, tumorů ze stromatu zárodečných pruhů, lymfoblastického lymfomu a u malého procenta karcinomů prsu.³⁻⁶

DODÁVANÁ ČINIDLA

CONFIRM anti-CD99 (O13) Mouse Monoclonal Primary Antibody obsahuje dostatek činidla pro 50 testů.

Jeden 5 mL dávkovač protilátky CONFIRM anti-CD99 (O13) obsahuje přibližně 2,65 µg myši monoklonální protilátky.

Protilátka je naředěna fosfátem pufovaným fyziologickým roztokem obsahujícím nosný protein a konzervační prostředek.

Celková proteinová koncentrace činidla je asi 3 mg/mL. Koncentrace specifické protilátky je asi 0,531 µg/mL. V tomto produktu není známa žádná nespecifická reaktivita protilátky.

CONFIRM anti-CD99 (O13) je monoklonální protilátka vyráběná z myšiho ascitu.

Podrobné popisy nalezete v příbalovém letáku k příslušné detekční soupravě Ventana: (1) Principy a metody, (2) Potřebné materiály a činidla, které však nejsou součástí dodávky, (3) Sběr vzorků a příprava pro analýzu, (4) Kontrola kvality, (5) Řešení problémů, (6) Interpretace výsledků a (7) Obecná omezení.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ SE NEDODÁVÁ

Barvicí činidla, například detekční soupravy Ventana detekční soupravy (*ultraView* Universal DAB Detection Kits) a přidavné materiály, včetně kontrolních sklíček pro negativní a pozitivní tkáň, nejsou součástí dodávky.

SKLADOVÁNÍ

Uchovávejte při teplotě 2-8°C. Chraňte před mrazem.

Aby byl zajištěn správný výkon činidla a stabilita protilátky, uzavřete dávkovač po každém použití víčkem a okamžitě jej umístěte ve vertikální poloze do chladničky.

Každý dávkovač s protilátkou má stanovenou dobu expirace. Je-li řádně skladováno, je činidlo stabilní do data uvedeného na štítku. Nepoužívejte činidla po vypršení data expirace.

PŘÍPRAVA VZORKŮ

Pro použití této primární protilátky s detekčními soupravami Ventana na barvicích automatech Ventana automated slide stainer jsou vhodné tkáně zpracované běžným způsobem, fixované ve formalínu a zalité v parafínu. Doporučené vhodné tkáňové fixativum je 10% neutrální pufovaný formalin.⁷ V zájmu zachování antigenosti nařezaných tkáňových řezů se musí řezy tkání barvit okamžitě.

Doporučuje se provádět souběžně s neznámými vzorky též pozitivní a negativní kontroly.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ PŘEDPISY

1. K diagnostice *in vitro*.
2. Tento produkt obsahuje 1% nebo méně bovinního séra, které se používá k výrobě této protilátky.
3. Zabraňte kontaktu činidel s očima a sliznicí. Jestliže se činidla dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je vydatným množstvím vody.
4. Zamezte mikrobiologické kontaminaci činidel.
5. Doporučené metody likvidace jsou uvedeny v celostátních a místních předpisech.

POSTUP BARVENÍ

Primární protilátky Ventana byly vyvinuty za účelem použití v barvicím automatu Ventana automated slide stainer ve spojení s detekčními soupravami a příslušenstvím výrobce Ventana. Doporučené barvicí protokoly pro přístroje BenchMark XT/BenchMark ULTRA s detekční soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit jsou uvedeny v tabulce 1.

Parametry automatických procedur lze zobrazit, vytisknout a upravovat podle postupů uvedených v Návodu k obsluze. Další podrobné informace o postupech imunohistochemického barvení naleznete v příbalovém letáku k příslušné detekční soupravě výrobce Ventana.

Tabulka 1. Doporučené barvicí protokoly pro CONFIRM anti-CD99 (O13) s detekční soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit na barvicím automatu BenchMark XT/BenchMark ULTRA

Typ postupu	Způsob
Odstraňování parafínu	Zvoleno
Úprava buněk (odmaskování antigenu)	Standardní Cell Conditioning 1
Enzym (proteáza)	Není vyžadován
Protilátka (primární)	Přístroj BenchMark XT asi 16 minut, 37°C Přístroj BenchMark ULTRA asi 16 minut, 36°C
Kontrastní barvivo	Hematoxylin II, 4 minuty
Po kontrastním barvení	Bluing Reagent, 4 minuty

Vzhledem k různým způsobům fixace a zpracování tkání může být potřeba zvýšit nebo snížit inkubační doby primární protilátky, úpravy buněk nebo předběžného zpracování proteázou na jednotlivých vzorcích a v závislosti na použité metodě detekce. Další informace o různých fixacích naleznete v příručce „Immunohistochemistry Principles and Advances“.⁸

TKÁŇ PRO POZITIVNÍ KONTROLU

Příkladem pozitivních kontrolních tkání pro tuto protilátku jsou ostrůvkové buňky pankreatu a Sertolihovy buňky vartat.

INTERPRETACE ZABARVENÍ

Buněčný barvicí vzor pro CONFIRM anti-CD99 (O13) je membránový.

SPECIFICKÁ OMEZENÍ

Tato protilátka byla optimalizována pro inkubační dobu v délce 16 minut pro použití na přístroji BenchMark XT/BenchMark ULTRA v kombinaci s detekční soupravou *ultraView*

Universal DAB Detection Kit (REF 760-500); uživatel však musí výsledky získané použitím tohoto činidla ověřit.

CHARAKTERISTIKY ÚČINNOSTI

1. Specificita protilátky CONFIRM anti-CD99 (O13) byla stanovena testováním normálních a neoplastických tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu.
U normálních tkání byly výsledky následující: velký mozek (0/3), malý mozek (0/3), nadledvina (0/3), vaječník (0/3), slinivka břišní (3/6), příštítná žláza (0/3), hypofýza (0/3), varlata (7/7), štítná žláza (0/3), prs (0/3), slezina (1/3), mandle (0/3), brzlík (3/3), myeloidní tkáň (0/3), plíce (0/3), jícen (0/3), žaludek (0/3), tenké střevo (0/3), tlusté střevo (0/3), játra (0/3), slinná žláza (0/3), ledvina (2/3), prostata (2/3), endometrium (0/3), děložní hrdlo (0/3), kosterní sval (0/3), kůže (0/3), mezotel a plíce (0/3).
U neoplastických tkání byly výsledky následující: glioblastom (1/1), atypický meningeom (0/1), maligní ependymom (0/1), oligodendrogliom (0/1), serózní papilární adenokarcinom (0/1), mucinózní papilární adenokarcinom (0/1), karcinom ostrůvkových buněk (3/9), adenokarcinom pankreatu (0/1), seminom (0/1), embryonální karcinom (0/1), medulární karcinom (0/1), papilární karcinom (0/1), intraduktální karcinom (0/1), lobulární karcinom prsu in situ (0/1), invazivní ductální karcinom (0/1), difuzní lymfom z B-buněk (0/1), nediferencovaný malobuněčný karcinom (0/1), plicní karcinom z dlaždicových buněk (0/1), adenokarcinom plic (0/1), dlaždicový karcinom jícnu (0/1), adenokarcinom jícnu (0/1), mucinózní adenokarcinom žaludku (0/1), adenokarcinom tenkého střeva (0/1), GIST (0/3), adenokarcinom tlustého střeva (0/1), adenokarcinom rekta (0/1), hepatocelulární karcinom (0/1), hepatoblastom (1/1), karcinom z jasných buněk (0/1), adenokarcinom prostaty (0/1), karcinom prostaty z přechodných buněk (0/1), leiomyom (0/1), adenokarcinom endometria (0/1), karcinom endometria z jasných buněk (0/1), embryonální rhabdomyosarkom (0/7), maligní melanom (0/1), karcinom z bazálních buněk (0/1), karcinom z dlaždicových buněk (0/3), neurofibrom (1/1), neuroblastom (0/1), epitelální maligní mezoteliom (1/1), difuzní maligní lymfom (1/3), Hodgkinův lymfom (0/1), karcinom z přechodných buněk s dlaždicovou metaplasii (0/1), leiomyosarkom (0/9), osteosarkom (0/1), rhabdomyosarkom z vřetenových buněk (0/1), endodermální nádor (0/4), embryonální karcinom (3/4), PNET (4/5), kortikální adenokarcinom nadledvinek (0/20), neuroendokrinní karcinom (0/10), karcinoid (0/17), atypický karcinoid (3/22), chronický zánět hyperplastické fibrózní tkáně (0/1), maligní fibrózní histiocytom (1/7), synoviální sarkom (0/6), liposarkom (0/3), extracelulární osteosarkom (0/2), maligní nádor pochvy periferního nervu (0/1), chordom (0/2), maligní metastatický mezenchymom (0/1).
2. Reprodukovatelnost mezi šaržemi byla stanovena testováním 3 šarží na 1 bloku z více tkání (3 tkáně v jednom bloku, 2 skla na jednu šarž) na barvicím automatu BenchMark XT. 18 z 18 testovaných ze všech 3 šarží měly ekvivalentní skóre.
3. Reprodukovatelnost mezi cykly byla stanovena barvením 2 bloků z více tkání (3 tkáně v jednom bloku, celkem 6 tkání) na 5 sklech na přístroji BenchMark XT po dobu 5 dnů, které nenásledovaly po sobě. 150 ze 150 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.
4. Reprodukovatelnost uvnitř cyklu byla stanovena barvením 2 bloků z více tkání (3 tkáně v jednom bloku, celkem 6 tkání) na 14 sklech na přístroji BenchMark XT. 84 z 84 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.
5. Reprodukovatelnost uvnitř platformy byla stanovena barvením 2 bloků z více tkání (3 tkáně v jednom bloku, celkem 6 tkání) na 5 sklech na 3 přístrojích BenchMark XT. 90 z 90 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.
6. Reprodukovatelnost uvnitř platformy byla stanovena na základě barvení 1 bloku z více tkání (3 tkáně v jednom bloku) na 5 sklech na 3 přístrojích BenchMark ULTRA. 45 ze 45 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.
7. Reprodukovatelnost barvení mezi platformami byla stanovena na základě barvení 1 bloku z více tkání (3 tkáně v jednom bloku) na 5 sklech na 3 přístrojích BenchMark XT a 3 přístrojích BenchMark ULTRA. 90 z 90 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.
8. Shodně s detekčními soupravami MIEW DAB a *ultraView* Universal DAB Detection Kits.

LITERATURA

1. Ambros IM, Ambros PF, Strehl S, Kovar H, Gadner H, Salzer-Kuntschik M. MIC2 is a specific marker for Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors. *Cancer* 1991;67:1886-1893.
2. Scotlandia, K, Baldini N, Cerisano V, Manara MC, Benini S, Serra M, Lollini P, Nanni P, Nicoletti GB, Bernard A, Picci P. (2000), "CD99 Engagement: An Effective Therapeutic Strategy for Ewing Tumors", *Cancer Research* (60):5134-5142.
3. Milanezi F, Pereira EM, Ferreira FV, Leitao D, Schmitt FC. CD99/MIC-2 surface protein expression in breast carcinomas. *Histopathology* 2001;39:578-583.
4. Pelosi G, Frassetto F, Sonzogni A et al. CD99 immunoreactivity in gastrointestinal and pulmonary neuroendocrine tumours. *Virchows Arch.* 2000;437:270-274.
5. Gordon MD, Corless C, Renshaw AA, Beckstead J. CD99, keratin, and vimentin staining of sex cord-stromal tumors, normal ovaries, and testis. *Mod. Pathol.* 1998;11:769-773.
6. Ozdemirli M, Fanburg-Smith JC, Hartmann DP, Azumi N, Miettinen M. Differentiating lymphoblastic lymphoma and Ewing's sarcoma: lymphocyte markers and gene rearrangement. *Mod. Pathol.* 2001;14:1175-1182.
7. Sheehan DC, Hrapchak BB. *Theory and Practice of Histotechnology*, 2nd Edition. The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1980.
8. Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

CONFIRM, *ultraView*, BENCHMARK, VENTANA a logo Ventana jsou ochranné známky společnosti Roche.

Konečnému uživateli je poskytována společností Ventana jednorázová licence v souladu s patenty USA, čísla 6045759, 6192945, 6416713, 6945128 a 7378058, a zahraničními stejnopisy.

KONTAKTNÍ INFORMACE



Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)



www.ventanamed.com



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany