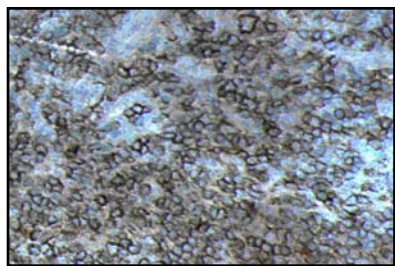


Anti-CD43 (L60) Mouse Monoclonal Primary Antibody

Katalogové číslo 760-2511



Obr 1. Zdravá mandle obarvená protilátkou Anti-CD43 (L60)

Anti-CD43 (L60) je určena pro kvalitativní barvení řezů tkání fixovaných formalínem a zalitých v parafínu v barvicím automatu Ventana. Klinická interpretace jakéhokoliv barvení nebo nepřítomnosti barvení musí být doplněna morfoloogickými studii a hodnocením řádných kontrol. Hodnocení musí provést kvalifikovaný patolog v kontextu klinické anamnézy pacienta a ostatních diagnostických testů.

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Látka CD43 (také známá jako leukosialin nebo sialoforin) je glykoproteinový antigen exprimovaný na plazmatické membráně a v cytoplazmě T-buněk, buněk myeloidního původu a některých B-buněk. Test Western Blotting prokazuje heterogenitu pásem zbarvených antigenem v rozsahu 110–160 kD. Látka CD43 je exprimována většinou lymfomů T-buněk a některými lymfomy B-buněk.¹ Anti-CD43 (L60) specificky váže antigeny umístěné v buněčné membráně a cytoplazmatických oblastech normálních granulocytů, monocytů, histiocytů, T buněk a některých B buněk. Tumory exprimující tento antigen obsahují většinu lymfomů T-buněk a některé lymfomy Bbuněk.⁴

DODÁVANÉ REAGENCIE

Anti-CD43 (L60) obsahuje dostatečné množství reagentů pro zbarvení 50 sklíček.

Jeden 5 mL dávkovač reagentů Anti-CD43 (L60) obsahuje přibližně 5 µg ěg myší monoklonální protilátky namířené proti látce CD43 v tkáni.

Protilátka je zředěna ve fyziologickém roztoku pufovaném ve fosfátu obsahujícím přenašečový protein a 0,10 % konzervační látky ProClin 300.

Celková koncentrace proteinu v reagentu je přibližně 3 mg/mL. Koncentrace specifické protilátky je přibližně 1 µg/mL.

Myší monoklonální protilátka Anti-CD43 (L60) byla očištěna od supernatantu tkáňových kultur nebo tekutiny ascites pomocí afinitní chromatografie.

Protilátka je optimalizována pro použití v barvicím automatu Ventana ve spojení s detekčními soupravami Ventana. Není vyžadována rekonstituce, smísení, ředění nebo titrace.

V příslušné příbalové informaci detekční sady Ventana najdete tyto další informace: (1) Principy a postupy, (2) Potřebné materiály a reagenty, které nejsou součástí dodávky, (3) Příprava vzorků, (4) Kontrola kvality, (5) Řešení problémů, (6) Interpretace barvení a (7) Všeobecná omezení.

POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY

Barvicí reagenty, jako například detekční sada Ventana (např. View DAB Detection Kit) a doplňkové komponenty včetně sklíček s negativními a pozitivními kontrolami tkáně, nejsou součástí dodávky.

UCHOVÁVÁNÍ

Uchovávejte při 2–8 °C. Nezmrazujte.

Pro zajištění správného účinku reagentů a stability protilátek je nutné po každém použití vždy uzavřít víčko a uschovat dávkovač neprodleně do lednice ve vzpřímené poloze.

Každý dávkovač s protilátkou je označen datem použitelnosti. Při správném skladování je reagenty stabilní do data vyznačeného na štítku. Po uplynutí doby použitelnosti reagenty nepoužívejte.

PŘÍPRAVA VZORKU

K použití s touto primární protilátkou jsou vhodné rutinně zpracované tkáně fixované formalínem a zalité v parafínu, jsou-li použity společně s detekčními sadami Ventana a barvicím automatem Ventana. Doporučeným tkáňovým fixačním roztokem je 10% neutrální pufovaný formalin.² Sklíčka by měla být neprodleně obarvena, protože antigenita tkáňových řezů se časem může zhoršit.

Doporučujeme, aby se pozitivní a negativní kontroly prováděly současně s neznámými vzorky.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Pro diagnostické použití *in vitro*.
2. Zamezte kontaktu reagentů s očima a sliznicemi. Při zasažení citlivých míst opláchněte postižená místa velkým množstvím vody.
3. Protilátka obsahuje 2 % nebo méně bovinního séra používaného při výrobě protilátky.
4. Ohledně doporučené metody likvidace se obraťte na místní nebo státní úřady.
5. Zamezte mikrobiální kontaminaci reagentů.

BARVICÍ POSTUP

Primární protilátky Ventana byly vyrobeny za účelem použití v barvicím automatu Ventana v kombinaci s detekční soupravou a příslušenstvím Ventana. Doporučený protokol barvení pro přístroj BenchMark XT s detekční soupravou View DAB Detection Kit (760-091) je uveden v tabulce 1. Parametry pro automatické postupy lze zobrazit, vytisknout a upravovat podle pokynů v návodu k obsluze přístroje. Další informace ohledně imunohistochemických postupů barvení viz příslušnou příbalovou informaci detekční sady Ventana.

Tabulka 1. Doporučený barvicí protokol pro Anti-CD43 (L60) s detekční soupravou View DAB Detection Kit na přístroji BenchMark XT.

Typ postupu	Metoda
	Přístroj BenchMark XT
Odparafinování	Zvoleno
Úprava buněk (odmaskování antigenu)	Cell Condition 1, standardní
Enzym (proteáza)	Není vyžadováno
Protilátka (primární)	Přibližně 16 minut při 37 °C
A/B Blok (Blokování biotinu)	Volitelné
Amplifikovat (amplifikace)	Volitelné
Kontrastní barvivo	Hematoxylin, 2 až 4 minuty
Po kontrastním barvivo	Bluing, 2 až 4 minuty

Z důvodu variace tkáňových fixací a při zpracování tkání, a také různosti celkového stavu laboratorního vybavení a podmínek okolního prostředí může být nutné zvýšit nebo snížit inkubační dobu primární protilátky a úpravy buněk v závislosti na jednotlivých vzorcích, použité detekci a preferencích uživatele. Další informace o odchylkách fixací naleznete v příručce „Immunohistochemistry Principles and Advances“.³

POZITIVNÍ KONTROLA TKÁNĚ

Příkladem pozitivní kontrolní tkáně pro protilátka Anti-CD43 (L60) je normální tonsila.

INTERPRETACE BARVENÍ

Vzor buněčného barvení pro Anti-CD43 (L60) je v plazmatické membráně a cytoplazmatických oblastech.

SPECIFICKÁ OMEZENÍ

Tato protilátka byla optimalizována pro 16 minutovou inkubační dobu v přístroji BenchMark XT v kombinaci s detekční soupravou View DAB Detection Kit; uživatel však musí výsledky získané pomocí této reagenty ověřit.

VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

1. Specifita přípravku Anti-CD43 (L60) byla stanovena testováním zdravých a nádorových tkání fixovaných formalínem a zalitých do parafínu. Výsledky u zdravé

tkáně jsou tyto: Nadledvinky (1/3), kostní dřev (1/3), mozek (1/3), mozeček (0/3), prs (2/3), cervix (3/3), tlusté střevo (3/3), jícen (2/3), srdce (2/3), hypofýza (1/3), tenké střevo (2/3), ledviny (2/3), játra (2/3), plíce (2/3), lymfatická uzlina s reaktivním zduřením (1/1), mezotel (3/3), nerv (1/3), vaječník (3/3), slinivka břišní (3/3), přišitné tělísko (2/3), prostata (2/3), slinná žláza (2/3), kůže (3/3), slezina (3/3), žaludek (2/3), příčně pruhovaný sval (0/3), varle (3/3), brzlík (3/3), štítná žláza (0/3), mandle (3/3) a děloha (3/3). Výsledky u nádorové tkáně jsou tyto: Atypický meningeom (1/1), glioblastom (1/1), ependymom (1/1), oligodendrogliom (0/1), ovariální serózní papilární adenokarcinom (1/1), ovariální mucinózní papilární adenokarcinom (1/1), karcinom z ostrůvkových buněk (1/1), adenokarcinom slinivky břišní (1/1), seminom varlat a embryonální karcinom (2/2), medulární karcinom štítné žlázy (1/1), papilární karcinom štítné žlázy (1/1), karcinom prsu (3/3), difúzní lymfom velkých B-buněk (32/39), lymfom z plášťových buněk (0/1), lymfom asociovaný s mukózní tkání (5/5), lymfoblastický lymfom (1/1), anaplastický velkobuněčný lymfom (1/1), malobuněčný lymfom (2/2), lymfom T-buněk (0/15), karcinom plic (3/3), dlaždicobuněčný karcinom a adenokarcinom jícnu (2/2), adenokarcinom žaludku (1/1), adenokarcinom a novotvar z pojivové tkáně střeva (2/2), kolorektální adenokarcinom a novotvar z pojivové tkáně (4/4), hepatocelulární karcinom (0/1), hepatoblastom (0/1), světlóbuněčný karcinom (1/1), adenokarcinom prostaty (1/1), karcinom prostaty z přechodných buněk (1/1), leiomyom dělohy (0/1), karcinom endometria (1/1), dlaždicobuněčný karcinom dělohy a karcinom dělohy z jasných buněk (3/3), embryonální rhabdomyosarkom (1/1), rektální melanom (0/1), basaliom kůže (0/1), dlaždicobuněčný karcinom kůže (1/1), neurofibrom a neuroblastom (1/2), maligní mezoteliom (1/1), Hodgkinův lymfom (4/4), karcinom z přechodných buněk v močovém měchýři (1/1), leiomyosarkom (2/2), osteosarkom (1/1) a rhabdomyosarkom z vřetenovitých buněk (1/1).

2. Senzitivita je závislá na konzervaci antigenu. Jakákoli nesprávná manipulace s tkání během fixace, řezání, zalévání nebo uchovávání, která mění antigenost, zeslabuje detekci CD43 při použití Anti-CD43 (L60) a může vést k falešně negativním výsledkům.
3. Reprodukovatelnost barvení v rámci cyklu (intra run) byla stanovena na základě barvení 5 sklíček obsahujících stejnou tkáň. Pět z 5 sklíček bylo zbarveno pozitivně. Všechna sklíčka se zbarvila ve stejné intenzitě. Uživatel musí ověřit reprodukovatelnost výsledků v rámci jednoho cyklu barvením různých setů sériových řezů s nízkou, střední a vysokou hustotou antigenu v jednom cyklu.
4. Reprodukovatelnost barvení mezi cykly (inter run) byla stanovena na základě barvení sklíček obsahujících stejnou tkáň v 5 různých přístrojových cyklech. Pět z 5 sklíček bylo zbarveno pozitivně. Všechna sklíčka se zbarvila v podobné intenzitě. Uživatel musí ověřit reprodukovatelnost výsledků mezi cykly barvením různých setů sériových řezů s nízkou, střední a vysokou hustotou antigenu v různých dnech.

LITERATURA

1. Strickler JG, Weiss LM, Copenhaver CM, Bindl J, McDaid R, Buck D, Warnke R. Monoclonal antibodies reactive in routinely processed tissue sections of malignant lymphoma, with emphasis on T cell lymphomas. Hum Pathol. Aug; 18(8):808-14, 1987.
2. Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition. The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1980.
3. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.
4. Stross WP, Warnke RA, Flavell DJ, Flavell SU, Simmons D, Gatter KC, Mason DY. Molecule detected in formalin fixed tissue by antibodies MT1, DF-T1, and L60 (Leu-22) corresponds to CD43 antigen. J Clin Pathol Sep;42(9):953-61, 1989.

DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

BENCHMARK, VENTANA a logo Ventana jsou ochrannými známkami společnosti Roche.

Všechny ostatní ochranné známky jsou vlastnictvím jejich příslušných vlastníků.

Společnost Ventana uděluje kupujícímu licenci pouze na jedno použití v rámci těchto patentů USA: 6045759, 6192945, 6416713, 6945128 a 7378058 a jakýchkoli zahraničních ekvivalentů.

KONTAKTNÍ ÚDAJE



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