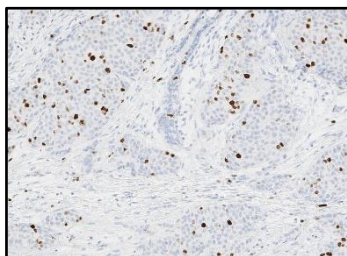


## CONFIRM anti-Ki-67 (30-9) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

**REF** 790-4286

05278384001

**IVD**  50



**Obř. 1. Barvení s protilátkou CONFIRM anti-Ki67 (30-9) u karcinomu prsu.**

vyšetřením, relevantními klinickými informacemi a správnými kontrolami.

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

### SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Protilátka CONFIRM anti-Ki-67 (30-9) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (protilátka CONFIRM anti-Ki-67 (30-9)) rozpoznává marker proliferace Ki-67 (MKI67), známého spíše jako Ki-67.

Ki-67 je jaderný protein exprimovaný v proliferaujících buňkách. Ki-67 kóduje dvě proteinové izoformy o molekulových hmotnostech 345 a 395 kDa.<sup>1</sup> Ki-67 je přítomen ve všech aktivních fázích buněčného cyklu (G1, S, G2 a M), ale chybí v buňkách v klidovém stavu (G0).<sup>1</sup> Expresse Ki-67 kolísá během aktivních fází buněčného cyklu, počínaje fází G1 a zvyšuje se během S fáze s nejvyššími hladinami vyskytujícími se v metafázi.<sup>2</sup> Během anafáze a telofáze začíná expresse Ki-67 klesat.<sup>2</sup> Funkce Ki-67 nebyla plně objasněna a je známo jen málo kromě toho, že jde o protein fosforylovaný prostřednictvím serinu a threoninu s rozhodující rolí při dělení buněk.<sup>3</sup>

Absence Ki-67 v buňkách v klidovém stavu a jeho expresse ve všech proliferaujících buňkách, ať už normálních nebo neoplastických, činí protilátku Ki-67 užitečnou pro stanovení růstové frakce jakékoli dané populace lidských buněk.<sup>1</sup>

Detekce proteinu Ki-67 pomocí imunohistochemie (IHC) s protilátkou CONFIRM anti-Ki-67 (30-9) může být použita jako pomůcka při identifikaci proliferace buněk v běžné a neoplastické tkáni. Může být použita jako součást panelu studií IHC. Vzor barvení je jaderný.

### PRINCIP POSTUPU

Protilátku CONFIRM anti-Ki-67 (30-9) lze použít jako primární protilátku pro imunohistochemické barvení tkáňových řezů v parafínu. Imunohistochemické barvení obecně umožňuje vizualizaci antigenů sekvenční aplikací specifické protilátky (primární protilátky), která se váže na antigen, sekundární protilátky (spojující protilátky), která se váže na primární protilátku, enzymového komplexu a chromogenního substrátu s vloženými kroky promývání. Enzymatická aktivace chromogenu má za následek viditelný reakční produkt v místě antigenu. Vzorek pak lze kontrastně nabarvit a zakrýt krycím sklíčkem. Výsledky mohou být interpretovány s použitím světelného mikroskopu a mohou pomoci při diferenciální diagnóze patofyziologických procesů, které mohou anebo nemusí být spojeny s určitým antigenem.

Protilátka CONFIRM anti-Ki-67 (30-9) je optimálně naředěna pro použití s detekčními soupravami *ultraView* Universal DAB a *OptiView* DAB IHC Detection Kit a přístroji BenchMark IHC/ISH. Podrobnější informace o obsluze přístroje naleznete v příslušné uživatelské příručce k přístroji.

### DODÁVANÝ MATERIÁL

Protilátka CONFIRM anti-Ki-67 (30-9) obsahuje dostatek reagentie pro 50 testů.

Jeden 5mL dávkovač protilátky CONFIRM anti-Ki-67 (30-9) obsahuje přibližně 10 µg králičí monoklonální protilátky namířené proti proteinu Ki-67 přítomnému v tkáni.

Protilátka je naředěna v Tris-HCl s nosičového proteinu a 0.10% konzervačního prostředku ProClin 300.

Koncentrace specifické protilátky je přibližně 2 µg/mL. Pro tento produkt není známa žádná nespecifická reaktivita protilátky.

Protilátka CONFIRM anti-Ki-67 (30-9) je králičí monoklonální protilátka vyráběná jako supematant buněčné kultury.

Podrobné popisy následujících položek naleznete v příslušném metodickém listu v detekční soupravě VENTANA: Princip postupu, Materiál a metody, Odběr vzorků a příprava pro analýzu, Postupy kontroly kvality, Řešení problémů, Interpretace výsledků a Obecná 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. Doporučená kontrolní tkáň
2. Mikroskopická sklíčka, pozitivně nabitá
3. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (kat. č. 790-4795 / 06683380001)
4. *OptiView* DAB IHC Detection Kit (kat. č. 760-700 / 06396500001)
5. *ultraView* 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. Fixační médium
15. Krycí sklo
16. Obecné laboratorní vybavení
17. Přístroj BenchMark IHC/ISH

### SKLADOVÁNÍ A MANIPULACE

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 zpracované běžným způsobem, fixované formalinem, zalité parafínem (FFPE). Doporučeným fixativem na tkáně je 10% neutrální pufovaný formalin.<sup>4</sup> Sklíčka je třeba obarvit neprodleně, neboť antigenost tkáňových řezů se může 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 reagensie s očima, kůží a sliznicemi. Použijte ochranný oděv a rukavice.

6. Pozitivně nabitá sklička 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 skliček.
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 směnicemi odpovědných orgánů.<sup>5,6</sup>
8. Zabraňte kontaktu reagensi s očima a sliznicemi. Jestliže se reagensie dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte zasažené oblasti vydatným množstvím vody.
9. Zabraňte mikrobiální kontaminaci reagensi, mohla by způsobit nepřesnost výsledků.
10. 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](http://dialog.roche.com).
11. Doporučené metody likvidace jsou uvedeny v celostátních a/nebo místních předpisech.
12. Označení produktu bezpečnostními štítky se řídí hlavně pokyny GHS EU. Pro profesionální uživatele je na vyžádání k dispozici bezpečnostní list.
13. 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.
	H412	Škodlivý pro vodní organismy s dlouhodobými účinky.
	P261	Zamezte vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/par/aerosolů.
	P273	Zabraňte uvolnění do životního prostředí.
	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 uvádějí tabulky níže.

Tato protilátka byla optimalizována pro specifické inkubační doby, uživatel však musí výsledky získané pomocí této reagensie 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 vkládacím dávkovačům (P/N 790-4286).

Tab. 2. Doporučený barvicí protokol pro protilátku CONFIRM anti-Ki-67 (30-9) s detekční soupravou OptiView DAB IHC 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 64 minut, 100 °C
Preprimární inhibitor peroxidázy	Zvoleno	Zvoleno	Zvoleno
Protilátka (primární)	16 minut, 37 °C	16 minut, 37 °C	16 minut, 36 °C
OptiView HQ Linker	8 minut (standardně)		
OptiView HRP Multimer	8 minut (standardně)		
Kontrastní barvivo	Hematoxylin II, 4 minuty		
Po kontrastním barvení	Bluing, 4 minuty		

Tab. 3. Doporučené barvicí protokoly pro protilátku CONFIRM anti-Ki-67 (30-9) s detekční soupravou ultraView Universal DAB 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 64 minut, 100 °C
Protilátka (primární)	16 minut, 37 °C	16 minut, 37 °C	16 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 vlastní preferenci. Další informace o různých fixacích naleznete v příručce „Immunohistochemistry Principles and Advances“ (Zásady a postupy imunohistochemie).<sup>7</sup>

## NEGATIVNÍ REGENČNÍ KONTROLA

Kromě obarvení protilátkou CONFIRM anti-Ki-67 (30-9) by mělo být provedeno obarvení druhého sklička s odpovídající reagensi negativní kontroly.

## POZITIVNÍ KONTROLA TKÁNĚ

S každým provedeným postupem barvení musí být provedena pozitivní kontrola tkáně. Nejvhodnějším laboratorním postupem je uložit řez pro pozitivní kontrolu na stejné skličko jako testovanou tkáň. Při nanášení reagensie na skličko 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 tkáni by měl být čerstvý vzorek z pitvy, biopsie nebo operace, připravený a fixovaný co nejdříve stejným způsobem jako testované řezy. Známé pozitivní kontroly tkání je nutno používat pouze ke sledování správné funkce reagensi a přístrojů, nikoli jako pomůcku ke stanovení konkrétní diagnózy testovaných vzorků. Pokud pozitivní kontroly tkání pozitivně zbarvení nevykazují, je třeba považovat výsledky testovaných vzorků za neplatné.

Příklady tkáně pro pozitivní kontrolu této protilátky jsou mandle či lymfatická uzlina.

## INTERPRETACE BARVENÍ / OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY

Buněčný vzor barvení u protilátky CONFIRM anti-Ki-67 (30-9) je jaderný.

### SPECIFICKÁ OMEZENÍ

Systém detekce OptiView detection je obecně citlivější než detekční souprava *ultraView* Universal DAB Detection Kit. Uživatel však musí výsledky získané pomocí této reagentie a detekčních systémů validovat.

Všechny testy nemusejí 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.

#### Citlivost a specifita

**Tab. 4.** Senzitivita/specifita protilátky CONFIRM anti-Ki-67 (30-9) byla stanovena testováním běžných tkání FFPE.

Tkáň	Počet pozitivních případů / celkový počet případů	Tkáň	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Velký mozek	3/3	Brzlík	3/3
Mozeček	3/3	Kostní dřev	3/3
Nadledvinka	1/3	Plic	2/3
Vaječník	2/3	Srdce	2/3
Slinivka	3/3	Jícen	3/3
Lymfatická uzlina	3/3	Žaludek	3/3
Příštitné tělísko	3/3	Tenké střevo	3/3
Hypofýza	3/3	Tlusté střevo	3/3
Varle	3/3	Játra	2/3
Štitná žláza	3/3	Slinná žláza	2/3
Prs <sup>a</sup>	12/13	Ledvina	2/3
Slezina	3/3	Prostata	1/3
Mandle	3/3	Děložní hrdlo	4/4
Endometrium	2/3	Kůže	3/3
Kosterní sval	0/3	Mezotel	0/3
Nerv	0/3	Močový měchýř	3/3

<sup>a</sup> Byly vyhodnocovány normální tkáně, tkáně s hyperplazií i tkáně s chronickým zánětem.

**Tab. 5.** Senzitivita/specifita protilátky CONFIRM anti-Ki-67 (30-9) byla stanovena testováním řady neoplastických tkání FFPE.

Patologie	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Glioblastom (mozek)	2/2
Meningiom (mozek)	1/1

Patologie	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Oligodendrogliom (mozek)	1/1
Endometrioidní karcinom (vaječník)	1/1
Mucinózní adenokarcinom (vaječník)	1/1
Pankreatický neuroendokrinní novotvar (slinivka)	1/1
Adenokarcinom (slinivka)	1/1
Seminom (varle)	1/1
Embryonální karcinom (varle)	1/1
Medulární karcinom (štítná žláza)	0/1
Papilární karcinom (štítná žláza)	1/1
Duktální karcinom in situ (prs)	1/1
Invazivní duktální karcinom (prs)	120/124
Invazivní lobulární karcinom (prs)	5/5
Mucinózní karcinom (prs)	1/1
Neuroendokrinní karcinom (prs)	1/1
Medulární karcinom (prs)	7/7
Adenóza (prs)	1/1
Karcinom prsu (metastatický)	38/39
Lymfom z B-buněk, NOS (slezina)	1/1
Karcinom ze skvamózních buněk (plic	1/1
Malobuněčný karcinom (plic	1/1
Adenokarcinom (plic	0/1
Karcinom ze skvamózních buněk (jícen)	1/1
Adenokarcinom (jícen)	1/1
Adenokarcinom (žaludek)	1/1
Adenokarcinom (tenké střevo)	1/1
Gastrointestinální stromální tumor (GIST) (tenké střevo)	1/1
Adenokarcinom (tlusté střevo)	1/1
GIST (tlusté střevo)	1/1
Adenokarcinom (konečník)	1/1
GIST (konečník)	1/1
Melanom (konečník)	1/1
Hepatocelulární karcinom (játra)	0/1
Hepatoblastom (játra)	1/1
Karcinom z jasných buněk (ledvina)	1/1
Adenokarcinom (prostata)	2/2

Patologie	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Leiomyosarkom (děloha)	1/1
Adenokarcinom (děloha)	1/1
Karcinom z jasných buněk (děloha)	1/1
Karcinom ze skvamózních buněk (čipek)	2/2
Embryonální rhabdomyosarkom (příčně pruhovaný sval)	1/1
Karcinom z bazálních buněk (kůže)	1/1
Karcinom ze skvamózních buněk (kůže)	1/1
Neurofibrom (nerv)	1/1
Neuroblastom (retroperitoneum)	1/1
Pleomorfní rhabdomyosarkom (retroperitoneum)	1/1
Mezoteliom (peritoneum)	1/1
Lymfom z B-buněk, NOS (lymfatická uzlina)	2/2
Hodgkinův lymfom (lymfatická uzlina)	1/1
Anaplastický velkobuněčný lymfom (lymfatická uzlina)	1/1
Uroteliální karcinom (močový měchýř)	1/1
Leiomyosarkom (močový měchýř)	1/1
Osteosarkom (chrupavka)	0/1
Leiomyosarkom (hladký sval)	1/1

### Preciznost

Studie preciznosti pro protilátku CONFIRM anti-Ki-67 (30-9) 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 přístroji BenchMark GX, BenchMark XT a BenchMark ULTRA,
- preciznosti mezi platformami mezi přístroji BenchMark XT, BenchMark GX a BenchMark ULTRA.

Všechny studie splnily kritéria přijatelnosti.

### LITERATURA

1. Li LT, Jiang G, Chen Q, Zheng JN. Ki67 is a promising molecular target in the diagnosis of cancer (review). *Mol Med Rep.* 2015;11(3):1566-1572.
2. Jurikova M, Danihel L, Polak S, Varga I. Ki67, PCNA, and MCM proteins: Markers of proliferation in the diagnosis of breast cancer. *Acta Histochem.* 2016;118(5):544-552.
3. Heidebrecht HJ, Buck F, Haas K, Wacker HH, Parwaresch R. Monoclonal antibodies Ki-S3 and Ki-S5 yield new data on the 'Ki-67' proteins. *Cell Prolif.* 1996;29(7):413-425.
4. Sheehan DC, Hrapchak BB. *Theory and practice of histotechnology*, 2nd Edition. The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1980.
5. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
6. 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.

7. 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>

### Symboly

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](http://dialog.roche.com)):



Číslo položky Global Trade

### DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

VENTANA, BENCHMARK, CONFIRM, OPTIVIEW, *ultraView* 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 okraji.

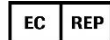
© 2020 Ventana Medical Systems, Inc.

### 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](http://www.roche.com)



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

