

**FLEX
Polyclonal Rabbit
Anti-Human IgG
Ready-to-Use
(Dako Omnis)**

Kód GA512

Použití	Pro diagnostiku in vitro. FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human IgG, Ready-to-Use (Dako Omnis) je určen k použití v imunohistochemii (IHC) společně s přístroji řady Dako Omnis. Tato protilátka značí buňky exprimující IgG ve tkáních fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu (FFPE). Diferenční klasifikaci napomáhají výsledky z panelu protilátek. Klinickou interpretaci zbarvení nebo jeho nepřítomnosti je třeba doplnit morfologickým vyšetřením s využitím patřičných kontrol a vyhodnotit s přihlédnutím k pacientově klinické anamnéze a k dalším diagnostickým testům provedeným kvalifikovaným patologem. Tato protilátka je určena k použití po primární diagnóze tumoru provedené konvenční histopatologií za použití neimunologických histochemických zbarvení.																														
Souhrn a výklad	Lidské imunoglobuliny v zásadě obsahují dva identické těžké řetězce (molekulární hmotnost přibližně 50 000) a dva identické lehké řetězce (molekulární hmotnost přibližně 20 000). Čtyři řetězce jsou kovalentně propojeny disulfidovými vazbami. Lehké řetězce jsou kappa nebo lambda. Pět izoform/tříd imunoglobulinů, IgA, IgD, IgE, IgG a IgM, se liší, pokud jde o velikost a složení těžkého řetězce. IgA a IgM se také vyskytují v polymerových formách. Těžké řetězce imunoglobulinů jsou označeny řeckými písmeny, tj. IgG je známý jako gama řetězec. V normálním séru je IgG hlavní třídou imunoglobulinů, která tvoří asi 75 % všech imunoglobulinů (1). Normální populace B buněk je polyklonální a též exprimuje celou řadu různých molekul imunoglobulinu. Naproti tomu je většina B-buněčných neoplazií charakterizována proliferací monoklonálních buněk exprimujících pouze jeden typ lehkého řetězce, ale stále si zachovávají různorodost co do velikosti těžkého řetězce a složení. Omezená exprese imunoglobulinů proliferacemi monoklonálních B-buněk vede k užitečnosti protilátek specifických pro lehké a těžké řetězce imunoglobulinů při klasifikaci těchto neoplazií (2). Protilátky k IgG se ukázaly jako nápomocné při klasifikaci B-buněčných neoplazií (3–5). V příručce <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> (Obecné pokyny pro imunohistochemické barvení) společnosti Dako nebo v návodu k systému detekce pro IHC metody naleznete informace týkající se těchto témat: Princip metody, Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky, Skladování, Příprava vzorku, Postup barvení, Kontrola kvality, Řešení problémů, Interpretace zbarvení, Obecná omezení.																														
Dodávaná reagensie	Polyklonální králíčí protilátka připravená k použití se dodává v kapalné podobě v pufru s obsahem stabilizujícího proteinu a 0,015 mol/l azidu sodného.																														
Imunogen	IgG izolovaný ze sdružených normálních lidských sér.																														
Specifická	Protilátka reaguje s gama řetězcem lidského IgG. Stopy nežádoucí protilátky byly odstraněny absorpcí v pevné fázi. Specifická protilátky byla ověřena následovně: Křížová imunoelektroforéza: Při použití 12,5 µl koncentrované protilátky na každý cm2 gelové oblasti proti 2 µl lidské plazmy se objeví pouze imunoprecipitační křivka IgG. Barvení: Coomassie Brilliant Blue. ELISA: Nebyla pozorována žádná významná reakce při testu ELISA, když se použije IgA a IgM jako pokrývající antigeny. Při použití sendvičové metody ELISA nedochází k významné reakci s lidskou plazmou, z níž byl odstraněn IgG.																														
Bezpečnostní opatření	1. K diagnostice in vitro 2. Určeno pro profesionální uživatele. 3. Tento výrobek obsahuje azid sodný (NaN3), který je v čisté formě vysoce toxický. Koncentrace azidu sodného v produktu není sice klasifikována jako nebezpečná, nicméně sloučenina může reagovat s olovem a mědí v odpadním potrubí a vytvářet vysoce explozivní azidy těchto kovů. Při likvidaci splachujte dostatečným množstvím vody, aby nedocházelo k usazování azidů kovů v potrubí. 4. Jako u každého výrobku biologického původu je nutno dodržovat správné postupy zacházení. 5. Používejte odpovídající osobní ochranné prostředky, aby nedošlo k zasažení očí nebo pokožky. 6. Nespotebované roztoky je nutno likvidovat v souladu s místními a celostátními předpisy.																														
Uchovávání	Skládujte při teplotě 2-8 °C. Během skladování musí být víčko uzavřené. Nepoužívejte po datu expirace uvedeném na lahvičce. Aplikační stabilita je 375 hodin. Aplikační stabilitu sleduje software Dako Omnis. Pokud se reagensie skladují za jakýchkoli jiných než uvedených podmínek, musí uživatel tyto podmínky ověřit. Případná nestabilita výrobku se neprojevuje žádnými známkami. Proto je nutno provádět současně s testováním vzorků pacienta pozitivní a negativní kontroly. Pokud pozorujete neočekávané zbarvení, které nelze vysvětlit změnami laboratorních postupů, a máte podezření, že se jedná o problém s protilátkou, obraťte se na technickou podporu společnosti Dako.																														
Šablona protokolu barvení*	<table><tr><th>Krok</th><th>Reagensie</th><th>Protokol</th></tr><tr><td>Barvení pozadí</td><td>Hematoxylin (kód GC808)</td><td>3minutová inkubace</td></tr><tr><td>Činidlo pro negativní kontrolu</td><td>FLEX Negative Control, Rabbit (kód GA600)</td><td>Inkubace 17 min 30 s</td></tr><tr><td>Montáž</td><td>Je vyžadována bezvodá permanentní montáž</td><td>Po vyjmutí nutno dehydratovat, vyčistit a namontovat</td></tr><tr><td>Odparafinování</td><td>Clarity™(kód GC810)</td><td>Výchozí</td></tr><tr><td>Primární protilátka</td><td>Ready-to-Use (kód GA512)</td><td>Inkubace 17 min 30 s</td></tr><tr><td>Předběžné zpracování</td><td>EnVision FLEX, FLEX, High pH (kód GV804)</td><td>30minutové tepelné indukované vyhledávání epitopu</td></tr><tr><td>Vizualizace</td><td>EnVision FLEX (kód GV800)</td><td>Blok: 3 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min</td></tr><tr><td>Kontrola kvality</td><td>Tkáň</td><td>Barvicí vzor</td></tr><tr><td>Kontrolní tkáň</td><td>Mandle</td><td>Cytoplazmatické a/nebo membránové zbarvení</td></tr></table> <i>*Uživatel se musí vždy seznámit s používanými činidly, která jsou uvedena v příbalové informaci, a vyhledat si podrobnosti v uživatelských příručkách Dako Omnis.</i>	Krok	Reagensie	Protokol	Barvení pozadí	Hematoxylin (kód GC808)	3minutová inkubace	Činidlo pro negativní kontrolu	FLEX Negative Control, Rabbit (kód GA600)	Inkubace 17 min 30 s	Montáž	Je vyžadována bezvodá permanentní montáž	Po vyjmutí nutno dehydratovat, vyčistit a namontovat	Odparafinování	Clarity™(kód GC810)	Výchozí	Primární protilátka	Ready-to-Use (kód GA512)	Inkubace 17 min 30 s	Předběžné zpracování	EnVision FLEX, FLEX, High pH (kód GV804)	30minutové tepelné indukované vyhledávání epitopu	Vizualizace	EnVision FLEX (kód GV800)	Blok: 3 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min	Kontrola kvality	Tkáň	Barvicí vzor	Kontrolní tkáň	Mandle	Cytoplazmatické a/nebo membránové zbarvení
Krok	Reagensie	Protokol																													
Barvení pozadí	Hematoxylin (kód GC808)	3minutová inkubace																													
Činidlo pro negativní kontrolu	FLEX Negative Control, Rabbit (kód GA600)	Inkubace 17 min 30 s																													
Montáž	Je vyžadována bezvodá permanentní montáž	Po vyjmutí nutno dehydratovat, vyčistit a namontovat																													
Odparafinování	Clarity™(kód GC810)	Výchozí																													
Primární protilátka	Ready-to-Use (kód GA512)	Inkubace 17 min 30 s																													
Předběžné zpracování	EnVision FLEX, FLEX, High pH (kód GV804)	30minutové tepelné indukované vyhledávání epitopu																													
Vizualizace	EnVision FLEX (kód GV800)	Blok: 3 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min																													
Kontrola kvality	Tkáň	Barvicí vzor																													
Kontrolní tkáň	Mandle	Cytoplazmatické a/nebo membránové zbarvení																													
Příprava vzorku	<u>Parafinové řezy:</u> Protilátku lze používat k značení řezů tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu. Vzorky tkání je nutno rozřezat na řezy o tloušťce 4 µm. Z důvodu vyšší přilnavosti řezů tkání k podložním sklům se doporučuje používat podložní skla FLEX IHC Microscope Slides, kód K8020.																														

Postup barvení

Odstranění parafínu, vyhledání cíle, imunohistochemické barvení a kontrastní barvení se provádějí v přístroji Dako Omnis. V softwaru přístroje Dako Omnis jsou předem naprogramovány kroky barvení a inkubační doby. Pokud není v systému Dako Omnis připraven protokol, lze jej stáhnout ze stránky *Dako Omnis Protocol Update* (Aktualizace protokolu Dako Omnis) na webu www.agilent.com. Podrobné pokyny ke vkládání podložních skel a plnění činidel naleznete v Základní uživatelské příručce Dako Omnis.

Přístroj Dako Omnis zajistí, aby tkáňové řezy během předběžného zpracování a následného imunohistochemického barvení nevyschly.

Předpůsobení: Odstranění parafínu z tkáňových řezů FFPE se provádí pomocí roztoku Clearify™, kód GC810. Doporučuje se vyhledávání cíle s tepelně indukovaným vyhledáváním epitopu (HIER) pomocí naředěného roztoku EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Dako Omnis), kód GV804.

Vizualizace: Doporučený vizualizační systém je EnVision FLEX, High pH (Dako Omnis), kód GV800.

Kontrastní barvení: Doporučené kontrastní barvivo je Hematoxylin (Dako Omnis), kód GC808.

Montáž: Po provedení barvení v přístroji se řezy musí dehydratovat, vyčistit a namontovat pomocí permanentní montážní metody.

Kontrola kvality

Pozitivní a negativní kontrolní tkáň a také reagenty pro negativní kontrolu je nutno provádět vždy současně použitím stejného protokolu jako vzorky pacienta. Tkáň pro pozitivní kontrolu musí obsahovat mandle a buňky/struktury musí zobrazovat vzor reakce, jak je stanoveno pro tuto tkáň v části „Charakteristiky účinnosti“. Doporučené činidlo pro negativní kontrolu je FLEX Negative Control, Rabbit (Dako Omnis), kód GA600.

Interpretace zbarvení

Buněčný barvicí vzor je cytoplazmatický a/nebo membránový.

Charakteristiky účinnosti

Charakteristiky účinnosti zavedeny u Dako Omnis (GI10030) a jsou platné pro všechny přístroje řady Dako Omnis, které jsou v současnosti dostupné na trhu.

Normální tkáň: V mandlích vykazaly imunoblasty a plazmatické buňky v zárodečných centrech střední až silné cytoplazmatické a/nebo membránové zbarvení.

Reaktivita normální tkáně (7).

Typ tkáně (počet testovaných)	Označené prvky tkáně	Typ tkáně (počet testovaných)	Označené prvky tkáně
Brzlík (3)	0*/3	Periferní nervy (3)	0*/3
Děloha (3)	0*/3	Plíce (3)	3**/3 Původ pozitivních buněk nehodnocen
Děložní hrdlo (3)	3**/3 Původ pozitivních buněk nehodnocen	Prostata (3)	3**/3 Původ pozitivních buněk nehodnocen
Hypofýza (3)	0*/3	Prs (3)	0*/3
Játra (3)	0*/3	Příštítná tělíska (3)	0*/3
Jícen (3)	3**/3 Původ pozitivních buněk nehodnocen	Slezina (3)	0*/3
Kosterní sval (3)	0*/3	Slinná žláza (3)	3**/3 Původ pozitivních buněk nehodnocen
Kostní dřev (3)	0*/3	Srdce (3)	0*/3
Kůže (3)	3**/3 Původ pozitivních buněk nehodnocen	Štítná žláza (3)	1**/3 Původ pozitivních buněk nehodnocen
Ledvina (3)	3**/3 Původ pozitivních buněk nehodnocen	Tenké střevo (3)	3**/3 Původ pozitivních buněk nehodnocen
Mandle (3)	3**/3 Plazmatické buňky a některé buňky v zárodečných centrech	Tlusté střevo (3)	3**/3 Původ pozitivních buněk nehodnocen
Mozek, malý mozek (3)	0*/3	Vaječník (3)	0*/3
Mozek, velký mozek (3)	0*/3	Varlata (3)	0*/3
Nadledvina (3)	0*/3	Výstelkové buňky (hrudní stěna, břišní stěna, perikard, povrch gastrointestinální soustavy, vzorky srdce a/nebo plic) (3)	3**/3 Původ pozitivních buněk nehodnocen
Pankreas (3)	1**/3 Původ pozitivních buněk nehodnocen	Žaludek (3)	3**/3 Původ pozitivních buněk nehodnocen

* S největší pravděpodobností neoznačeno, ale nějaké zbarvení pozadí bylo pozorováno. ** S největší pravděpodobností označeno, ale nějaké zbarvení pozadí bylo pozorováno.

Abnormální tkáň: Ve dvou studiích zkoumajících 33 (5) a 29 (3) tkání zalitých v parafínu z případů novotvarů plazmatických buněk různých typů značení protilátkou vykazovalo dobrou korelaci s monoklonálním imunoglobulinem nalezeným v séru nebo v moči. Při použití protilátky v kombinaci s panelem dalších protilátek (3, 6) byla získána klasifikace monoklonální neoplazie B-buněk.

Literatura

1. Klein J, Hořejší V. Immunology. 2nd ed. Abingdon (UK): Blackwell Science Ltd; 1999. p. 226-7, 238-46.
2. Leong ASY, Cooper K, Leong FJWA. Manual of diagnostic antibodies for immunohistology. London: Oxford University Press; 1999. p. 217-9.
3. Taylor CR, Russell R, Chandor S. An immunohistologic study of multiple myeloma and related conditions, using an immunoperoxidase method. Am J Clin Pathol 1978;70:612-22.
4. Taylor CR, Burns J. The demonstration of plasma cells and other immunoglobulin-containing cells in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues using peroxidase-labelled antibody. J Clin Pathol 1974;27:14-20.
5. Taylor CR, Mason DY. The immunohistological detection of intracellular immunoglobulin in formalin-paraffin sections from multiple myeloma and related conditions using the immunoperoxidase technique. Clin exp Immunol 1974;18:417-29.
6. Beschoner R, Horny H-P, Petrusch UR, Kaiserling E. Frequent expression of haemopoietic and non-haemopoietic antigens by reactive plasma cells: an immunohistochemical study using formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. Histol Histopathol 1999;14:805-12.
7. Dako in-house test. Report D42906.

Vysvětlivky k symbolům

 REF	Katalogové číslo	 2 °C - 8 °C	Teplotní rozmezí od do		Použitelné do
 IVD	In vitro diagnostický zdravotnický prostředek	 LOT	Číslo šarže		Výrobce
	Viz návod k použití	 EC REP	Autorizovaný zástupce v Evropské unii		



Agilent Technologies Singapore (International) Pte Ltd.
No. 1 Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
Tel. +44 161 492 7050
www.agilent.com

Revize 2025.04