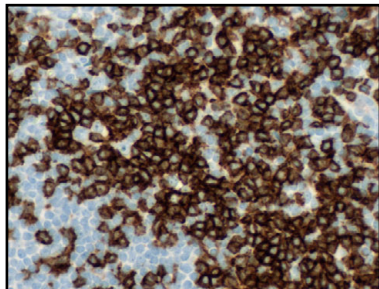


CONFIRM anti-CD4 (SP35) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

Katalogové číslo 790-4423



ÚČEL POUŽITÍ

Tato protilátka je určena pro diagnostické použití *in vitro* (IVD). Ventana Medical Systems' (Ventana) CONFIRM anti-CD4 (SP35) Rabbit Monoclonal Primary Antibody je určena ke kvalitativní detekci CD4 v řezech normálních a neoplastických humánních tkání fixovaných formaldehydem a zalitých v parafínu. CD4 je přítomen na T lymfocytech pomocného induktoru, který

rozpoznává antigen v kontextu MHC molekul třídy 2. Pozitivní výsledky barvení CD4 mohou pomáhat při identifikaci T-buněčných lymfomů a při identifikaci podmožniny pomocného induktoru T-buněk T lymfocytů v normálních tkáních. Klinickou interpretaci jakéhokoliv zbarvení nebo jeho nepřítomnosti musí doplňovat morfologické studie a hodnocení vhodných kontrol. Hodnocení musí provádět kvalifikovaný patolog v kontextu anamnézy pacienta a jiných diagnostických testů.

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

CD4 je transmembránový glykoprotein s jediným řetězcem, které se nachází na podmožnině pomocného induktoru T buněk, které představují přibližně 45 % T-buněčných lymfocytů zralé periferní krve. CD4 je rovněž přítomen přibližně na 80 % tymocytů a v nižší úrovni na monocytech, přestože B-buňky neexprimují CD4.¹ CD4 působí jako koreceptor pro receptor T-buněk (TCR) a převádí signál TCR po interakci s buňkou prezentující antigen (APC) během aktivace T buňky. CD4 interaguje přímo s molekulami MHC 2. třídy na povrchu APC.^{2,3} CD4 slouží jako receptor pro HIV a počty pozitivních CD4 buněk se používají k sestavení prognózy u osob infikovaných HIV.⁴ Anti-CD4 lze použít jako součást panelu protilátek ke klasifikaci poruch T buněk včetně T-buněčných lymfomů a k diferenciaci mezi pomocnými T buňkami a buňkami zabíječi.^{5,6}

DODÁVANÉ REAGENCIE

CONFIRM anti-CD4 (SP35) obsahuje dostatek reagencie na obarvení 50 testů.

Jeden 5mL dávkovač CONFIRM anti-CD4 (SP35) obsahuje přibližně 12,5 µg rekombinantní králičí monoklonální protilátky.

Protilátka se rozředí v roztoku 0,05 M Tris-HCl, který obsahuje 1% protein nosiče a konzervační látku 0,10% ProClin 300.

Celková proteinová koncentrace reagencie je přibližně 10 mg/mL. Koncentrace specifické protilátky je přibližně 2,5 µg/mL. U tohoto přípravku nebyla pozorována žádná irelevantní reaktivita protilátek.

Další podrobnosti naleznete v příslušné příbalové informaci Ventana detection kit. (1) Zásady postupu, (2) Potřebné, ale nedodávané materiály a reagencie, (3) Příprava vzorků, (4) Kontrola kvality, (5) Odstraňování závad, (6) Interpretace barvení a (7) Všeobecná omezení.

POTŘEBNÉ, ALE NEDODÁVANÉ MATERIÁLY

Nedodávají se barvicí reagencie, jako jsou například Ventana detection kits (např. *ultraView* Universal DAB), a pomocné komponenty včetně negativních a pozitivních tkáňových kontrolních sklíček.

UCHOVÁVÁNÍ

Uchovávejte při 2 až 8°C. Chraňte před mrazem.

Pro zajištění vhodné dodávky a stability protilátky po každém použití se uzávěr musí vrátit na své místo a dávkovač se musí neprodleně uložit do ledničky ve svislé poloze.

Každý dávkovač protilátky má uvedené datum použitelnosti. Při správném uchování je reagencie stabilní do dne vyznačeného na štítku. Reagencii nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti.

PŘÍPRAVA VZORKŮ

Pro použití s touto primární protilátkou jsou vhodné rutinně zpracované tkáně fixované formaldehydem a vložené do parafínu, pokud se používají detekční sady Ventana a automaty na barvení sklíček Ventana. Doporučenou látkou pro fixování tkání je 10% neutrálně pufovaný formaldehyd.⁷ Sklíčka by se měla obarvit neprodleně, protože během doby se může snižovat antigenicitu připravených tkáňových řezů.

U neznámých vzorků se doporučuje provést běh s pozitivními a negativními kontrolami současně.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. *In vitro* diagnostikum.
2. Tento přípravek obsahuje nejvýše 1% bovinního séra, které se používá při výrobě protilátek.
3. Chraňte oči a sliznice před kontaktem s reagensy. Jestliže reagencie přijde do styku s citlivými plochami, omyjte je velkým množstvím vody.
4. Reagencie chraňte před mikrobiální kontaminací.
5. Ohledně doporučené metody likvidace konzultujte místní nebo státní orgány.

POSTUP BARVENÍ

Primární protilátky Ventana byly vyvinuty pro použití na Ventana automated slide stainer v kombinaci s detekčními sadami Ventana a příslušenstvím. Doporučený protokol barvení pro automaty BenchMark XT a BenchMark ULTRA s *ultraView* Universal DAB Detection Kit jsou uvedeny v následující tabulce 1. Parametry pro automatizované postupy lze zobrazit, vytisknout a editovat podle postupu uvedeného v návodu k obsluze. Další podrobnosti ohledně postupu imunohistochemického barvení naleznete v detekční příslušné příbalové informaci Ventana.

Tabulka 1. Protokol doporučeného barvení pro CONFIRM anti-CD4 (SP35) s *ultraView* Universal DAB Detection Kit na BenchMark XT a BenchMark ULTRA.

Typ postupu	Metoda
Deparafinizace	Vybráno
Úprava buněk (Odmaskování antigenu)	Standardní úprava buněk 1 Cell Conditioning 1
Enzym (proteáza)	Nepožaduje se
Inkubace protilátky (primární)	Přibližně 16 minut, 37°C pro BenchMark XT Přibližně 32 minut, 36°C pro BenchMark ULTRA
Kontrastní barvení	Hematoxylin II, 4 minuty
Po kontrastním barvení	Bluing Reagent, 4 minuty

Kvůli odchylkám ve fixaci tkáně a zpracování a ve všeobecných podmínkách laboratorních přístrojů a prostředí může být nutné zvýšit nebo snížit primární inkubaci protilátek a úpravu buněk na základě jednotlivých vzorků, použité detekce a prioritách čtenáře této příbalové informace. Další informace o proměnných parametrech fixace viz "Immunohistochemistry Principles and Advances".⁸

POZITIVNÍ TKÁŇOVÁ KONTROLA

Příklady pozitivních kontrolních tkání pro CONFIRM anti-CD4 (SP35) zahrnují normální hlasivky (jak je to popsáno na shora uvedeném obrázku) a játra. Buňky parafoleikulární zóny hlasivek jsou obecně CD4 pozitivní, jako jsou i sinusoidy jater.

VÝKLAD BARVENÍ

Buněčný vzorec barvení pro CONFIRM anti-CD4 (SP35) je membránový.

SPECIFICKÁ OMEZENÍ

Tato protilátka byla optimalizována pro 16 minutovou inkubační dobu na BenchMark XT a pro 32 minutovou inkubační dobu na automatizovaných přístrojích BenchMark ULTRA v kombinaci s *ultraView* Universal DAB Detection Kit s tím, že uživatel musí validovat výsledky individuální laboratoře získané s touto reagensy.

CHARAKTERISTIKY CHOVÁNÍ

1. Specificita CONFIRM anti-CD4 (SP35) byla stanovena testováním normální a neoplastické tkáně fixované ve formaldehydu a zalité v parafínu. U normálních tkání jsou výsledky následující: žláza nadledvinek (0/3), kostní dřeň (0/3), mozek (0/3), mozeček (0/3), prsa (0/3), cervix (0/2), tlusté střevo (0/3), jícen (0/3), srdce (0/3), hypofýza (0/3), tenké střevo (0/3), ledviny (0/3), játra (1/3), plíce (0/3), mezotel (0/3), nerv (0/3), vaječníky (0/3), pankreas (0/3), příštítná tělíska (3/3), prostata (0/3), slinná žláza (0/3), kůže (0/3), slezina (3/3), žaludek (0/3), příčně pruhovaný sval (0/3), varle (0/3), brzlík (2/2), štítná žláza (0/3), hlasivka (3/3) a děloha (0/3). U neoplastických tkání jsou výsledky následující: Atypický meningiom (0/1), glioblastom (0/1), ependymom (0/1), oligodendrogliom (0/1), ovariální sérový papilární adenokarcinom (0/1), ovariální mukózní papilární adenokarcinom (0/1), karcinom buněk ostrůvků (0/1), pankreatický adenokarcinom (0/1), testikulární seminom a embryonální karcinom (0/2), medulární karcinom štítné žlázy (0/1), papilární karcinom štítné žlázy (0/1), intraduktální lobulární a infiltrující karcinom prsu (0/3), difúzní lymfom z B buněk ve slezině (0/1), malobuněčný nediferenciováný plicní karcinom (0/1), plicní karcinom ze skvamózních buněk (0/1), adenokarcinom plic (0/1), ezofageální karcinom z skvamózních buněk a adenokarcinom (0/2), mucinózní adenokarcinom žaludku (0/1), adenokarcinom tenkého střeva (0/2), adenokarcinom tlustého střeva (0/2), kolorektální adenokarcinom (0/2), hepatocelulární karcinom (0/1), hepatoblastom (0/1), jasnobuněčný karcinom (0/1), adenokarcinom v prostatě (0/1), karcinom z tranzitorních buněk v prostatě a močovém měchýři (0/2), uterinní leiomyom (0/1), karcinom endometria (0/1), uterinní jasnobuněčný a skvamózní karcinom (0/3), embryonální rhabdomyosarkom (0/1), rektální melanom (0/1), karcinom bazálních buněk v kůži (0/1) karcinom skvamózních buněk v kůži (0/1), neurofibrom a neuroblastom (0/2), mezoteliom (0/1), Hodgkinův lymfom (0/1), lymfom difúzního typu (0/3), leiomyosarkom (0/2), osteosarkom (0/1), a vřetenobuněčný rhabdomyosarkom (0/1).
2. Citlivost CONFIRM anti-CD4 (SP35) byla stanovena testováním různých specifických neoplastických tkání fixovaných formaldehydem a zalitých v parafínu, kdy výsledky jsou následující: Lymfom z T-buněk (10/12), lymfom z B-buněk (0/102), Hodgkinův lymfom (0/14), lymfom z pláštěvých buněk (0/1), myelom (1/1), normální lymfatická uzlina (4/4).
3. Opakovatelnost mezi jednotlivými šaržemi byla stanovena testování 3 šarží z 2 vícetkáňových bloků (3 tkáně na blok, celkem 6 tkání) na BenchMark XT. 6 vzorky ze 6 napříč všemi 3 šaržemi vykázaly ekvivalentní skóre.
4. Opakovatelnost mezi jednotlivými běhy byla stanovena obarvením 2 vícetkáňových bloků (3 tkáně na blok celkem pro 6 tkání) pro 5 sklíček na přístroji BenchMark XT po dobu pěti dnů, které nenásledovaly jeden po druhém. 150 vzorků ze 150 testovaných vykázalo ekvivalentní skóre.
5. Opakovatelnost v rámci běhu byla stanovena obarvením 2 vícetkáňových bloků (3 tkáně na blok celkem pro 6 tkání) pro 14 sklíček na přístroji BenchMark XT. 84 vzorků ze 84 testovaných vykázalo ekvivalentní skóre.
6. Opakovatelnost v rámci platformy byla stanovena obarvením 2 vícetkáňových bloků (3 tkáně na blok) pro 5 sklíček na 3 přístrojích BenchMark XT. 90 vzorků z 90 testovaných vykázalo ekvivalentní skóre.
7. Opakovatelnost v rámci platformy byla stanovena obarvením 1 vícetkáňového bloku (3 tkáně) pro 5 sklíček na 3 přístrojích BenchMark ULTRA. 45 vzorků ze 45 testovaných vykázalo ekvivalentní skóre.
8. Opakovatelnost mezi platformami byla stanovena obarvením 1 vícetkáňového bloku (3 tkáně na blok) pro 5 sklíček na 3 přístrojích BenchMark XT a přístrojích 3 BenchMark ULTRA. 90 vzorků ze 90 testovaných vykázalo ekvivalentní skóre.
9. Kompatibilita s *ultraView* Universal DAB a *MIEW* DAB Detection Kits.

SEZNAM LITERATURY

1. Reinherz E.L., P.C. Kung, G. Goldstein, and S.F. Schlossman. A separation of functional subsets of human T-cells by a monoclonal antibody. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1979. 76:4061.
2. Brady R.L. and A.N. Barclay. The structure of CD4. Curr. Topics Microbiol. Immunol. 1996. 205:1-18.
3. Doyle C. and J.L. Strominger. Interaction between CD4 and Class II MHC molecules mediate cell adhesion. Nature 1987. 330:256-259.
4. Dalgleish A.G.; P.L.C. Beverly, P.R. Clamham, et al. The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. Nature 1984. 312:763-766.

5. Garcia-Herrera, A., Colomo, L., Camos, M. et al. Primary cutaneous small/medium CD4+ T-cell lymphomas: a heterologous group of tumors with deferent clinicopathological features and outcome. J. Clin. Oncol. 2008. 26:3364-3371.
6. Maddon P.J., D.R. Littman, D.M. Godfrey et al. The isolation and nucleotide sequence of a cDNA encoding the T-cell surface protein T4: a new member of the immunoglobulin gene family. Cell 1985. 42:93-104.
7. Sheehan D.C. and B.B. Hrapchak Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition. The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1980.
8. Roche P.C. and E.D. Hsi. 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 ochrannými známkami společnosti Roche.

Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem jejich příslušných vlastníků.

Ventana uděluje kupujícímu licenci pouze k jednorázovému použití podle patentů USA č. 6045759, 6192945, 6416713, 6945128, a 7378058 a jakýchkoliv jejich zahraničních protějšků.

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