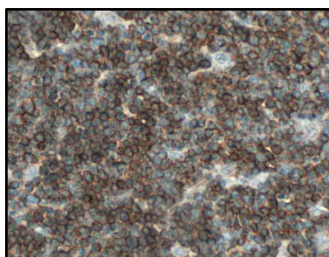


CONFIRM anti-CD8 (SP57) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

REF 790-4460

05937248001

IVD  50



Obrázek 1. Membránové barvení T-buněk v lymfomech s použitím přípravku CONFIRM anti-CD8 (SP57).

URČENÉ POUŽITÍ

Ventana Medical Systems' (Ventana) CONFIRM anti-CD8 (SP57) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (CONFIRM anti-CD8 (SP57)) je určena ke kvalitativní detekci proteinu CD8 v řezech normálních a neoplastických lidských tkání. Glykoprotein CD8 je přítomen na cytotoxických/supresorových T-lymfocytech, které rozpoznávají antigen v kontextu molekul MHC třídy I. Výsledky CD8 pozitivního zbarvení pomocí CD8

mohou pomoci při identifikaci T-buněčných lymfomů a při identifikaci T buněčného subsetu cytotoxických/supresorových T lymfocytů v normálních tkáních. Tato protilátka je určena ke kvalitativnímu barvení řezů tkání fixovaných ve formalinu a zalitých v parafínu.

Tento výrobek by měl interpretovat kvalifikovaný patolog ve spojení s histologickým vyšetřením, relevantními klinickými informacemi a řádnými kontrolami.

Tato protilátka je určena pro diagnostiku in vitro (IVD).

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Protilátka CONFIRM anti-CD8 (SP57) je králičí monoklonální protilátka produkovaná proti glykoproteinu CD8. CD8 je heterodimerický, transmembránový glykoprotein s disulfidovou vazbou nacházející se na subsetu cytotoxicko-supresorových T-buněk, které představují 30–35 % periferních T-buněčných lymfocytů krve.^{1,2} nenachází se však na B-buněčných lymfocytech. V nižších úrovních se protein CD8 vyskytuje na 80 % thymocytů,² na přibližně 30–50 % buněk přirozených zabíječů (NK)³ a v subpopulaci buněk kostní dřeně. Protein CD8 zajišťuje funkci koreceptoru pro T-buněčné receptory a během aktivace T-buněk reaguje přímo s molekulami MHC třídy I.^{4,5} Přípravek anti-CD8 lze použít jako panel protilátek při klasifikaci T-buněčných onemocnění včetně T-buněčných lymfomů a při rozlišování mezi T-buňkami helper a cytotoxickými T-buňkami.^{6,7}

PRINCIP PROCEDURY

Protilátka CONFIRM anti-CD8 (SP57) se váže na glykoprotein CD8 v řezech tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu (FFPE). Tuto protilátku lze vizualizovat pomocí soupravy ultraView Universal DAB Detection Kit (kat. č. 760-500 / 05269806001). Další informace jsou uvedeny v příbalové informaci k soupravě ultraView Universal DAB Detection Kit.

Kromě obarvení protilátkou CONFIRM anti-CD8 (SP57) by mělo být provedeno obarvení druhého sklička s odpovídající reagií pro negativní kontrolu.

DODÁVANÁ REAGENCIE

Souprava CONFIRM anti-CD8 (SP57) obsahuje dostatečné množství reagentie k provedení 50 testů.

Jeden 5ml dávkovač protilátky CONFIRM anti-CD8 (SP57) obsahuje přibližně 1.75 µg králičí monoklonální protilátky SP57.

Protilátka je naředěna v 0.05 M Tris-HCL s obsahem 1 % proteinového nosiče a konzervačního prostředku.

Celková koncentrace proteinů v reagentii je přibližně 10 mg/ml. Koncentrace specifické protilátky je přibližně 0.35 µg/ml.

Protilátka CONFIRM anti-CD8 (SP57) je rekombinantní králičí monoklonální protilátka pročištěná proteinem A.

Podrobné popisy nalezete v příbalové informaci k příslušné detekční soupravě společnosti VENTANA: Princip procedury, Materiál a metody, Odběr vzorků a příprava na analýzu, Postup kontroly kvality, Řešení problémů, Interpretace výsledků a Obecná omezení.

POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY

Barvicí reagentie, například detekční soupravy VENTANA, a doplňkové komponenty, včetně skliček pro negativní a pozitivní kontrolu tkání, nejsou součástí balení. Antibody Diluent (kat. č. 251-018 / 05261899001) se doporučuje pro použití v kroku ultraBlock.

Všechny produkty uvedené v příbalové informaci nemusejí být dostupné ve všech zeměpisných oblastech. Obráťte se na místní servisní zastoupení.

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

1. Doporučené kontrolní tkáň
2. Mikroskopická sklička, pozitivně nabitá
3. Štítky s čárovým kódem
4. Negative Control Rabbit Ig (kat. č. 760-1029 / 05266238001)
5. ultraView Universal DAB Detection Kit (kat. č. 760-500 / 05269806001)
6. Antibody Diluent (doporučeno) (kat. č. 251-018 / 05261899001)
7. EZ Prep Concentrate (10X) (kat. č. 950-102 / 05279771001)
8. Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat. č. 950-300 / 05353955001)
9. LCS (Predilute) (kat. č. 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (kat. č. 650-210 / 05424534001)
11. Cell Conditioning Solution (CC1) (kat. č. 950-124 / 05279801001)
12. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (kat. č. 950-224 / 05424569001)
13. Hematoxylin II (kat. č. 790-2208 / 05277965001)
14. Bluing Reagent (kat. č. 760-2037 / 05266769001)
15. Automatizované krycí skličko
16. Laboratorní zařízení pro obecné použití

SKLADOVÁNÍ

Po přijetí a mezi použitím uchovávejte při teplotě 2–8 °C. Chraňte před mrazem.

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 s protilátkou 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 přístrojem BenchMark IHC/ISH jsou vhodné tkáň zpracované běžným způsobem, fixované ve formalínu a zalité v parafínu (FFPE). Doporučeným roztokem pro fixaci tkáně je 10% neutrální puřovaný formalin.⁸ Sklička je třeba neprodleně obarvit, neboť antigenicita tkáňových řezů se může s postupem času snižovat.

Vyšetření neznámých vzorků doporučujeme provádět souběžně s pozitivními a negativními kontrolními vzorky.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Určeno pro diagnostiku in vitro (IVD).
2. Pouze k odbornému použití.
3. VAROVÁNÍ: Federální zákony USA omezují prodej tohoto zařízení pouze lékařům nebo na jejich objednávku. (Rx Only)
4. Sklička s kladným nábojem mohou být citlivá na zátěž prostředí, což může u kteréhokoliv testu IHC vést k neodpovídajícímu barvení (například na tkáň může být příliš málo primární protilátky nebo kontrastního barviva). Požádejte svého zástupce společnosti Roche o kopii "Impacts of Environmental Stresses on IHC Positively Charged Slides", abyste lépe porozuměli tomu, jak tyto typy skliček používat.
5. Tento produkt obsahuje 1 % nebo méně bovinního séra, které se používá při výrobě této protilátky.
6. S materiálem lidského nebo živočišného původu je třeba nakládat jako s nebezpečným biologickým materiálem a likvidovat jej v souladu s platnými bezpečnostními opatřeními.
7. Zabraňte kontaktu reagentii s očima a sliznicemi. Jestliže se reagentie dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte zasažené oblasti vydatným množstvím vody.
8. Zabraňte mikrobiální kontaminaci reagentii, mohla by způsobit nepřesnost výsledků.
9. Doporučené metody likvidace jsou uvedeny v celostátních a místních předpisech.
10. Označení produktu bezpečnostními štítky se řídí hlavně pokyny GHS EU. Další informace o bezpečnosti jsou uvedeny v bezpečnostním listu a v příručce pro výklad symbolů a rizik na adrese www.ventana.com.

POSTUP BARVENÍ

Primární protilátky společnosti VENTANA byly vyvinuty k použití v barvicích automatech BenchMark IHC/ISH ve spojení s detekčními soupravami VENTANA a příslušenstvím. Doporučené barvicí protokoly viz Tabulka 1.

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 návodu k obsluze. Další podrobné informace o postupech imunohistochemického barvení jsou uvedeny v příbalové informaci k příslušné detekční soupravě výrobce VENTANA.

Tabulka 1. Doporučený barvicí protokol pro protilátku CONFIRM anti-CD8 (SP57) se soupravou ultraView Universal DAB Detection Kit na přístrojích BenchMark XT/ BenchMark ULTRA.

Typ postupu	Metoda	
	XT	ULTRA
Odparafinování	Zvoleno	Zvoleno
Úprava buněk (odmaskování antigenu)	CC1 Standardní	ULTRA CC1 64 minut, 95 °C
Protilátka (primární)	16 minut, 37 °C	20 minut, 36 °C
Krok ultraBlock s přípravkem Antibody Diluent (doporučeno)	8 minut	
Kontrastní barvivo	Hematoxylin II, 4 minuty	
Po kontrastním barvení	Bluing, 4 minuty	

Vzhledem k různým způsobům fixace a zpracování tkání, jakož i obecnému stavu vybavení 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 vlastní preferenci. Další informace o různých fixacích naleznete v příručce "Immunohistochemistry Principles and Advances".⁹

POZITIVNÍ KONTROLA TKÁNĚ

Nejvhodnějším laboratorním postupem je uložit řez pro pozitivní kontrolu na stejné sklíčko jako testovaná tkáň. Při nanášení reagentie na preparát 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 tkání 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 reagentie 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 tkání pro pozitivní kontrolu této protilátky jsou normální mandle a T-buněčný lymfóm.

INTERPRETACE BARVENÍ / OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY

Buněčný barvicí vzor pro přípravek protilátku CONFIRM anti-CD8 (SP57) je buněčný membránový.

SPECIFICKÁ OMEZENÍ

Ačkoliv je CD8 antigen spojený s T-buněčným původem, který se používá jako součást panelu k vyhodnocení populace T-buňky, ukazuje tato klonovaná protilátka proměnlivou křížovou reaktivitu s některými běžnými epitelii, jakož i některými adenokarcinomy a karcinomy (Tabulka 2 a Tabulka 3). Tato křížová reaktivita byla zčásti vylepšena použitím doporučeného blokujícího činidla (Antibody Diluent kat. No. 251-018).

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

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Níže jsou uvedeny výsledky provedených testů barvení týkajících se specifity, senzitivity, přesnosti a porovnání metod.

Čitlivost a specifita

Tabulka 2. Specifita testu protilátky CONFIRM anti-CD8 (SP57) byla stanovena testováním normálních FFPE tkání.

Tkáň	Počet pozitivních případů / celkový počet případů	Tkáň	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Velký mozek	0/3	Brzlík	3/3
Mozeček	0/3	Myeloidní tkáň (kostní dřeň)	3/3
Nadledvinka	0/3	Plíce	0/3
Vaječník	0/3	Srdce	0/3
Slinivka břišní	0/3	Jícen	0/3
Příštinné tělísko	0/3	Žaludek	0/3
Hypofýza (podvěsek mozkový) ^a	3/3	Střevo ^e	3/3
Varle	0/3	Tračník ^f	3/3
Štítná žláza ^b	3/3	Játra	0/3
Prs	0/3	Slinná žláza ^g	2/3
Slezina	3/3	Ledvina ^h	3/3
Mandle	3/3	Prostata ⁱ	3/3
Děloha ^c	3/3	Čípek ^j	1/3
Kosterní sval	0/3	Kůže	0/3
Nervová tkáň	0/3	Mezotel a plíce	0/3
Příloha ^d	9/9		

Bylo zjištěno specifické zbarvení mimo cíl, jak je uvedeno:

[a] hypofýza	[b] c buňky	[c] glandulární epitel
[d] epitel	[e] slizniční buňky	[f] slizniční buňky
[g] duktální epitel	[h] renální tubuly	[i] glandulární epitel
[j] glandulární epitel		

Tabulka 3. Senzitivita protilátky CONFIRM anti-CD8 (SP57) byla stanovena testováním řady neoplastických tkání fixovaných ve formalinu a zalitých v parafinu (FFPE).

Patologie	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Glioblastom	0/1
Meningiom	0/1
Ependyom	0/1
Oligodendrogliom	0/1
Serózní karcinom (vaječník)	0/1
Mucinózní karcinom (vaječník)	0/1
Neuroendokrinní novotvar pankreatu	0/1

Patologie	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Adenokarcinom (slinivka)	0/1
Seminom	0/1
Embryonální karcinom	0/1
Medulární karcinom (štítná žláza)	0/1
Papilární karcinom (štítná žláza) ^a	1/1
Duktální karcinom in situ (prs)	0/1
Lobulární karcinom in situ (prs) ^b	1/1
Invazivní duktální karcinom (prs)	0/1
Malobuněčný karcinom (plíce)	0/1
Karcinom z dlaždicových buněk (plíce) ^c	1/1
Adenokarcinom (plíce)	0/1
Karcinom z dlaždicových buněk (plíce)	0/1
Adenokarcinom (jícen)	0/1
Mucinózní adenokarcinom (žaludek)	0/1
Adenokarcinom (tenké střevo)	0/1
Gastrointestinální stromální nádor (GIST) (tenké střevo)	0/1
Adenokarcinom (tlusté střevo)	0/1
Gastrointestinální stromální nádor (GIST) (tlusté střevo)	0/1
Adenokarcinom (konečník)	0/1
Gastrointestinální stromální nádor (GIST) (konečník)	0/1
Hepatocelulární karcinom	0/1
Hepatoblastom	0/1
Karcinom z jasných buněk (ledvina)	0/1
Adenokarcinom (prostata)	0/1
Uroteliální karcinom (prostata) ^d	1/2
Leiomyom	0/1
Karcinom (endometrium)	0/1
Karcinom z jasných buněk (endometrium)	0/1
Karcinom ze skvamózních buněk (děložní hrdlo) ^e	1/2
Embryonální rhabdomyosarkom	0/1
Melanom	0/1
Karcinom z bazálních buněk	0/1
Karcinom ze skvamózních buněk (kůže)	0/1
Neurofibrom	0/1
Neuroblastom	0/1
Epiteloidní mezoteliom	0/1

Patologie	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Lymfom, NOS	1/3
Leiomyosarkom	0/2
Osteosarkom	0/1
Rhabdomyosarkom z vřetenovitých buněk	0/1
B-buněčný lymfom, NOS (viz poznámku níže)	1/97
Malobuněčný lymfocytární lymfom	0/4
Folikulární lymfom	0/3
Hodgkinův lymfom	0/13
Anaplastický velkobuněčný lymfom	0/5
Lymfom z plášťových buněk	0/6
Lymfom typu MALT	0/11
T-buněčné lymfomy	5/10
B-buněčný lymfom jiný než Hodgkinův	0/1

Bylo zjištěno specifické zbarvení mimo cíl, jak je uvedeno:

[a] folikulární buňky [b] lobulární buňky [c] skvamózní buňky
[d] uroteliální buňky [e] skvamózní buňky

Poznámka: Jediný B-buněčný lymfom slabě exprimující pozitivitu CD8 byl prokázán zároveň jako pozitivní na CD20 a negativní s CD3. Ačkoli jsou takové nepfesnosti buněčných rodů v nádorech vzácné, byly uvedeny v literatuře.¹⁰

Preciznost

Studie preciznosti pro protilátku CONFIRM anti-CD8 (SP57) byly provedeny s cílem prokázat:

- Preciznosti výsledků protilátky mezi saržemi.
- Preciznosti během jednoho cyklu a mezi dny na přístroji BenchMark XT.
- preciznost mezi přístroji u přístrojů BenchMark XT a BenchMark ULTRA,
- preciznost mezi platformami mezi přístroji BenchMark XT a BenchMark ULTRA.

Studie preciznosti mezi nástroji byly provedeny s použitím reprezentativních testů.

Všechny studie splnily kritéria akceptovatelnosti.

LITERATURA

1. Reinherz EL, Meuer SC, Schlossman SF. The delineation of antigen receptors on human T lymphocytes. *Immunol Today* 1983;4:5-8.
2. Reinherz EL, Hussey RE, Fitzgerald K, et al. Antibody directed at a surface structure inhibits cytolytic but not suppressor function of human T lymphocytes. *Nature* 1981;294:168-170.
3. Perussia B, Fanning V, Trinchieri G. A human NK and K cell subset shares with cytotoxic T cells expression of the antigen recognized by antibody OKT8. *J Immunol* 1983;131:223-231.
4. Bierer BE, Sleckman BP, Ratnoff SE, et al. The biological roles of CD2, CD4, and CD8 in T-cell activation. *Ann Rev Immunol* 1989;7:579-599.
5. van den Berg HA, Wooldridge L, Laugel B, et al. Coreceptor CD8-driven modulation of T cell antigen receptor specificity. *J Theor Biol* 2007;249:395-408.
6. Nuckols JD, Shea CR, Horenstein MG, et al. Quantitation of intraepidermal T-cell subsets in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue helps in the diagnosis of mycosis fungoides. *J Cutan Pathol* 1999;26:169-175.
7. Stein H, Lennert K, Feller AC, et al. Immunohistochemical analysis of human lymphoma: correlation of histological and immunohistochemical categories. *Adv Cancer Res* 1984;42:67-147.
8. Sheehan DC, Hrapchak BB. *Theory and Practice of Histotechnology*. 2nd Edition. St. Louis, MO: The C.V. Mosby Company; 1980.

9. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology. 6th edition. In: Rose NR, ed. ASM Press; 2002.
10. Greaves MF, Chan LC, Furlley AJ, et al. Lineage promiscuity in hemopoietic differentiation and leukemia. Blood 1986;67: 1-11.

POZNÁMKA: V tomto dokumentu se používá jako oddělovač desetinných míst vždy tečka, která slouží k označení hranice mezi integrálem a zlomkovými částmi desetinné číslíce. Oddělovače tisíců se nepoužívají.

DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

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

© 2019 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.ventana.com



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany