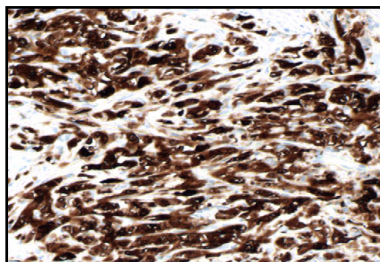


CONFIRM anti-Calretinin (SP65) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

REF 790-4467



Obrázek 1. Barvení mezoteliomu protilátkou CONFIRM anti-Calretinin (SP65)

zabarvení a může představovat užitečnou pomůcku při identifikaci mezoteliomů a při rozlišování mezoteliomů a adenokarcinomů. Tato protilátka je určena ke kvalitativnímu barvení tkáňových řezů fixovaných ve formalinu a zalitých v parafínu.

Tento výrobek musí být interpretován kvalifikovaným patologem ve spojení s histologickým vyšetřením, relevantními klinickými informacemi a správnými kontrolami.

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

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Calretinin, kalcium vázající protein s molekulovou hmotností 29 kDa, je členem rodiny EF-hand proteinů, které obsahují S-100 protein. EF-hand proteiny jsou charakteristické polem helix-smyčka-helix, které funguje jako vazebné místo vápníku.¹ Calretinin obsahuje šest těchto EF-hand úseků.¹ Calretinin je hojně exprimován v neurálních tkáních.^{2,3} Mimo nervový systém se calretinin nachází v mezoteliálních buňkách, buňkách produkujících steroidy (včetně adrenálních kortikálních buněk, testikulárních Leydigovy buněk, ovariálních buněk theca interna), testikulárních Sertoliových buněk, rete testis, ovariálního povrchového epitelu, některých neuroendokrinních buněk, prsních žláz, ekkrinních slinných buněk, buněk vlasových folikulů, thymických epitheliálních buněk, endometriálních stromálních buněk a tukových buněk.^{4,5} Calretinin je detekován ve většině maligních mezoteliomů a může být proto pomůckou při rozlišování mezoteliomů od adenokarcinomů plic.⁶⁻¹⁰ Další nádory, které jsou na calretinin pozitivní, jsou například adenomatoidní nádor, sex cord-stromální nádory (většinou Sertoli-stromální nádory), mezonefrické cervikální adenokarcinomy, Wolffian adnexální nádory, synoviální sarkomy a ameloblastomy.^{5,11-14} Pozitivní zbarvení na calretinin bylo také zaznamenáno u některých adenokarcinomech, včetně střeva a slinivky břišní.¹⁵

DODÁVANÁ ČINIDLA

CONFIRM anti-Calretinin (SP65) obsahuje dostatek činidla pro 50 sklíček.

Jeden 5mL dávkovač protilátky CONFIRM anti-Calretinin (SP65) obsahuje přibližně 29,7 µg králičí monoklonální protilátky (SP65).

Protilátka je naředěna v pufovaném fyziologickém roztoku s obsahem proteinového nosiče a konzervačního činidla.

Celková proteinová koncentrace činidla je asi 10 mg/mL. Koncentrace specifické protilátky je asi 5,94 µg/mL. V tomto produktu není známa žádná nespecifická reaktivita protilátky.

CONFIRM anti-Calretinin (SP65) je Protein A purifikovaná rekombinantní králičí monoklonální protilátka.

Podrobné popisy nalezete v příbalovém letáku k příslušné detekční soupravě Ventana: (1) Principy a metody, (2) Potřebné materiály a činidla, které však nejsou součástí dodávky, (3) Sběr vzorků a příprava pro analýzu, (4) Kontrola kvality, (5) Řešení problémů, (6) Interpretace výsledků a (7) Obecná omezení.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ SE NEDODÁVÁ

Barvicí činidla, například detekční soupravy Ventana (tj. *ultraView* Universal DAB Detection Kit) a přídatné materiály, včetně kontrolních sklíček pro negativní a pozitivní tkáň nejsou součástí dodávky.

SKLADOVÁNÍ

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

Aby byl zajištěn správný výkon činidla 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. Je-li řádně skladováno, je činidlo stabilní do data uvedeného na štítku. Nepoužívejte činidla po vypršení data expirace.

PŘÍPRAVA VZORKŮ

Pro použití této primární protilátky s detekčními soupravami Ventana na barvicích automatech Ventana jsou vhodné tkáně, zpracované běžným způsobem, fixované ve formalínu a zalité v parafínu. Doporučené vhodné fixativum je 10% neutrální pufovaný formalin.¹⁶ V zájmu zachování antigenosti napeřezaných tkáňových řezů se musí řezy tkání barvit okamžitě.

Doporučuje se provádět souběžně s neznámými vzorky též pozitivní a negativní kontroly.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ PŘEDPISY

1. K diagnostice *in vitro*.
2. Tento produkt obsahuje 1 % nebo méně bovinního séra, které se používá k výrobě této protilátky.
3. Zabraňte kontaktu činidel s očima a sliznicí. Jestliže se činidla dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je vydatným množstvím vody.
4. Zamezte mikrobiologické kontaminaci činidel.
5. Doporučené metody likvidace jsou uvedeny v celostátních a místních předpisech.

POSTUP BARVENÍ

Primární protilátky Ventana byly vyvinuty za účelem použití v barvicích automatech Ventana ve spojení s detekčními soupravami a příslušenstvím výrobce Ventana. Doporučené barvicí protokoly pro přístroje BenchMark XT a BenchMark ULTRA s detekční soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit jsou uvedeny v tabulce 1.

Parametry automatických procedur lze zobrazit, vytisknout a upravovat podle postupů uvedených v Návodu k obsluze. Další podrobné informace o postupech imunohistochemického barvení naleznete v příbalovém letáku k příslušné detekční soupravě výrobce Ventana.

Tabulka 1. Doporučené barvicí protokoly pro CONFIRM anti-Calretinin (SP65) s detekční soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit na barvicím automatu BenchMark XT/BenchMark ULTRA.

Typ postupu	Způsob
Odstraňování parafínu	Zvoleno
Úprava buněk (odmaskování antigenu)	Jemná úprava buněk Cell Conditioning 1
Enzym (proteáza)	Není vyžadováno
Protilátka (primární)	Přístroj BenchMark XT Asi 16 minut, 37 °C Přístroj BenchMark ULTRA Asi 20 minut, 36 °C
Kontrastní barvivo	Hematoxylin II, 4 minuty
Po kontrastním barvení	Bluing Reagent, 4 minuty

Vzhledem k různým způsobům fixace a zpracování tkání může být potřeba zvýšit nebo snížit inkubační doby primární protilátky, úpravy buněk nebo předběžného zpracování proteázou na jednotlivých vzorcích a v závislosti na použité metodě detekce. Další informace o různých fixacích naleznete v příručce „Immunohistochemistry Principles and Advances“.¹⁷

TKÁŇ PRO POZITIVNÍ KONTROLU

Příkladem tkáně pro pozitivní kontrolu této protilátky jsou mezoteliomy a normální apendix.

INTERPRETACE ZABARVENÍ

Buněčný vzor zabarvení protilátkou CONFIRM anti-Calretinin (SP65) je cytoplazmatický a nukleární.

SPECIFICKÁ OMEZENÍ

Protilátka je optimalizovaná pro použití na přístrojích Ventana BenchMark XT a BenchMark ULTRA ve spojení s detekční soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit (REF 760-500) při inkubaci primární protilátky v délce 16, resp. 20 minut. Uživatel však musí jednotlivé laboratorní výsledky získané použitím tohoto činidla validovat.

CHARAKTERISTIKY ÚČINNOSTI

- Specifita protilátky CONFIRM anti-Calretinin (SP65) byla stanovena testováním normálních a neoplastických tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu.

U normálních tkáních byly výsledky následující: velký mozek (3/3), malý mozek (3/3), nadledvina (3/3), vaječník (1/3), slinivka břišní (0/3), příštítná žláza (0/3), hypofýza (3/3), varlata (3/3), štítná žláza (0/3), prs (0/3), slezina (0/3), mandle (0/3), brzlík (0/3), myeloidní tkáň (0/3), plíce (0/3), myokard (0/3), jícen (0/3), gastrický fundus (0/3), tenké střevo (0/3), tračník (0/3), játra (0/3), slinná žláza (0/3), ledvina (0/3), prostata (0/3), endometrium (0/3), děložní hrdlo (0/3), kosterní sval (0/3), kůže (0/3), nerv (1/3), mezotel a plíce (2/3).

U neoplastických tkáních byly výsledky následující: (0/1) glioblastom, (0/1) atypický meningiom, (1/1) maligní ependyom, (0/1) maligní oligodendrogliom, (1/2) papilární adenokarcinom, (0/1) karcinom z ostrůvkových buněk, (1/1) adenokarcinom slinivky břišní, (0/1) seminom varlat, (0/1) embryonální karcinom varlat, (1/1) medulární karcinom štítné žlázy, (0/1) papilární karcinom štítné žlázy, (0/3) karcinom prsu, (0/1) difúzní B-buněčný lymfom, (0/3) karcinom plic, (0/1) karcinom skvamózních buněk jícnu, (1/1) adenokarcinom jícnu, (0/1) gastrický adenokarcinom, (0/2) intestinální adenokarcinom, (0/2) karcinom tračníku, (0/2) rektální karcinom, (0/1) hepatocelulární karcinom, (0/1) hepatoblastom, (0/1) karcinom ledviny z jasných buněk, (0/1) adenokarcinom prostaty, (1/1) karcinom z přechodových buněk, (0/1) leiomyom, (0/1) endometriální adenokarcinom, (0/1) endometriální karcinom z jasných buněk, (0/3) skarcinom ze skvamózních buněk, (0/1) embryonální rhabdomyosarkom, (0/1) maligní melanom, (0/1) karcinom z bazálních buněk, (0/1) neurofibrom, (1/1) neuroblastom, (1/1) maligní mezotelium, (0/3) difúzní maligní lymfom, (0/1) Hodgkinův lymfom, (0/1) karcinom z přechodových buněk, (0/2) leiomyosarkom, (0/1) osteosarkom, (0/1) rhabdomyosarkom z vřetenovitých buněk, (0/2) nemaligní mezotelium, (34/58) maligní mezotelium, (8/20) normální mezotelium, (4/27) adenokarcinom plic, (4/6) atypický karcinoid plic, (1/3) velkobuněčný karcinom plic, (4/7) malobuněčný karcinom plic a (7/26) karcinom plic ze skvamózních buněk.
- Senzitivita protilátky CONFIRM anti-Calretinin (SP65) byla stanovena testováním normálních a neoplastických tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu.
- Reprodukovatelnost mezi šaržemi byla stanovena testováním 3 šarží na 1 bloku více tkání (3 tkáně v jednom bloku) na barvicím automatu BenchMark XT. 3 ze 3 tkání ze všech 3 šarží měly ekvivalentní skóre.
- Reprodukovatelnost uvnitř cyklu byla stanovena barvením 2 bloků více tkání (3 tkáně v jednom bloku, celkem 6 tkání) na 14 sklech na přístroji BenchMark XT. 84 z 84 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.
- Reprodukovatelnost mezi cykly byla stanovena barvením 2 bloků více tkání (3 tkáně v jednom bloku, celkem 6 tkání) na 5 sklech na přístroji BenchMark XT po dobu pěti dnů, které nenásledují po sobě. 150 ze 150 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.
- Reprodukovatelnost barvení uvnitř platformy byla stanovena na základě barvení 2 bloků více tkání (3 tkáně v jednom bloku) na 5 sklech na 3 přístrojích BenchMark XT. 90 z 90 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.
- Reprodukovatelnost barvení uvnitř platformy byla stanovena na základě barvení 1 bloku různých druhů tkání (3 tkáně v jednom bloku) na 5 sklech na 3 přístrojích BenchMark ULTRA. 45 ze 45 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.

- Reprodukovatelnost barvení mezi platformami byla stanovena na základě barvení 1 bloku více tkání (3 tkáně v jednom bloku) na 5 sklech na 3 přístrojích BenchMark XT a 3 přístrojích BenchMark ULTRA. 90 z 90 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.
- Kompatibilita s přístrojem BenchMark XT za použití detekční soupravy MIEW DAB Detection Kit.

REFERENCE

- Kuźnicki J, Wang TL, Martin BM, Winsky L, Jacobowitz DM. Localization of Ca(2+)-dependent conformational changes of calretinin by limited tryptic proteolysis. *Biochem J*. 1995 June 1;308(Pt 2):607–612.
- Andressen C, Blümcke I, Celio MR. Calcium-binding proteins: selective markers of nerve cells. *Cell Tissue Res*. 1993;271:181–208.
- Rogers, JH. Calretinin: a gene for a novel calcium-binding protein expressed principally in neurons. *J Cell Biol*. 1987 Sep;105(3):1343-53.
- Lugli A, Forster Y, Haas P, Nocito A, Bucher C, Bissig H, Mirlacher M, Storz M, Mihatsch MJ, Sauter G. Calretinin expression in human normal and neoplastic tissues: a tissue microarray analysis on 5233 tissue samples. *Hum Pathol*. 2003 Oct;34(10):994-1000.
- Cao QJ, Jones JG, Li M. Expression of calretinin in human ovary, testis, and ovarian sex cord-stromal tumors. *Int J Gynecol Pathol*. 2001;20:346-52.
- Oates J, Edwards C. HBME-1, MOC-31, WT1 and calretinin: an assessment of recently described markers for mesothelioma and adenocarcinoma. *Histopathology*. 2000 Apr;36(4):341-7.
- Dogliani C, Tos AP, Laurino L, Iuzzolino P, Chiarelli C, Celio MR, Viale G. Calretinin: a novel immunocytochemical marker for mesothelioma. *Am J Surg Pathol*. 1996;20:1037-46.
- Nagel H, *et al*. The value of anti-calretinin antibody in the differential diagnosis of normal and reactive mesothelia versus metastatic tumors in effusion cytology. *Pathol Res Pract*. 1998;194:759-64.
- Ordóñez NG. Value of calretinin immunostaining in differentiating epithelial mesothelioma from lung adenocarcinoma. *Mod Pathol*. 1998;11:929-33.
- Leers MP, *et al*. E-cadherin and calretinin: a useful combination of immunochemical markers for differentiation between mesothelioma and metastatic adenocarcinoma. *Histopathology*. 1998;32:209-16.
- McCluggage WG, Maxwell P. Immunohistochemical staining for calretinin is useful in the diagnosis of ovarian sex cord-stromal tumors. *Histopathology*. 2001 May;38(5):403-8.
- Nogales FF, Isaac MA, Hardisson D, Bosincu L, Palacios J, Ordi J, Mendoza E, Manzarbeitia F, Olivera H, O'Valle F, Krasevic M, Marquez M. Adenomatoid tumors of the uterus: an analysis of 60 cases. *Int J Gynecol Pathol*. 2002 Jan;21(1):34-40.
- Cappello F, Barnes L. Synovial sarcoma and malignant mesothelioma of the pleura: review, differential diagnosis and possible role of apoptosis. *Pathology*. 2001 May;33(2):142-8.
- Attanoos RL, Dojcinov SD, Webb R, Gibbs AR. Anti-mesothelial markers in sarcomatoid mesothelioma and other spindle cell neoplasms. *Histopathology*. 2000 Sep;37(3):224-31.
- Gotzov V, Wintergerst ES, Musy JP, Spichtin HP, and Genton CY. Selective distribution of calretinin in adenocarcinomas of the human colon and adjacent tissues. *Am J Surg Pathol*. 1999;23:701-11.
- Sheehan DC, Hrapchak BB. *Theory and Practice of Histotechnology*, 2nd Edition. St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1980.
- Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.

DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

CONFIRM, BENCHMARK, *ultraView*, VENTANA a logo Ventana jsou ochrannými známkami společnosti Roche.

Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků.

Konečnému uživateli je poskytována společností Ventana jednorázová licence v souladu s patenty USA, čísla 6045759, 6192945, 6416713, 6945128 a 7378058 a zahraniční stejnopisy.

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

EC REP

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany