

Anti-CD43 (L60) Mouse Monoclonal Primary Antibody

REF 760-2511

05266980001

IVD  50



Obr. 1. Barvení s protilátkou Anti-CD43 (L60) u periferního T-buněčného lymfomu.

URČENÉ POUŽITÍ

Protilátka Anti-CD43 (L60) Mouse Monoclonal Primary Antibody je určena pro laboratorní použití při kvalitativní imunohistochemické detekci CD43 pomocí světelné mikroskopie v řezech tkáně fixované formalínem, zalité parafínem (FFPE), které jsou barveny na přístroji BenchMark IHC/ISH. Tento produkt musí být interpretován kvalifikovaným patologem v kombinaci s histologickým vyšetřením, relevantními klinickými informacemi a správnými kontrolami.

Tato protilátka je určena pro diagnostické použití in vitro (IVD).

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

CD43, také známý jako leukosialin nebo sialoforin, je transmembránový glykoproteinový antigen exprimovaný na plazmatické membráně a v cytoplasmě hematopoetických prekurzorů, buněk myeloidního původu kromě zralých erytrocytů a normálních lymfoidních buněk, včetně T-buněk, NK-buněk, prekurzorových B-buněk, B-buněk v gastrointestinální sliznici a plazmatických buněk, ale ne periferních B-buněk v klidovém stavu.^{1,2} Western blotting ukazuje heterogenitu pásů barvení antigenem v rozmezí 110–160 kD. CD43 je exprimován většinou T-buněčných lymfomů a některými lymfomy z B buněk.^{1,2,3,4} Protilátka Anti-CD43 (L60) Mouse Monoclonal Primary Antibody (protilátka Anti-CD43 (L60)) se specificky váže na antigeny umístěné v plazmatické membráně a cytoplazmatických oblastech normálních granulocytů, monocytů, histiocytů, T buněk a některých B buněk.

CD43 je exprimován většinou T-buněčných lymfomů.^{1,2,3,4} Při použití v panelu s ostatními markery T buněk lze jako pomůcku při diagnostice T-buněčného lymfomu použít detekci CD43 pomocí imunohistochemie (IHC) s protilátkou anti-CD43 (L60).

Zatímco běžně zralé B-buňky CD43 neexprimují, některé zralé B-buněčné neoplasmy (např. malý lymfocytární lymfom a lymfom z pláštových buněk) jej často exprimují aberantně.^{1,2,3,4} Detekci CD43 pomocí IHC s protilátkou anti-CD43 (L60) lze tedy také použít jako pomůcku při charakterizaci lymfomu z B-buněk. IHC detekce CD43 se většinou používá k charakterizaci malých lymfomů z B-buněk. Pozitivita CD43 je nejvyšší u chronické lymfocytární leukémie / malého lymfocytárního lymfomu a lymfomu z pláštových buněk a téměř vždy chybí u folikulárního lymfomu.^{1,2} Její využití k charakterizaci ostatních podtypů lymfomu z B-buněk je omezenější.^{1,2}

Vzor barvení této protilátky je membránový a cytoplazmatický. Může být použita jako součást panelu studií IHC.

PRINCIP POSTUPU

Protilátka anti-CD43 (L60) se váže na protein CD43 v řezech tkáně fixované formalínem, zalité parafínem (FFPE). Tuto protilátku je možné zobrazit pomocí detekční soupravy OptiView DAB IHC Detection Kit (kat. č. 760-700 / 06396500001) a *ultra*View Universal DAB Detection Kit (kat. č. 760-500 / 05269806001). Další údaje naleznete v příslušných metodických listech.

DODÁVANÝ MATERIÁL

Protilátka anti-CD43 (L60) obsahuje dostatečné množství reagentie pro 50 testů.

Jeden 5mL dávkovač protilátky anti-CD43 (L60) obsahuje přibližně 5 µg myší monoklonální protilátky.

Protilátka je naředěna ve fyziologickém roztoku s fosforečnanovým pufrům s obsahem nosičového proteinu a 0.10 % konzervačního prostředku ProClin 300.

Koncentrace specifické protilátky je přibližně 1 µg/mL. Pro tento produkt není známa žádná nespecifická reaktivita protilátky.

Protilátka anti-CD43 (L60) je myší monoklonální protilátka, produkovaná jako supematant tkáňové kultury nebo ascites a purifikovaná afinitní chromatografií.

Podrobné popisy následujících položek naleznete v metodickém listu k příslušné detekční soupravě VENTANA: Princip postupu, Materiál a metody, Odběr vzorků a příprava pro analýzu, Postupy kontroly kvality, Řešení problémů, Interpretace výsledků a Omezení.

POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY

Barvicí reagentie, například detekční soupravy VENTANA, a pomocné materiály, včetně sklíček pro negativní a pozitivní kontrolu tkáně, nejsou součástí dodávky.

Všechny produkty uvedené v metodickém listu nemusejí být dostupné ve všech zeměpisných oblastech. Obratě se na místní servisní zastoupení.

Následující reagentie a materiály mohou být při barvení potřebné, nejsou však součástí dodávky:

1. Doporučené kontrolní tkáně
2. Mikroskopická sklíčka, pozitivně nabitá
3. Negative Control (Monoclonal) (kat. č. 760-2014 / 05266670001)
4. OptiView DAB IHC Detection Kit (kat. č. 760-700 / 06396500001)
5. *ultra*View Universal DAB Detection Kit (kat. č. 760-500 / 05269806001)
6. EZ Prep Concentrate (10X) (kat. č. 950-102 / 05279771001)
7. Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat. č. 950-300 / 05353955001)
8. LCS (Predilute) (kat. č. 650-010 / 05264839001)
9. ULTRA LCS (Predilute) (kat. č. 650-210 / 05424534001)
10. Cell Conditioning Solution (CC1) (kat. č. 950-124 / 05279801001)
11. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (kat. č. 950-224 / 05424569001)
12. Hematoxylin II (kat. č. 790-2208 / 05277965001)
13. Bluing Reagent (kat. č. 760-2037 / 05266769001)
14. Trvalé fixační médium
15. Krycí sklo
16. Automatizovaný podavač krycích sklíček
17. Obecné laboratorní vybavení
18. Přístroj BenchMark IHC/ISH

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Po přijetí a mezi použitím uchovávejte při teplotě 2–8 °C. Nezmrazujte.

Aby byla zajištěna správná funkčnost reagentie a stabilita protilátky, musí se dávkovač po každém použití uzavřít víčkem a okamžitě umístit ve svislé poloze do chladničky.

Každý dávkovač protilátky má stanovenou dobu expirace. Při řádném skladování zůstane reagentie stabilní do data uvedeného na štítku. Po uplynutí data expirace reagentii nepoužívejte.

PŘÍPRAVA VZORKŮ

Pro použití této primární protilátky s detekčními soupravami VENTANA a přístroji BenchMark IHC/ISH jsou vhodné tkáně FFPE zpracované běžným způsobem. Doporučeným fixativem na tkáně je 10 % neutrální pufovaný formalin.⁴ Sklíčka je třeba obarvit neprodleně, neboť antigenost tkáňových řezů se může s postupem času snižovat. Vyšetření neznámých vzorků doporučujeme provádět souběžně s pozitivními a negativními kontrolními vzorky.


UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Určeno k diagnostickému použití in vitro (IVD).
2. Pouze k odbornému použití.
3. **UPOZORNĚNÍ:** Federální zákony USA omezuji prodej tohoto prostředku pouze lékařům nebo na jejich objednávku. (Rx Only)
4. Nepoužívejte nad rámec specifikovaného počtu testů.
5. Roztok ProClin 300 se používá v této reagentii jako konzervační prostředek. Je klasifikován jako dráždivý a při styku s kůží může způsobit senzibilizaci. Při manipulaci dodržujte příslušná bezpečnostní opatření. Zamezte kontaktu reagentie s očima, kůží a sliznicemi. Používejte vhodný ochranný oděv a rukavice.
6. Pozitivně nabitá sklíčka mohou být citlivá na zátěž prostředí, což má za následek nevhodné zbarvení. Požádejte zástupce společnosti Roche o další informace o tom, jak používat tyto typy sklíček.

7. S materiálem lidského nebo živočišného původu je třeba nakládat jako s nebezpečným biologickým materiálem a likvidovat jej v souladu s platnými bezpečnostními opatřeními. V případě expozice je potřeba se řídit zdravotnickými směrnici odpovědných orgánů.^{5,6}
8. Zabraňte kontaktu reagensů s očima a sliznicemi. Jestliže se reagent dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte zasažené oblasti vydatným množstvím vody.
9. Tato protilátka obsahuje 2 % nebo méně hovězího séra, které se používá při výrobě protilátky.
10. Zabraňte mikrobiální kontaminaci reagensů, mohla by způsobit nepřesnost výsledků.
11. Další informace o používání tohoto prostředku obsahuje uživatelská příručka přístroje BenchMark IHC/ISH a návody k použití všech nezbytných součástí, které naleznete na internetových stránkách dialog.roche.com.
12. Doporučené metody likvidace jsou uvedeny v celostátních a/nebo místních předpisech.
13. Označení produktu bezpečnostními štítky se řídí hlavně pokyny GHS EU. Pro profesionální uživatele je na vyžádání k dispozici bezpečnostní list.
14. Pro nahlášení podezřelých závažných incidentů týkajících se tohoto prostředku se obraťte na místního zástupce společnosti Roche a kompetentní orgány členského státu nebo země, ve které uživatel provozuje činnost.

Tento produkt obsahuje součásti klasifikované následovně podle směrnice (ES) č. 1272/2008:

Tab. 1. Informace o rizicích.

Riziko	Kód	Věta
	H317	Může vyvolat alergickou kožní reakci.
	P261	Zamezte vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/par/aerosolů.
	P272	Kontaminovaný pracovní oděv neodnášejte z pracoviště.
	P280	Používejte ochranné rukavice.
	P333 + P313	Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
	P362 + P364	Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím ho vyperte.
	P501	Zlikvidujte obsah/obal předáním do schváleného zařízení k likvidaci odpadu.

Tento produkt obsahuje látku s č. CAS 55965-84-9, směs 5-chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-onu a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu (3 : 1).

POSTUP BARVENÍ

Primární protilátky VENTANA byly vyvinuty pro použití v přístrojích BenchMark IHC/ISH společně s detekčními soupravami a příslušenstvím VENTANA. Doporučené barvicí protokoly naleznete v tabulkách.

Tato protilátka byla optimalizována pro specifické inkubační doby, uživatel však musí výsledky získané pomocí této reagentie ověřit.

Parametry automatických procesů lze zobrazit, vytisknout a upravovat podle postupů uvedených v uživatelské příručce přístroje. Další podrobné informace o postupech imunohistochemického barvení naleznete v metodickém listu k příslušné detekční soupravě VENTANA.

Další podrobnosti o správném používání tohoto prostředku najdete v metodickém listu ke vkladacímu dávkovači (P/N 760-2511).

Tab. 2. Doporučený barvicí protokol pro protilátku Anti-CD43 (L60) se soupravou OptiView Detection Kit na přístrojích BenchMark IHC/ISH.

Typ postupu	Metoda		
	GX	XT	ULTRA
Odparafinování	Zvoleno	Zvoleno	Zvoleno
Úprava buněk (odmaskování antigenu)	CC1, 64 minut, 95 °C	CC1, 64 minut, 100 °C	ULTRA CC1, 64 minut, 100 °C
Preprimární inhibitor peroxidázy	Zvoleno	Zvoleno	Zvoleno
Protilátka (primární)	4 minuty, 37 °C	8 minut, 37 °C	4 minuty, 36 °C
Kontrastní barvivo	Hematoxylin II, 4 minuty		
Po kontrastním barvení	Bluing, 4 minuty		

Tab. 3. Doporučený barvicí protokol pro protilátku Anti-CD43 (L60) se soupravou ultraView Detection Kit na přístrojích BenchMark IHC/ISH.

Typ postupu	Metoda		
	GX	XT	ULTRA
Odparafinování	Zvoleno	Zvoleno	Zvoleno
Úprava buněk (odmaskování antigenu)	CC1, standardní	CC1, standardní	ULTRA CC1, standardní
Protilátka (primární)	28 minut, 37 °C	28 minut, 37 °C	24 minut, 36 °C
Kontrastní barvivo	Hematoxylin II, 4 minuty		
Po kontrastním barvení	Bluing, 4 minuty		

Vzhledem k různým způsobům fixace a zpracování tkání, jakož i obecnému stavu přístroje a podmínkám laboratorního prostředí může být potřeba prodloužit nebo zkrátit dobu inkubace s primární protilátkou, dobu úpravy buněk nebo dobu předběžného zpracování proteázou v závislosti na jednotlivých vzorcích, použité metodě detekce a preferenci hodnotitele. Další informace o různých fixacích naleznete v příručce „Immunohistochemistry Principles and Advances“.⁷

NEGATIVNÍ REAGENČNÍ KONTROLA

Kromě barvení s protilátkou anti-CD43 (L60) by mělo být provedeno rovněž barvení druhého sklíčka s odpovídající reagentií negativní kontroly.

POZITIVNÍ KONTROLA TKÁNĚ

Nejvhodnějším laboratorním postupem je uložit řez pro pozitivní kontrolu na stejné sklíčko jako testovanou tkáň. Při nanášení reagentie na sklíčko pak lze snáze zjistit případné závady. Pro kontrolu kvality je nejvhodnější tkáň se slabým pozitivním zbarvením. Kontrolní tkáň může obsahovat pozitivně i negativně zbarvené prvky a sloužit pro pozitivní i negativní kontrolu. Kontrolní tkáň by měl být čerstvý vzorek z pitvy, biopsie nebo operace, zpracovaný a fixovaný co nejdříve stejným způsobem jako testované řezy. Známé pozitivní kontroly tkání je nutno používat pouze ke sledování správné funkce reagentií a přístrojů, nikoli jako pomůcku ke stanovení konkrétní diagnózy testovaných vzorků. Pokud pozitivní kontroly tkání pozitivní zbarvení nevykazují, je třeba považovat výsledky testovaných vzorků za neplatné.

Příkladem tkáně pro pozitivní kontrolu jsou u této protilátky normální mandle.

INTERPRETACE BARVENÍ / OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY

Vzor barvení buněk pro protilátku anti-CD43 (L60) je membránový a cytoplazmatický.

SPECIFICKÁ OMEZENÍ

Systém detekce OptiView detection je obecně citlivější než systém *ultra*View detection. Uživatel však musí výsledky získané pomocí této reagentie a detekčních systémů validovat.

Všechny testy nemusí být registrovány na každém přístroji. Pro více informací kontaktujte místního zástupce společnosti Roche.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

ANALYTICKÁ VÝKONNOST

Níže jsou uvedeny výsledky provedených testů barvení týkajících se senzitivity, specifity a preciznosti.

Senzitivita a specifita

Tab. 4. Senzitivita/specifita protilátky anti-CD43 (L60) byla stanovena testováním běžných tkání FFPE.

Tkáň	Počet pozitivních případů/ celkový počet případů	Tkáň	Počet pozitivních případů/ celkový počet případů
Velký mozek	1/6	Tenké střevo	0/5
Mozeček	3/6	Tlusté střevo	0/5
Nadledvinka	0/6	Konečník	0/3
Vaječník	0/3	Játra	0/5
Slinivka	0/6	Slinná žláza	0/4
Lymfatická uzlina ^a	9/9	Ledvina	0/8
Příštitné tělísko	0/4	Prostata	0/6
Hypofýza	0/3	Močový měchýř	0/4
Varle	0/6	Močovod	0/1
Štítná žláza	0/6	Endometrium	0/6
Prs	0/6	Děložní hrdlo	0/5
Slezina	9/9	Placenta	0/3
Mandle	11/11	Kosterní sval	0/5
Brzlík	6/6	Kůže	0/5
Kostní dřev	4/4	Nerv	0/3
Plíce	0/6	Mícha	0/1
Srdce	0/5	Mezotel	0/7
Jícen	0/5	Měkká tkáň	0/3
Žaludek	0/6	Nosohltan ^b	1/1

^a Vyhodnocené tkáně zahrnovaly normální a reaktivní lymfatickou uzlinu. ^b Chronický zánět. Senzitivita/specifita protilátky anti-CD43 (L60) byla stanovena testováním řady neoplastických tkání FFPE.

Patologie	Počet pozitivních případů/ celkový počet případů
Glioblastom (mozek)	0/1

Patologie	Počet pozitivních případů/ celkový počet případů
Ependyom (mozek)	0/1
Meningiom (mozek)	1/1
Oligodendrogliom (mozek)	0/1
Medulloblastom (mozek)	0/1
Adenom (nadledvinka)	0/1
Fenochromcytom (nadledvinka)	0/1
Serózní karcinom (vaječník)	0/1
Nádor z granulóznic buněk u dospělých (vaječník)	0/1
Teratom (vaječník)	0/2
Neuroendokrinní karcinom (slinivka)	0/1
Duktální adenokarcinom (slinivka)	0/1
Seminom (varle)	0/1
Embryonální karcinom (varle)	0/1
Papilární karcinom (štítná žláza)	0/1
Folikulární karcinom (štítná žláza)	0/1
Duktální karcinom in situ (prs)	0/1
Invazivní duktální karcinom (prs)	0/2
Invazivní lobulární karcinom (prs)	0/1
Adenokarcinom (plíce)	0/1
Karcinom ze skvamózních buněk (plíce)	0/1
Malobuněčný karcinom (plíce)	0/1
Mezoteliom (pohrudnice)	0/1
Solitární fibrózní nádor (pohrudnice)	0/1
Adenokarcinom (jícen)	0/1
Karcinom ze skvamózních buněk (jícen)	0/1
Adenokarcinom (žaludek)	0/1
Gastrointestinální stromální tumor (žaludek)	0/1
Adenokarcinom (tenké střevo)	0/2
Gastrointestinální stromální tumor (tenké střevo)	0/1
Adenokarcinom (tlusté střevo)	0/1
Dobře diferencovaný neuroendokrinní tumor (apendix)	0/1
Cholangiokarcinom (játra)	0/1
Hepatocelulární karcinom (játra)	0/1
Pleomorfní adenom (slinná žláza)	0/1
Warthinův nádor (slinná žláza) ^a	0/1

Patologie	Počet pozitivních případů/ celkový počet případů
Karcinom ledvin (ledvína)	0/1
Papilární adenom (ledvína)	0/1
Adenokarcinom (prostata)	0/1
Uroteliální karcinom (močový měchýř)	0/1
Karcinom ze skvamózních buněk (močový měchýř)	0/1
Difuzní lymfom z velkých B-buněk	85/110
Folikulární lymfom	0/2
MALT-lymfom	1/1
Malý lymfocytární lymfom	6/6
Lymfom z pláštových buněk	9/9
Lymfom z B-buněk, NOS	9/12
Myelom plazmatických buněk (kostní dřevě)	1/1
Hodgkinův lymfom	1/7
Extranodální NK/T-buněčný lymfom, nosní typ (NK = přirozený zabíječ)	2/2
Periferní T-buněčný lymfom, NOS	43/43
Anaplastický velkobuněčný lymfom	9/9
Lymfom, NOS	14/17
Endometrioidní adenokarcinom (děloha)	0/1
Karcinom z jasných buněk (děloha)	0/1
Leiomyom (myometrium)	0/1
Adenokarcinom (děložní hrdlo)	0/1
Karcinom ze skvamózních buněk (čipek)	0/1
Angiosarkom (kůže)	0/1
Karcinom z bazálních buněk (kůže)	0/1
Melanom (kůže)	0/1
Karcinom ze skvamózních buněk (kůže)	0/1
Schwannom (mícha)	0/2
Liposarkom (měkká tkáň)	0/2
Nádor periferního nervového obalu (měkká tkáň)	0/3
Karcinom ze skvamózních buněk (sinus)	0/1
Adenokarcinom (sinus)	0/1
Nespecifikováno (lymfatická uzlina)	1/1

^a Hodnocení na epitelových nádorových buňkách, hojně husté lymfocyty ve stromatu jsou silně pozitivní.

Preciznost

Studie preciznosti pro protilátku anti-CD43 (L60) byly provedeny za účelem prokázání:

- Preciznosti výsledků protilátky mezi šaržemi
- Preciznosti během jednoho cyklu a mezi dny na přístroji BenchMark ULTRA
- Preciznosti mezi přístroji na přístrojích BenchMark GX, BenchMark XT a BenchMark ULTRA
- Preciznosti mezi platformami mezi přístroji BenchMark XT, BenchMark GX a BenchMark ULTRA

Všechny studie splnily kritéria přijatelnosti.

KLINICKÁ VÝKONNOST

Údaje o klinické výkonnosti relevantní pro zamýšlený účel protilátky anti-CD43 (L60) byly hodnoceny systematickou literární rešerší. Shromážděné údaje podporují použití prostředku v souladu s jeho zamýšleným účelem.

LITERATURA

1. Orazi A, Foucar K, Knowles D, et al. Knowles Neoplastic Hematopathology. Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
2. Dabbs DJ. Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Applications. Elsevier; 2018.
3. Strickler JG, Weiss LM, Copenhaver CM, Bindl J, McDavid 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.
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.
5. Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
6. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
8. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.

POZNÁMKA: V tomto dokumentu se jako symbol pro oddělování celého čísla a desetinných míst používá vždy tečka. Oddělovače pro tisíce se nepoužívají.

Souhrn bezpečnosti a funkčnosti naleznete zde:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Symbyly

Společnost Ventana používá následující symboly a znaky nad rámec uvedený v normě ISO 15223-1 (pro USA: definici použitých symbolů naleznete na internetových stránkách dialog.roche.com):



Číslo položky Global Trade



Jedinečná identifikace prostředku



Označuje subjekt importující zdravotnický prostředek do Evropské unie

DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

VENTANA, BENCHMARK a logo VENTANA jsou ochranné známky společnosti Roche. Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků.

Přidání, odstranění nebo změny jsou označeny pruhem změn na okrajích.

© 2020 Ventana Medical Systems, Inc.

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.roche.com



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany
+800 5505 6606

