

FLEX
Polyclonal Rabbit
Anti-Human
Alpha-1-Antitrypsin
Ready-to-Use
(Link)

Kód IR505

Použití	<p>K diagnostice in vitro.</p> <p>FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Alpha-1-Antitrypsin, Ready-to-Use, (Link) je určena pro použití v imunohistochemii, společně s barvicími přístroji Autostainer Link. Tato protilátka je užitečná při identifikaci alfa-1-antitrypsinu, tj. u hepatocitů při nedostatku alfa-1-antitrypsinu (1). Klinickou interpretaci jakéhokoli zabarvení nebo jeho nepřítomnosti je třeba doplnit morfoloickými studiemi s využitím správných kontrol a je nutno ji vyhodnocovat v kontextu klinické anamnézy pacienta a jiných diagnostických vyšetření provedených kvalifikovaným patologem.</p>
Souhrn a vysvětlení	<p>Alfa-1-antitrypsin (AAT) je glykoprotein s molekulární hmotností 51 kDa syntetizovaný hlavně v játrech. Jedná se o protein akutní fáze, který funguje jako hlavní inhibitor serinových proteáz, jako neutrofilní elastáza, kolagenáza a chymotrypsin. Osoby s geneticky určenou nízkou hladinou AAT v séru mají zvýšené riziko, že se u nich vyvine pulmonární emfysema, chronické onemocnění jater a hepatocelulární karcinom. Klasická forma AAT deficience je spojena s retencí polymerického AAT v endoplazmatickém retikulu jaterních buněk (2, 3).</p> <p>AAT se nachází v normálních jaterních buňkách, histiocytech a monocytech a v celé řadě nádorů jak epitelální, tak mezenchymální diferenciaci (2).</p> <p>V kapitolách <i>Obecné pokyny pro imunohistochemické barvení</i> společnosti Dako nebo v návodu k detekčnímu systému pro IHC metody naleznete tyto části: (1) Princip metody, (2) Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky, (3) Skladování, (4) Příprava vzorku, (5) Postup barvení, (6) Kontrola kvality, (7) Řešení problémů, (8) Interpretace zabarvení, (9) Obecná omezení.</p>
Dodávané činidlo	<p>Polyklonální králičí protilátka připravená k použití se dodává v kapalné podobě v pufru s obsahem stabilizujícího proteinu a 0,015 mol/L NaN₃.</p>
Imunogen	<p>Alfa-1-antitrypsin izolovaný z lidské plazmy.</p>
Specifická	<p>Tato protilátka reaguje s lidským alfa-1-antitrypsinem. Stopy kontaminujících protilátek byly odstraněny absorpcí v pevné fázi s proteiny lidské plazmy.</p> <p>Křížová imunoelktroforéza: Když je použito 12,5 µL Dako Kód A0012 na cm² gelové oblasti proti 2 µL lidské plazmy, objevil se pouze precipitační oblouk alfa-1-antitrypsinu. Barvivo: Coomassie Brilliant Blue.</p>
Bezpečnostní opatření	<ol style="list-style-type: none">1. Určeno pro profesionální uživatele.2. Tento výrobek obsahuje azid sodný (NaN₃), který je v čisté formě vysoce toxický. Přestože se koncentrace azidu sodného ve výrobku neklasifikuje jako nebezpečná, 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.3. Jako u každého výrobku biologického původu je nutno dodržovat řádná bezpečnostní opatření.4. Používejte příslušné osobní ochranné prostředky, aby nedošlo k zasažení očí nebo pokožky.5. Nespoteřované roztoky je nutno likvidovat v souladu s místními a celostátními předpisy.
Skladování	<p>Składujte při 2–8 °C. Nepoužívejte po datu expirace vytištěném na lahvičce. Pokud se činidla skladují za jakýchkoli jiných než uvedených podmínek, musí uživatel tyto podmínky ověřit. Neexistují žádné známky toho, že by tyto produkty byly nestabilní. Proto je nutno provádět pozitivní a negativní kontroly současně s pacientovými vzorky. Pokud zpozorujete neočekávané zabarvení, které nelze vysvětlit změnami laboratorních postupů a máte podezření, že se jedná o problém s protilátkou, obraťte se na technickou podporu společnosti Dako.</p>
Příprava vzorku včetně potřebných materiálů, které nejsou součástí dodávky	<p>Protilátku lze používat ke značení řezů tkání zalitých v parafínu a fixovaných ve formalínu. Vzorky tkání je nutno rozřezat na řezy o tloušťce asi 4 µm.</p> <p>Je vyžadováno předběžné zpracování tepelně indukovaným vyhledáváním epitopu (HIER) pomocí Dako PT Link (Code PT100/PT101). Podrobné informace viz uživatelská příručka k přístroji PT Link. Optimálních výsledků bylo dosaženo předběžným zpracováním tkání pomocí EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (kód K8000/K8004).</p> <p>Řezy zalité v parafínu: Doporučuje se provádět předběžné zpracování tkáňových řezů fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu pomocí Dako PT Link postupu přípravy vzorků 3 v 1 pro Dako PT Link. Postupujte podle návodu k předběžnému zpracování uvedeném v příbalové informaci k EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (kód K8000/K8004). Poznámka: Po obarvení se řezy musí dehydratovat, vyčistit a namontovat pomocí permanentního montážního média.</p> <p>Odparafinované řezy: Doporučuje se provádět předběžné zpracování odparafinovaných tkáňových řezů fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu pomocí Dako PT Link a postupovat podle pokynů pro řezy zalité v parafínu. Po obarvení se sklíčka musí namontovat pomocí vodného nebo permanentního montážního média.</p> <p>Tkáňové řezy nesmějí během zpracování nebo během následného imunohistochemického barvení vyschnout.</p>

Z důvodu vyšší přilnavosti řezů tkání k podložním sklíčkům se doporučuje používat podložní sklíčka FLEX IHC Microscope Slides (kód K8020).

Postup barvení včetně potřebných materiálů, které nejsou součástí dodávky

Doporučený vizualizační systém je EnVision™ FLEX, High pH, (Link) (kód K8000). V softwaru přístroje Autostainer Link jsou předem naprogramovány kroky barvení a inkubační doby. Doporučené množství aplikovaného činidla je 1 x 200 µL nebo 2 x 150 µL na sklíčko. Podrobné pokyny ke vkládání podložních skel a činidel naleznete v uživatelské příručce k barvicímu automatu Autostainer Link. Pokud není na používané automatizované platformě připraven protokol, kontaktujte technické služby výrobce Dako. Všechny kroky inkubace by měly probíhat při pokojové teplotě.

Optimální podmínky mohou záviset na vzorku a způsobu přípravy a měly by být v každé laboratoři stanovovány samostatně. Jestliže patolog provádějící vyhodnocení potřebuje jinou intenzitu zbarvení, mohou se upravit časy inkubace nebo volba detekčního systému EnVision™ FLEX/EnVision™ FLEX+. Je možno kontaktovat specialistu aplikace / specialistu technické podpory Dako, aby podal další informace o přeprogramování protokolu. Na základě vyhodnocení vzoru zbarvení, zda je shodný se vzorem zbarvení uvedeným v části „Charakteristiky účinnosti“, se verifikuje účinnost opraveného protokolu, zda je stále platný.

Doporučuje se provést kontrastní barvení v hematoxylinu použitím EnVision™ FLEX Hematoxylin (Link) (kód K8008). Doporučuje se bezvodé, permanentní montážní médium.

Pozitivní a negativní kontroly je nutno provádět vždy současně použitím stejného protokolu jako vzorky pacienta. Tkáň pro pozitivní kontrolu musí obsahovat mandle a játra a buňky/struktury musí ve všech pozitivních vzorcích zobrazovat vzor reakce, jak je stanoveno pro tuto tkáň v části „Charakteristiky účinnosti“. Doporučené činidlo pro negativní kontrolu je FLEX Negative Control, Rabbit (Link) (kód IR600).

Interpretace zbarvení

Buněčný barvicí vzor je cytoplazmatický.

Charakteristiky účinnosti









Normální tkáně: Protílátka značí normální jaterní buňky (1) a polymorfonukleární leukocyty, monocyty a jejich prekurzory. Lymfocyty, buňky E-rozeta, lymfocyty aktivované konkanavalinem A (Con A), přirozené buněčné zabíječe, červené krvinky, erytroblasty a megakarocyty jsou negativní (4).

Abnormální tkáně: U 13 pacientů s různými jaterními chorobami protílátka označila jaterní buňky s globulemi AAT i bez nich. U vzorků s globulemi se mohlo použít mnohem vyšší ředění protílátky, což ukazuje na vyšší koncentraci AAT v těchto vzorcích (1).

Reference

1. Clausen PP. Immunohistochemical demonstration of alpha-1-antitrypsin in liver tissue. A methodological investigation. Acta path microbiol scand Sect A 1980;88:299–306.
2. Leong ASY, Cooper K, Leong FJWM. Manual of diagnostic antibodies for immunohistology. London: Oxford University Press;1999.p. 7–8.
3. Perlmutter DH. Liver injury in α 1-antitrypsin deficiency: an aggregated protein induces mitochondrial injury. J Clin Invest 2002;110:1579–83.
4. Hau J, Nilsson M, Skovgaard-Jensen H-J, de Souza A, Eriksen E, Wandall LT. Analysis of animal serum proteins using antisera against human analogous proteins. Scand J Lab Anim Sci 1990;17:3–7.

Vysvětlivky k symbolům

 REF	Katalogové číslo	 2°C–8°C	Teplotní rozmezí od do		Použitelné do
 IVD	In vitro diagnostický zdravotnický prostředek	 Σ	Obsah postačující pro <n> testů		Výrobce
	Viz návod k použití	 LOT	Číslo šarže		