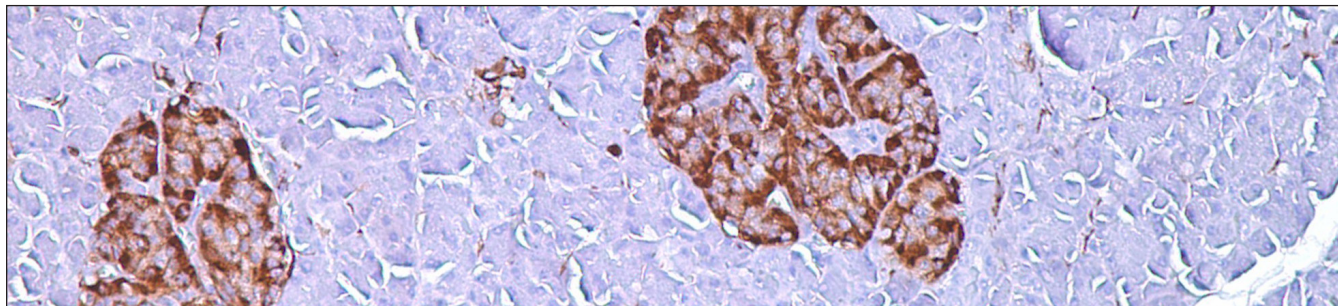


CD56 (MRQ-42)

Rabbit Monoclonal Antibody



DOSTUPNOST PŘÍPRAVKU

Kategorie Ventana Č. Popis

760-4596 50 testovacích dávkovačů

DEFINICE SYMBOLŮ

A	ascites
S	supernatant

E	sérum
KEY-CODE	kód

URČENÉ POUŽITÍ

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

Protilátka Cell Marque CD56 (MRQ-42) je určena kvalifikovaným laboratorům pro kvalitativní stanovení přítomnosti souvisejících antigenů v tkáňových řezech fixovaných ve formalínu, zalitých v parafínu zkušebními metodami IHC za použití světelné mikroskopie. Použití této protilátky je indikováno jako pomůcka pro identifikaci neurálních/neuroendokrinních tkání, buněk natural killer (NK), NK-podobných T-buněk a pro diagnózu souvisejících novotvarů v kontextu panelu protilátek, klinické historie pacienta a dalších diagnostických testů vyhodnocených kvalifikovaným patologem.

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

CD56, známá jako adhezní molekula nervových buněk (NCAM - neural cell adhesion molecule), byla původně identifikována v nervovém systému a patří do skupiny buněčných adhezních molekul zahrnující cadheriny, selectiny a integriny. Anti-CD56 rozpoznává dva proteiny molekuly NCAM, základní molekuly vykazované ve většině neuroektodermálně odvozených buněčných linií, tkání a novotvarů (např. neuroblastomů, malých buněčných karcinomů). Je vykazována také u některých mezodermálně odvozených nádorů (rhabdomyosarkom). Dále se látka anti-CD56 ukázala jako výborný nástroj při rozpoznávání lymfomů NK buněk a NK/T-buněk. Ukázalo se také, že 71% myelomů je pozitivních v případě látky anti-CD56. Nabízí také vyšší citlivost při diagnóze malých buněčných karcinomů, než jakou má anti-chromogranin a anti-synaptofyzin. Je možné sledovat lehké barvení malých svalových prvků.¹⁻⁹

PRINCIPY A POSTUPY

Anti-CD56 (MRQ-42) lze používat jako primární protilátku pro imunohistochemické barvení tkáňových řezů fixovaných ve formalínu, zalitých v parafínu. Obecně umožňuje imunohistochemické barvení ve spojení s detekčním systémem se streptavidinem a biotinem vizualizaci antigenů prostřednictvím sekvenční aplikace konkrétní protilátky (primární protilátka) proti antigenu, sekundární protilátky (spojovací protilátka) proti primární protilátce, komplexu enzymů a chromogenního substrátu, která je proložena promývacími kroky. Alternativně lze použít detekční systém bez biotinu. Enzymatická aktivace chromogenu vede ke tvorbě viditelného reakčního produktu v místě antigenu. Vzorek pak lze obarvit kontrastním barvivem a zakrýt krycím sklíčkem. Výsledky se interpretují pomocí světelné mikroskopie a pomáhají v diferenciální diagnostice patofyziologických procesů, které mohou a nemusí souviset s konkrétním antigenem.

Látka Anti-CD56 (MRQ-42) je optimálně naředěna, aby byla kompatibilní s detekčními soupravami a barvicími automaty Ventana Roche. Každý krok barvicího protokolu zahrnuje inkubaci se stanovením její přesné doby a specifické teploty. Na konci každého inkubačního kroku jsou řezy v barvicím automatu Ventana Roche opláchnuty za účelem ukončení probíhající reakce a k odstranění nenavázaného materiálu, který by mohl bránit požadované reakci v následujících krocích. Aby odpařování vodných činidel ze vzorků na podložních sklech bylo co nejmenší, aplikuje barvicí automat na sklíčka krycí roztok. Více informací o operacích přístroje naleznete v příslušném návodu k použití barvicího automatu Ventana Roche.

MATERIÁLY A METODY

Dodávaná činidla

Jeden dávkovač primární protilátky CD56 (MRQ-42) obsahuje dostatečné množství předředěného činidla na 50 testů. Protilátka je naředěna ve Tris pufru, pH 7,3-7,7 s 1% BSA a <0,1% azidu sodného.

Rozsah koncentrace imunoglobulinu pro tento produkt v předředěném činidle je 0,5-1,5 µg/ml.

Koncentrace imunoglobulinu v činidle je uvedena na štítku přípravku.

Izotyp: IgG₁

Pro údaje o zdroji protilátky viz štítek přípravku.

Rekonstituce, smísení, ředění, titrace

Protílátka je optimalizována pro použití v barvicím automatu Ventana ve spojení s detekčními systémy Ventana Roche. Není vyžadována rekonstituce, smísení, ředění nebo titrace. Další ředění může způsobit ztrátu zabarvení antigenu. Uživatel musí všechny takové změny ověřit. Rozdíly ve zpracování tkáně a technických postupech v laboratoři mohou způsobit výraznou variabilitu výsledků a vyžadují pravidelné používání kontrolních vzorků. (Viz část Postupy kontroly kvality)

Potřebné materiály a činidla, která se nedodávají

Následující činidla a materiály mohou být potřebné pro barvení, ale nejsou dodány současně s primární protílátkou:

- | | |
|---|--|
| 1. Pozitivní a negativní kontrolní vzorek | 13. Software pro detekční systémy (pouze barvicí automaty ES®) |
| 2. Mikroskopická sklíčka, pozitivně nabitá | 14. Promývací roztok APK Wash Solution (barvicí automaty ES® a NexES IHC®) |
| 3. Sušička, schopná udržovat teplotu 58 až 60 °C ± 5 °C | 15. Roztok Liquid Coverslip™ (barvicí automaty ES® a NexES IHC®) |
| 4. Štítky s čárovým kódem (odpovídající testovanému negativnímu kontrolnímu vzorku a primární protílátce) | 16. Roztok EZ Prep™ (barvicí automaty BenchMark®, BenchMark® XT a BenchMark® ULTRA) |
| 5. Nádoby nebo lázně na barvení | 17. Pufř Reaction Buffer (barvicí automaty BenchMark®, BenchMark® XT a BenchMark® ULTRA) |
| 6. Budík (časovač) | 18. LCS (barvicí automaty BenchMark®, BenchMark® XT a BenchMark® ULTRA) |
| 7. Amplifikátor (je-li použit) | 19. Hematoxylin nebo jiné kontrastní barvivo |
| 8. Xylen nebo náhrada xyleny | 20. Negativní kontrolní činidlo |
| 9. Etanol nebo reagenční alkohol | 21. Montovací médium |
| 10. Deionizovaná nebo destilovaná voda | 22. Krycí sklo |
| 11. Barvicí automaty ES®, NexES IHC®, BenchMark®, BenchMark® XT a BenchMark® ULTRA | 23. Světelný mikroskop (40 až 400x) |
| 12. Detekční soupravy iVIEW™ DAB (upřednostňovaná), ultraView™, AEC, V Red (ALK PHOS) a Enhanced V Red | |

Skladování a manipulace

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

Aby byl zajištěn správný výkon činidla a stabilita protílátky, musí se dávkovač po každém použití uzavřít víčkem a okamžitě umístit ve vertikální poloze do chladničky.

Každý dávkovač s protílátkou má stanovenou dobu expirace. Je-li řádně skladováno, je činidlo stabilní do data uvedeného na štítku. Nepoužívejte činidla po uplynutí expirační doby pro předepsanou metodu skladování.

Tento produkt nejeví žádné známky indikující nestabilitu, proto by se současně s testováním neznámých vzorků měly provádět testy s pozitivními i negativními kontrolními vzorky. V případě podezřelých známek nestability činidla se obraťte na zákaznický servis Cell Marque.

Sběr vzorků a příprava pro analýzu

Pro použití této primární protílátky s detekčními systémy Ventana Roche

a barvicím automatem Ventana Roche (viz Potřebné materiály a činidla, která se nedodávají) jsou vhodné tkáně zpracované běžným způsobem, fixované v neutrálním pufrovaném formalínu a zalité v parafínu. Doporučené vhodné fixativum je 10% neutrální pufrovaný formalin. V důsledku delší fixace nebo speciálních procesů, jako např. dekalifikace preparátů kostní dřevě, mohou být získány variabilní výsledky.

Každý řez je třeba nařezat na správnou tloušťku (asi 3 µm) a umístit na pozitivně nabitě podložní sklíčko. Sklíčka obsahující řezy tkání je třeba sušit po dobu nejméně 2 hodin (avšak ne déle než 24 hodin) při teplotě 58 až 60 °C ± 5 °C.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ PŘEDPISY

- Při manipulaci s činidly dodržujte příslušná bezpečnostní opatření. Používejte rukavice na jedno použití a laboratorní pláště, manipulujete-li s nebezpečnými karcinogeny nebo toxickými materiály (jako je například: xylen).
- Zabraňte kontaktu činidel s očima a sliznicemi. Jestliže se činidla dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je vydatným množstvím vody.
- Vzorky pacientů a všechny materiály, které s nimi přijdou do kontaktu, musí být považovány za biologicky nebezpečné látky a jejich likvidace musí probíhat podle příslušných bezpečnostních předpisů. Nikdy nepipetujte ústy.
- Zabraňte mikrobiologickému znečištění činidel, neboť by to způsobilo nesprávné výsledky.
- Nedodržení příslušných inkubačních dob a teplot může vést k chybným výsledkům.
- Činidla jsou optimálně naředěná a další ředění může způsobit ztrátu zabarvení antigenu. Jakoukoliv změnu tohoto druhu musí uživatel ověřit.
- Při dodržení návodu k použití není tento výrobek klasifikován jako nebezpečná látka. Konzervační látkou v činidle je azid sodný s koncentrací nižší než 0,1%, který při uvedené koncentraci nenaplní kritéria OSHA (USA) pro nebezpečnou látku. Viz bezpečnostní list.
- Uživatel musí ověřit všechny podmínky pro skladování, pokud se tyto podmínky liší od podmínek specifikovaných v příbalovém letáku.
- Ředící roztok může obsahovat bovinní sérový albumin a supernatant může obsahovat bovinní sérum. Přípravky obsahující plodové bovinní sérum a přípravky obsahující bovinní sérový albumin jsou odebírány od komerčních dodavatelů. Osvědčení o původu týkající se živočišného zdroje použitého u těchto přípravků je založeno ve společnosti Cell Marque. Osvědčení potvrzují, že bovinní zdroje pocházejí ze země se zanedbatelným rizikem BSE a státními zdroji boviních produktů, jako např. USA nebo Kanada.
- Stejně jako u každého jiného přípravku pocházejícího z biologických zdrojů by i v tomto případě měly být použity vhodné manipulační postupy.

NÁVOD K POUŽITÍ

Jednotlivé kroky postupu

Primární protilátky Cell Marque byly vyvinuty za účelem použití v barvicích automatech Ventana Roche ve spojení s detekčními soupravami a příslušenstvím Ventana Roche.

Příprava dávkovače, pokyny k manipulaci a skladování

Příprava k použití:

V případě použití: Pro automaty řady NexES® IHC, BenchMark® a Discovery® verze softwaru 8.0 a vyšší.

1. Odstranění přepravního klíče

Pro odstranění přepravního klíče (podle obrázku A) odstraňte klobouček trysky, držte dávkovač ve vztyčené poloze a zatáhněte za poutko klíče pro jeho uvolnění. NEZAKRÝVEJTE klobouček trysky, mohlo by dojít k trvalému poškození dávkovače. NEMAČKEJTE dávkovač při odstraňování klíče, mohlo by dojít k vylití činidla. Přepravní klíč zlikvidujte.

2. Příprava dávkovače k použití

Odstraňte klobouček trysky a umístěte jej na držák kloboučku. V kloboučku trysky se může nacházet tekutina. Nainstalujte dávkovač do karuselu na činidla. Dávkovač Inline je vyráběn ve stavu připraveném k použití se softwarem NexES® verze 8.0 nebo vyšší. Před každým cyklem software automaticky zjistí na karuselu nový dávkovač a naplní jej. Manuální naplnění dávkovače není nutné a NIKDY by nemělo být prováděno, protože by mohlo dojít k plýtvání činidlem a ke snížení počtu dostupných dávek.

Poznámka - Všechny starší instalace softwaru: Po odstranění přepravního klíče odstraňte klobouček trysky a NAPLNĚTE DÁVKOVAČ RYCHLÝM PUMPOVÁNÍM 3 AŽ 4 TAHY, přičemž dávkovač musí být ve svislé poloze. Naplnění je nutné pouze před prvním použitím. (Viz část Kontrola naplnění před použitím)

3. Skladování a manipulace s dávkovačem

Pro zajištění spolehlivého provozu musí být nepoužívaný dávkovač vždy uzavřen víčkem a NIKDY by nemělo docházet k manuálnímu dávkování. (Viz část Co dělat a nedělat.)

Co dělat a nedělat

CO DĚLAT:

- Před každým použitím zkontrolujte dávkovací komoru a meniskus. (Viz část Kontrola naplnění před použitím).
- Nechávejte klobouček trysky na dávkovači. Držák je také součástí dodávky.
- Nepoužívaný dávkovač zakryjte kloboučkem, abyste zabránili odpařování. Nepoužívané dávkovače ve stojanu pro činidla lze také uzavřít (zdola pod stojanem).
- Uchovávejte dávkovače ve stojánku a na karuselu na činidla ve svislé poloze.
- Při montáži dávkovače na karusel držte spojovací díl, abyste zabránili neúmyslnému manuálnímu uvolnění činidla.

CO NEDĚLAT:

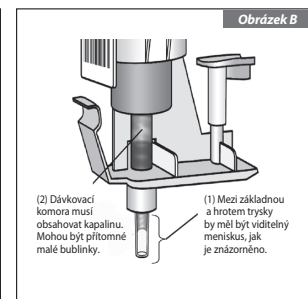
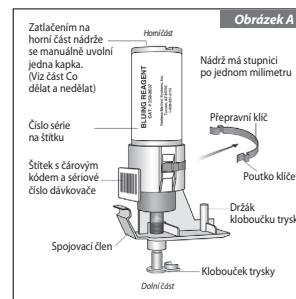
- Manuálně nedávkujte, je-li dávkovač obrácený (vzhůru nohama). Došlo by ke ztrátě náplně, jejíž obnova by mohla být nemožná.
- Manuálně nedávkujte, je-li klobouček trysky na svém místě. Mohlo by dojít k trvalému poškození dávkovače.
- Před každým použitím manuálně nedávkujte ani neplňte. Není to nutné a dochází k plýtvání činidlem.
- Nedržte nádrž v dolní poloze. Při stisknutí nádrže by mohlo dojít k úniku tekutiny.
- Nedávejte karusely s dávkovači na sebe. Z dávkovačů by se činidlo mohlo rozlévat.

Kontrola naplnění před použitím:

Odstraňte klobouček trysky a podívejte se na obrázek B.

Dávkovač je připraven k použití, když:

- Je v oblasti podle obrázku B přítomen meniskus.
- Dávkovací komora obsahuje kapalinu.



Postupy barvení pomocí barvicích automatů Ventana Roche jsou následující: Další podrobné pokyny a další vlastnosti protokolu naleznete v Návodu k obsluze.

Doporučené barvicí protokoly pro CD56 (MRQ-42)

ultraView™:

- Vložte sklíčka, protilátku a dávkovače detekční sady ultraView™ do přístroje BenchMark®.
- Vyberte mírné předběžné zpracování CC1.
- Inkubace protilátky by měla být nastavena na 16 minut při teplotě 37 °C.
- Spusťte cyklus.
- Po skončení cyklu barvení vyjměte sklíčka z přístroje a dobře propláchněte oplachovým tlumícím roztokem.
- Použijte krycí roztok.

POSTUPY KONTROLY KVALITY

Pozitivní kontrolní vzorek tkáně

Při každém provedeném barvicím postupu je třeba použít i pozitivní kontrolní vzorek tkáně. Tkáň může obsahovat pozitivně i negativně zbarvené buňky nebo části tkáně a slouží jako pozitivní i negativní kontrolní vzorek tkáně. Kontrolní vzorky by měly být čerstvé vzorky z pitvy, biopsie nebo operace připravené nebo fixované co nejdříve a zalité stejným způsobem jako testované řezy. Použití tkáňového řezu fixovaného nebo zpracovaného jiným způsobem než testovaný vzorek zajistí kontrolu pro všechna činidla a kroky metody kromě fixace a zpracování tkáně.

Tkáň se slabým pozitivním zbarvením je pro optimální kontrolu kvality a pro detekci i malé degradace činidla vhodnější. Pozitivní kontrolní vzorek tkáně pro primární protilátku CD56 (MRQ-42) může zahrnovat následující:

Buňky pankreatického ostrůvku	Cytoplazmatický
Pankreatický endokrinní nádor	Cytoplazmatický
Neuroblastom	Membránovitý, cytoplazmatický

Známé pozitivní kontrolní vzorky tkání by měly být používány pouze ke sledování správné funkce zpracovaných tkání a testových činidel, nikoliv jako pomůcka k formulaci specifické diagnózy vzorků pacientů. Pokud se u pozitivních kontrolních vzorků tkání neprojeví odpovídající pozitivní zbarvení, je nutno považovat výsledky testovacích vzorků za neplatné.

Negativní kontrolní vzorek tkáně

Jako negativní kontrolní vzorek tkáně lze použít stejnou tkáň, která se používá jako pozitivní kontrolní vzorek. Rozmanitost různých typů buněk, které se nacházejí ve většině řezů tkání, nabízí oblasti pro negativní kontrolní vzorky, ale to by měl ověřit uživatel. Části, které se nebarví, by měly prokázat nepřítomnost specifického zbarvení a zajistit indikaci nespecifického zbarvení pozadí. Pokud se projeví specifické zbarvení v částech negativního kontrolního vzorku tkáně, je nutno považovat výsledky vzorků pacienta za neplatné.

Nevysvětlitelné rozpory

Nevysvětlitelné rozpory v kontrolních vzorcích by měly být ihned ohlášeny místnímu zastoupení společnosti Ventana Roche. Pokud se výsledky kontrol neshodují se specifikacemi, výsledky pacienta jsou neplatné. Viz část Řešení problémů v tomto letáku. Zjistěte a napravte problém, a pak zopakujte celý postup se vzorky pacienta.

Negativní kontrolní činidlo

K usnadnění interpretace výsledků je třeba provést pro každý vzorek cyklus s negativním kontrolním činidlem. Negativní kontrolní činidlo se používá místo primární protilátky, aby se dalo vyhodnotit nespecifické zbarvení. Krycí sklíčko by mělo být ošetřeno negativním kontrolním

činidlem, které odpovídá druhu hostitele primární protilátky a ideálně má stejnou IgG koncentraci. Inkubační doba negativního kontrolního činidla by měla odpovídat inkubační době primární protilátky.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Proces imunobarvení na barvicích automatech Ventana Roche způsobuje červeně zbarvený reakční produkt, který se vysráží v oblastech antigenu lokalizovaných primární protilátkou. V příbalovém letáku k příslušnému detekčnímu systému naleznete očekávané reakční barvy. Před interpretací výsledků musí pozitivní a negativní kontrolní vzorky vyhodnotit kvalifikovaný patolog se zkušeností s imunohistochemií.

Pozitivní kontrolní vzorek tkáně

Nejprve je nutné provést test zbarveného pozitivního kontrolního vzorku tkáně, a ověřit tak správnost funkce všech reagensů. Přítomnost správně zbarveného reakčního produktu uvnitř cílových buněk indikuje pozitivní reaktivitu. V příbalovém letáku k detekčnímu systému naleznete očekávané reakční barvy. V závislosti na délce inkubační doby a potenci použitého hematoxylinu způsobí kontrastní barvení bleděmodré až tmavomodré zbarvení buněčných jader. Přílišné nebo neúplné kontrastní zbarvení může ohrozit správnou interpretaci výsledků. Pokud se u pozitivních kontrolních tkání neprojeví příslušné pozitivní zbarvení, je nutno považovat výsledky testovaných vzorků za neplatné.

Negativní kontrolní vzorek tkáně

Negativní kontrolní vzorek tkáně je nutno testovat po pozitivním kontrolním vzorku, abychom ověřili specifitu značení cílového antigenu primární protilátkou. Nepřítomnost specifického zbarvení v negativním kontrolním vzorku potvrzuje nepřítomnost zkřížené reaktivity s buňkami nebo částmi buněk. Pokud se projeví specifické zbarvení v negativním kontrolním vzorku tkáně, je nutno považovat výsledky vzorků pacienta za neplatné. Pokud se vyskytuje nespecifické zbarvení, je většinou difúzní. Sporadické slabé zbarvení pojivové tkáně lze také pozorovat v řezech z tkání, které nejsou optimálně fixované. K interpretaci výsledků barvení používejte pouze intaktní buňky. Nekrotické nebo degenerované buňky vykazují nespecifické zbarvení.

Tkáň pacienta

Vzorky pacienta se vyšetřují jako poslední. Intenzitu pozitivního zbarvení je nutno posuzovat v kontextu jakéhokoli zbarvení pozadí negativního kontrolního činidla. Jako u každého imunohistochemického testu, negativní výsledek znamená, že antigen nebyl detekován, nikoli že antigen není v testovaných buňkách nebo tkáni přítomen. Při identifikaci falešných negativních reakcí může pomoci panel protilátek (viz část Souhrn očekávaných výsledků). Ke správné interpretaci každého imunohistochemického výsledku by měla být testována rovněž morfolgie každého vzorku tkáně s využitím řezů barvených hematoxylinem a eozinem. Morfologické nálezy pacientů a klinické údaje týkající se pacientů musí interpretovat kvalifikovaný patolog.

OMEZENÍ

- Toto činidlo je „určeno pouze k profesionálnímu užití“, protože imunohistochemie (IHC) je diagnostický proces obsahující více kroků, který vyžaduje specializované vyškolení ve výběru vhodných činidel, tkání, fixací a zpracování, přípravě imunohistochemického podložního skla a interpretaci výsledků zbarvení.
- Určeno pouze k laboratornímu užití.
- K diagnostice *in vitro*.
- Zbarvení tkáně závisí na manipulaci s tkání a na jejím zpracování před barvením. Nesprávná fixace, zmrazení, rozmrazení, umývání, sušení, zahřívání, řezání nebo kontaminace jinými tkáněmi nebo tekutinami může vést ke vzniku artefaktů, zachycení protilátky nebo falešně negativním výsledkům. Následkem odchylek při fixaci a metodách zalévání, ale i následkem stávajících nerovnoměrností ve tkáni může docházet k inkonzistentním výsledkům.
- Přílišné nebo neúplné kontrastní zbarvení může ohrozit správnou interpretaci výsledků.
- Klinická interpretace jakéhokoli pozitivního zbarvení nebo jeho nepřítomnosti musí být vyhodnocena v kontextu klinického projevu, morfolgie a jiných histopatologických kritérií, ale i jiných diagnostických testů. Tato protilátka je určena k použití v panelu protilátek. Je odpovědností kvalifikovaného patologa, aby se seznámil s protilátkami, činidly a metodami používání k barvení preparátů. Barvení se musí provádět v certifikované laboratoři s příslušným oprávněním a pod dohledem patologa zodpovědného za hodnocení barvených podložních skel a zaručení adekvátnosti pozitivních a negativních kontrolních vzorků.
- Společnost Cell Marque poskytuje optimálně zředěné protilátky k použití podle pokynů. Jakákoli odchylka od doporučených testovacích postupů může způsobit neočekávané výsledky. Je nutno používat a zdokumentovat příslušné kontrolní vzorky. Uživatelé, kteří nedodrží doporučené postupy, musejí za těchto okolností přijmout zodpovědnost za interpretaci výsledků pacienta.
- Tento produkt není určen k použití při průtokové cytometrii; charakteristika účinnosti nebyla stanovena.
- Činidla mohou vykazovat neočekávané reakce v dřívě netestovaných tkáních. V důsledku biologické variability exprese antigenu v novotvarech nebo jiných patologických tkáních nelze zcela vyloučit možnost neočekávaných reakcí i v testovaných skupinách tkání. Se zdokumentovanými neočekávanými reakcemi se obraťte na zákaznický servis společnosti Cell Marque.
- Tkáně osob infikovaných virem hepatitidy B, které obsahují povrchový antigen (HBsAg) hepatitidy B, mohou s křenovou peroxidázou vykazovat nespecifické zbarvení.
- Normální séra ze stejného živočišného zdroje jako sekundární antiséra použitá v blokovacích krocích mohou v důsledku činnosti autoprotilátek nebo přirozených protilátek způsobovat falešně negativní nebo falešně pozitivní výsledky.
- Falešně negativní výsledky se mohou vyskytovat v důsledku neimunologické vazby proteinů nebo produktů reakce se substrátem. Mohou být také způsobeny aktivitou pseudoperoxidázy (erythrocyty) a endogenní peroxidázy (cytochrome C) nebo endogenním biotinem (příklad: játra, mozek, prs, ledvina), v závislosti na použitém typu imunobarvení.
- Jako u každého imunohistochemického testu, negativní výsledek znamená, že antigen nebyl detekován, nikoli, že antigen není v testovaných buňkách nebo tkáni přítomen.

Specifická omezení

- Protilátka je optimalizována pro inkubační dobu uvedenou v části Návod k použití ve spojení s detekčními soupravami Ventana Roche a barvicími automaty Ventana Roche. Vzhledem k různým způsobům fixace a zpracování tkání může být potřeba pro jednotlivé vzorky prodloužit nebo zkrátit inkubační dobu primární protilátky.
- Protilátky Cell Marque při použití s detekčními systémy a příslušenstvím Ventana Roche detekují antigen(y), které přežívají běžnou fixací ve formalínu a zpracování a řezání tkáně. Uživatelé, kteří nedodrží doporučené postupy, musejí za těchto okolností přijmout zodpovědnost za interpretaci výsledků pacienta.

Souhrn očekávaných výsledků

Viz následující tabulku reaktivity:

Běžná studie			
Tkáň	Počet barvených	Celkem	Poznámky
Mozek	1	1	
Periferní nervy	1	1	
Kůra nadledvinek	1	1	
Vaječník	1	1	Epitel -
Slinivka	1	1	Duktální epitel -
Příštitné tělísko	0	1	
Hypofýza	1	1	
Štítná žláza	1	1	Epitel +
Prs	1	1	
Slezina	1	1	NK buňky +
Mandle	1	1	NK buňky +
Brzlík	0	1	
Kostní dřevina	0	1	
Plíce	0	1	
Srdce	0	1	
Jícen	0	1	Hladké svaly +
Žaludek	0	1	Hladké svaly +
Tlusté střevo	0	1	Hladké svaly +
Játra	0	1	
Ledviny	1	1	Kanálky +

Běžná studie			
Močový měchýř	0	1	Hladké svaly +
Prostata	0	1	Hladké svaly +
Varle	1	1	Sertoliho buňky +, zárodečné buňky +
Děloha	0	1	Hladké svaly +
Vejcovod	0	1	Hladké svaly +
Cervix	0	1	Hladké svaly +
Kosterní svaly	0	1	
Hladké svaly	1	1	
Kůže	0	1	
Tuk	0	1	
Placenta	0	1	

Tato protilátka CD56 reaguje s hladkým svalstvem, nefrony, zárodečnými buňkami, Sertoliho buňkami a s náhodnými buňkami epitelu.

Studie postižené tkáně			
Tkáň	Počet barvených	Celkem	Poznámky
Folikulární lymfom	0	3	
Lymfom opouzdřené buňky	0	3	
Difúzní velký lymfom B-buňky	1	14	
Lymfom slezinné okrajové zóny	0	4	
Lymfom mukózní lymfoidní tkáně	0	4	
Gastrointestinální stromální nádor	3	3	
Lymfom buňky NK/T	5	5	
Lymfom periferní T-buňky	2	10	
Klasický Hodgkinův lymfom	0	3	
Uzlinový lymfocytární predominantní Hodgkinův lymfom	0	6	
Papilární karcinom štítné žlázy	4	5	
Adenokarcinom plic	0	4	
Melanom	0	5	
Kolorektální karcinom	0	5	

Tato protilátka CD56 barví některé lymfomy uvedené v literatuře.

ŘEŠENÍ PROBLÉMŮ

- Jestliže vykazují pozitivní kontrolní vzorky slabší zbarvení než je očekáváno, měly by být zkontrolovány během stejného cyklu na automatu další pozitivní kontrolní vzorky, aby se dalo stanovit, zda je to způsobeno primární protilátkou nebo některým z běžných sekundárních antigenů.
- Pokud je pozitivní kontrolní vzorek negativní, je nutno jej zkontrolovat, aby bylo zajištěno, že má sklíčko správný štítek s čárovým kódem. Jestliže je sklíčko opatřeno správným štítkem, je třeba během stejného cyklu na automatu zkontrolovat další pozitivní kontrolní vzorky, aby se dalo stanovit, zda je to způsobeno primární protilátkou nebo některým z běžných sekundárních antigenů. Sběr, fixace nebo odstraňování parafínů z tkání mohlo být provedeno nesprávným způsobem. Sběr tkáně, její fixace a skladování musí probíhat ve správném postupu.
- Vyskytne-li se přílišné zbarvení pozadí, pravděpodobně jsou přítomny vysoké úrovně endogenního biotinu. Měl by být zahrnut i krok blokování biotinu, pokud není používán detekční systém bez biotinu; v takovém případě by přítomný biotin nepřispíval k zbarvení pozadí.
- Jestliže se nepodařilo odstranit všechny parafín, je třeba opakovat postup odstranění parafínu z tkání.
- Je-li zbarvení specifickou protilátkou příliš intenzivní, opakujte cyklus s kratší inkubační dobou vždy o 4 minuty až do doby dosažení požadované intenzity barvení.
- Jestliže dochází ke smývání řezů tkání ze sklíčka, zkontrolujte, zda jsou podložní skla pozitivně nabita.

Správné postupy naleznete v části Jednotlivé kroky postupu, Návodu k obsluze k barvicímu automatu nebo kontaktujte zákaznický servis společnosti Cell Marque.

LITERATURA

- Gerardy-Schahn, R et al. Hot spots of antigenicity in the neural cell adhesion molecule NCAM. *International J of Cancer Sup* 1994; 8:38-42.
- Michalides, R et al. NCAM and lung cancer. *International J of Cancer Sup* 1994; 8:34-37.
- Kibbelaar, RE et al. Neural cell adhesion molecule expression, neuroendocrine differentiation and prognosis in lung carcinoma. *Euro J of Cancer* 1991; 27(4):431-435.
- Langdon, SP et al. Expression of neural cell adhesion molecule-related sialoglycoprotein in small cell lung cancer and neuroblastoma cell lines H69 and CHP-212. *Cancer Research* 1988; 48(21):6161-6165.
- Sumi, M et al. Natural killer cell lymphoma in the duodenum. *Leuk Lymphoma*. 2003 Jan; 44(1): 201-4.
- Trejo, O et al. Atypical cells in human cutaneous re-excision scars for melanoma express p75NGFR, C56/N-CAM and GAP-43: evidence of early Schwann cell differentiation. *J Cutan Pathol*. 2002 Aug; 29(7): 397-406.

7. Ely, SA et al. Expression of CD56/neural cell adhesion molecule correlates with the presence of lytic bone lesions in multiple myeloma and distinguishes myeloma from monoclonal gammopathy of undetermined significance and lymphomas with plasmacytoid differentiation. *Am J Pathol.* 2002 Apr; 160(4): 1293-9.
8. Tao, J et al. Aggressive Epstein-Barr virus-associated, CD8+, CD30+, CD56+, surface CD3-, natural killer (NK)-like cytotoxic T-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol.* 2002 Jan; 26(1):111-8.
9. Kaufmann, O et al. Utility of 123C3 monoclonal antibody against CD56 (NCAM) for the diagnosis of small cell carcinomas on paraffin sections. *Hum Pathol.* 1997 Dec; 28(12): 1373-8.

ODMÍTNUTÍ ODPOVĚDNOSTI

* Ventana®, ultraView™, iVIEW™ a BenchMark® jsou registrované obchodní známky společnosti Ventana Medical Systems, Inc. Protilátky Cell Marque jsou vyvinuty, vyráběny a distribuovány společností Cell Marque Corporation a jejich prodej prostřednictvím společnosti Ventana Medical Systems, Inc. (člen skupiny Roche) nepředstavuje souhlas, potvrzení ani záruku kvality či účinnosti protilátek Cell Marque ze strany společnosti Ventana Medical Systems, Inc.



www.cellmarque.com

EC	REP	EMERGO EUROPE Molenstraat 15, 2513 BH, The Hague, NL.
----	-----	--

