

BOND™ Ready-To-Use Primary Antibody Cytokeratin HMW (34βE12)

Catalog No: PA0134

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park
Benton Lane
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW
United Kingdom
+44 191 215 4242



[EN](#) [FR](#) [IT](#) [DE](#) [ES](#) [PT](#) [SV](#) [EL](#) [DA](#) [NL](#)
[NO](#) [TR](#) [BG](#) [HU](#) [RO](#) [RU](#) [PL](#) [SL](#) [CS](#) [SK](#) [AR](#)

Instructions for Use

Please read before using this product.

Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

Istruzioni per L'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

Instrucciones de Uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

Instruktioner vid Användning

Var god läs innan ni använder produkten.

Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

Brugsanvisning

Læs venligst før produktet tages i brug.

Gebbruksinstructies

Lezen vóór gebruik van dit product.

Bruksanvisning

Vennligst les denne før du bruker produktet.

Kullanım Talimatları

Lütfen bu ürünü kullanmadan önce okuyunuz.

Инструкции за употреба

Моля, прочетете преди употреба на този продукт.

Használati utasítás

A termék használatba vétele előtt olvassa el.

Instrucțiuni de utilizare

Citiți aceste instrucțiuni înainte de a utiliza produsul.

Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

Instrukcja obsługi

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

Návod k použití

Čtěte před použitím tohoto výrobku.

Návod na použitie

Prosím, prečítajte si ho pred použitím produktov.

تعليمات الاستخدام

يرجى القراءة قبل استخدام هذا المنتج.

Check the integrity of the packaging before use.

Vérifier que le conditionnement est en bon état avant l'emploi.

Prima dell'uso, controllare l'integrità della confezione.

Vor dem Gebrauch die Verpackung auf Unversehrtheit überprüfen.

Comprobar la integridad del envase, antes de usarlo.

Verifique a integridade da embalagem antes de utilizar o produto.

Kontrollera att paketet är obrutet innan användning.

Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευασίας πριν από τη χρήση.

Kontroller, at pakken er ubeskadiget før brug.

Controleer de verpakking vóór gebruik.

Sjekk at pakningen er intakt før bruk.

Kullanmadan önce ambalajın bozulmamış olmasını kontrol edin.

Проверете целостта на опаковката преди употреба.

Használat előtt ellenőrizze a csomagolás épségét.

Verificați integritatea ambalajului înainte de a utiliza produsul.

Перед применением убедитесь в целостности упаковки.

Przed użyciem należy sprawdzić, czy opakowanie jest szczelne.

Pred uporabo preverite celovitost embalaže.

Před použitím zkontrolujte neporušenost obalu.

Pre použitím skontrolujte, či balenie nie je porušené.

تحقق من سلامة العبوة قبل الاستخدام.

BOND™ Ready-To-Use Primary Antibody

Cytokeratin HMW (34βE12)

Catalog No: PA0134

Intended Use

This reagent is for in vitro diagnostic use.

Cytokeratin HMW (34βE12) monoclonal antibody is intended to be used for the qualitative identification by light microscopy of human cytokeratins 1, 5, 10 and 14 in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue by immunohistochemical staining using the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system).

The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies and proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Summary and Explanation

Immunohistochemical techniques can be used to demonstrate the presence of antigens in tissue and cells (see "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation). Cytokeratin HMW (34βE12) primary antibody is a ready to use product that has been specifically optimized for use with BOND Polymer Refine Detection. The demonstration of human cytokeratins 1, 5, 10 and 14 is achieved by first, allowing the binding of Cytokeratin HMW (34βE12) to the section, and then visualizing this binding using the reagents provided in the detection system. The use of these products, in combination with the automated BOND system, reduces the possibility of human error and inherent variability resulting from individual reagent dilution, manual pipetting and reagent application.

Reagents Provided

Cytokeratin HMW (34βE12) is a mouse anti-human monoclonal antibody produced as a tissue culture supernatant, and supplied in Tris buffered saline with carrier protein, containing 0.35% ProClin™ 950 as a preservative.

Total volume = 7 mL.

Clone

34βE12.

Immunogen

Solubilized keratin extracted from human stratum corneum.

Specificity

Human cytokeratins 1, 5, 10 and 14 with molecular weights of 68, 58, 56.5 and 50 kD respectively.

Subclass

IgG1.

Total Protein Concentration

Approx 10 mg/mL.

Antibody Concentration

Greater than or equal to 0.16 mg/L as determined by ELISA.

Dilution and Mixing

Cytokeratin HMW (34βE12) primary antibody is optimally diluted for use on the BOND system. Reconstitution, mixing, dilution or titration of this reagent is not required.

Materials Required But Not Provided

Refer to "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation for a complete list of materials required for specimen treatment and immunohistochemical staining using the BOND system.

Storage and Stability

Store at 2–8 °C. Do not use after the expiration date indicated on the container label.

The signs indicating contamination and/or instability of Cytokeratin HMW (34βE12) are: turbidity of the solution, odor development, and presence of precipitate.

Return to 2–8 °C immediately after use.

Storage conditions other than those specified above must be verified by the user¹.

Precautions

- This product is intended for in vitro diagnostic use.
- The concentration of ProClin[®] 950 is 0.35%. It contains the active ingredient 2-methyl-4-isothiazolin-3-one, and may cause irritation to the skin, eyes, mucous membranes and upper respiratory tract. Wear disposable gloves when handling reagents.
- To obtain a copy of the Material Safety Data Sheet contact your local distributor or regional office of Leica Biosystems, or alternatively, visit the Leica Biosystems' Web site, www.LeicaBiosystems.com.
- Specimens, before and after fixation, and all materials exposed to them, should be handled as if capable of transmitting infection and disposed of with proper precautions². Never pipette reagents by mouth and avoid contacting the skin and mucous membranes with reagents or specimens. If reagents or specimens come in contact with sensitive areas, wash with copious amounts of water. Seek medical advice.
- Consult Federal, State or local regulations for disposal of any potentially toxic components.
- Minimize microbial contamination of reagents or an increase in non-specific staining may occur.
- Retrieval, incubation times or temperatures other than those specified may give erroneous results. Any such change must be validated by the user.

Instructions for Use

Cytokeratin HMW (34 β E12) primary antibody was developed for use on the automated BOND system in combination with BOND Polymer Refine Detection. The recommended staining protocol for Cytokeratin HMW (34 β E12) primary antibody is IHC Protocol F. Enzyme pretreatment is recommended using BOND Enzyme 1 for 5 minutes.

Technical Note

When staining prostatic tissue the use of a dual retrieval technique, such as heat induced epitope retrieval with BOND Epitope Retrieval Solution 1 for 5 minutes, followed by Enzyme pretreatment using BOND Enzyme (1 drop of Enzyme concentrate in 21 mL diluent) for 5 minutes, may improve staining of basal epithelium. However dual retrieval may over-digest, if over-digestion occurs, a more dilute enzyme solution may be required. The user should validate optimum conditions for dual retrieval on a series of normal, hyperplastic and malignant prostate cases.

Results Expected

Normal Tissues

Clone 34 β E12 detects the human cytokeratin intermediate filament proteins 1, 5, 10 and 14. It stained all layers of squamous epithelium in skin, esophagus, cervix and tonsil. In esophagus, there was staining of the seromucous glands in the submucosa. Some pneumocytes and bronchial epithelium stained in normal lung. It also reacted with some ductal cells of the normal pancreas, breast, and submandibular gland. Basal epithelial cells stained in breast, esophagus, submandibular gland and prostate. There was also staining of mesothelial cells in umbilical cord, epithelial cells and Hassall's bodies of the thymus, and very weak staining of occasional bile ducts in normal liver; hepatocytes did not stain. No staining was observed in adrenal, kidney, brain, small intestine, colon, stomach, heart, spleen, skeletal muscle, testis, uterus, ovary, thyroid parathyroid, bone marrow, peripheral nerve or pituitary (n=83).

Tumor Tissues

Clone 34 β E12 stained 30/30 squamous cell carcinomas, including those of the skin 22/22, esophagus 2/2, larynx 2/2, lung 2/2, and uterus 2/2. Staining was also observed in basal cell carcinoma of the skin 25/25, ductal carcinoma of the breast 1/2, gastric adenocarcinoma 1/2, pancreatic adenocarcinoma 1/2, metastatic carcinoma in lymph node 1/2, and cholangiocarcinoma 1/2. No reactivity was observed in a variety of other tumors including melanomas, glioblastomas, lymphomas, thyroid carcinomas, transitional carcinomas, mucinous cystadenocarcinomas, hepatocellular carcinomas, renal cell carcinomas and adenocarcinomas of the prostate, colon and rectum (n=29).

Cytokeratin HMW (34 β E12) is recommended for use as part of an antibody panel for the characterization of squamous and ductal carcinomas arising from complex epithelia and is of value in the differentiation of benign and malignant small-acinar lesions of the prostate gland.

Product Specific Limitations

Cytokeratin HMW (34 β E12) has been optimized at Leica Biosystems for use with BOND Polymer Refine Detection and BOND ancillary reagents. Users who deviate from recommended test procedures must accept responsibility for interpretation of patient results under these circumstances. The protocol times may vary, due to variation in tissue fixation and the effectiveness of antigen enhancement, and must be determined empirically. Negative reagent controls should be used when optimizing retrieval conditions and protocol times.

Troubleshooting

Refer to reference 3 for remedial action.

Contact your local distributor or the regional office of Leica Biosystems to report unusual staining.

Further Information

Further information on immunostaining with BOND reagents, under the headings Principle of the Procedure, Materials Required, Specimen Preparation, Quality Control, Assay Verification, Interpretation of Staining, Key to Symbols on Labels, and General Limitations can be found in "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation.

Bibliography

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
 2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
 3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
 4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
 5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
 6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
 7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody—A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
 8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.
- ProClin® 950 is a trademark of Supelco, a part of Sigma-Aldrich Corporation.

Date of Issue

10 September 2018

Anticorps Primaire Prêt À L'emploi BOND™ Cytokeratin HMW (34βE12)

Référence: PA0134

Utilisation prévue

Ce réactif est destiné au diagnostic in vitro.

L'anticorps monoclonal Cytokeratin HMW (34βE12) est conçu pour l'identification qualitative en microscopie optique des cytotkératines 1, 5, 10 et 14 humaines sur tissu fixé au formol, inclus en paraffine, par marquage immunohistochimique automatisé BOND (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III).

L'interprétation clinique de tout marquage ou de son absence doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et évaluée dans le contexte des antécédents cliniques du patient et des autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

Résumé et explications

Les techniques immunohistochimiques peuvent être utilisées pour la mise en évidence d'antigènes sur tissus ou cellules (voir "Utilisation des réactifs BOND" dans votre manuel d'utilisation BOND). L'anticorps primaire Cytokeratin HMW (34βE12) est prêt à l'emploi et a été spécialement optimisé pour BOND Polymer Refine Detection. La mise en évidence des cytotkératines 1, 5, 10 et 14 humaines est effectuée en hybridant Cytokeratin HMW (34βE12) sur la coupe, puis en visualisant le complexe avec les réactifs du système de détection. L'utilisation de ces produits, en association avec l'automate BOND, réduit les possibilités d'erreurs humaines et de variations lors des dilutions, du pipetage manuel et de l'application des réactifs.

Réactifs fournis

Cytokeratin HMW (34βE12) est un anticorps monoclonal anti-humain de souris, produit par surnageant de culture de tissu et conditionné dans du tampon salin Tris avec une protéine de transport, contenant 0,35% de ProClin™ 950 comme conservateur.

Volume total = 7 ml.

Clone

34βE12.

Immunogène

Kératine solubilisée extraite de couche cornée humaine.

Spécificité

Cytokératines humaines 1, 5, 10 et 14 de poids moléculaire de 68, 58, 56,5 et 50 kD respectivement.

Sous-classe

IgG1.

Concentration totale en protéine

Environ 10 mg/ml

Concentration en anticorps

Supérieure ou égale à 0,16 mg/L, déterminée par ELISA.

Dilution et mélange

L'anticorps primaire Cytokeratin HMW (34βE12) est à dilution optimale pour utilisation dans BOND. Reconstitution, mélange, dilution ou titration de ce réactif non nécessaire.

Matériel nécessaire mais non fourni

Voir "Utilisation des réactifs BOND" dans votre manuel d'utilisation pour obtenir la liste complète du matériel nécessaire au traitement des échantillons et au marquage immunohistochimique avec BOND.

Conservation et stabilité

Conserver à une température comprise entre 2–8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du récipient.

Les signes indicateurs d'une contamination et/ou d'une instabilité de Cytokeratin HMW (34βE12) sont les suivants : une turbidité de la solution, la formation d'odeurs et la présence d'un précipité.

Remettre à 2–8 °C immédiatement après usage.

Des conditions de stockage différentes de celles ci-dessus doivent être contrôlées par l'utilisateur¹.

Précautions

- Ce produit est conçu pour le diagnostic in vitro.
- La concentration en ProClin[®] 950 est de 0,35%. Contient du 2-méthyl-4-isothiazoline-3-one et peut entraîner des irritations de la peau, des yeux, des muqueuses et des voies aériennes supérieures. Porter des gants jetables lors de la manipulation des réactifs.
- Pour obtenir une copie de la fiche de données de sécurité, contactez votre distributeur local ou le bureau régional de Leica Biosystems, ou allez sur le site Web de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com.
- Les échantillons, avant et après fixation, et tous les matériels ayant été en contact avec eux, devraient être manipulés comme s'ils étaient à risque infectieux et éliminés avec les précautions adéquates[®]. Ne jamais pipeter les réactifs à la bouche et éviter le contact de la peau et des muqueuses avec les réactifs ou les échantillons. Si des réactifs ou des échantillons entrent en contact avec des zones sensibles, rincer abondamment à l'eau. Consultez un médecin.
- Renseignez-vous sur les règlements fédéraux, nationaux et locaux pour l'élimination des composés potentiellement toxiques.
- Éviter une contamination microbienne des réactifs qui peut entraîner un marquage non spécifique.
- Des durées ou températures de démasquage ou d'incubation autres que celles spécifiées peuvent entraîner des résultats erronés. Tout changement doit être validé par l'utilisateur.

Mode d'emploi

L'anticorps primaire Cytokeratin HMW (34βE12) a été conçu pour être utilisé sur l'automate BOND conjointement avec BOND Polymer Refine Detection. Le protocole de marquage recommandé pour l'anticorps primaire Cytokeratin HMW (34βE12) est IHC Protocol F. Un prétraitement enzymatique est recommandé à l'aide de BOND Enzyme 1 durant 5 minutes.

Remarque technique

Pour le marquage de tissus prostatiques, l'utilisation d'une technique de démasquage double, par exemple le démasquage d'épitope par la chaleur à l'aide de BOND Epitope Retrieval Solution 1 durant 5 minutes, suivi d'un prétraitement enzymatique par BOND Enzyme (1 goutte de concentré d'enzyme dans 21 mL de diluant) pendant 5 minutes, peut améliorer le marquage de l'épithélium basal. Mais le démasquage double peut causer une surdigestion, dans ce cas, il peut être nécessaire d'utiliser une solution d'enzyme plus diluée. L'utilisateur doit valider les conditions optimales de démasquage double sur une série de cas de prostate saine, hyperplasique et maligne.

Résultats attendus

Tissus sains

Le clone 34βE12 détecte les filaments intermédiaires de cytot kératine humaine 1, 5, 10 et 14. Il a marqué toutes les couches d'épithélium squameux de peau, d'œsophage, de col de l'utérus et d'amygdale. Dans l'œsophage, un marquage des glandes séro-muqueuses de la sous-muqueuse a été observé. Certains pneumocytes et de l'épithélium bronchial ont été marqués dans du poumon sain. Il a aussi réagit avec certaines cellules normales de pancréas, de sein et de glande sous-maxillaire. Des cellules épithéliales basales ont été marquées dans le sein, l'œsophage, la glande sous-maxillaire et la prostate. Un marquage est aussi apparu sur des cellules du mésothélium du cordon ombilical, des cellules épithéliales et des corps de Hassall du thymus, et un marquage très faible de certains canaux biliaires dans le foie normal ; les hépatocytes n'ont pas été marqués. Aucun marquage n'a été observé dans les surrénales, le rein, le cerveau, l'intestin grêle, le côlon, l'estomac, le cœur, la rate, les muscles squelettiques, les testicules, l'utérus, les ovaires, la thyroïde et parathyroïde, la moëlle osseuse, les nerfs périphériques et l'hypophyse (n=83).

Tissus tumoraux

Le clone 34βE12 a marqué 30/30 carcinomes de cellules squameuses dont peau 22/22, œsophage 2/2, larynx 2/2, poumon 2/2 et utérus 2/2. Un marquage a aussi été observé sur des carcinomes à cellules basales de la peau 25/25, sur un carcinome des canaux galactophores 1/2, sur un adénocarcinome gastrique 1/2, un adénocarcinome pancréatique 1/2, un carcinome métastatique dans un nœud lymphatique 1/2 et un cholangiocarcinome 1/2. Aucune réactivité n'a été observée dans diverses autres tumeurs notamment mélanomes, glioblastomes, lymphomes, carcinomes thyroïdiens, carcinomes transitoires, cystadénocarcinomes mucineux, carcinomes hépatocellulaires, carcinomes de cellules rénales et adénocarcinomes de la prostate, du côlon et du rectum (n=29).

Cytokeratin HMW (34βE12) est recommandé dans le cadre d'un panel d'anticorps pour la caractérisation des carcinomes squameux et de conduit provenant d'épithéliums complexes et présente un intérêt dans la différenciation de lésions bénignes et malignes à petits acinis de la prostate.

Limites spécifiques du produit

Le Cytokeratin HMW (34βE12) a été optimisé par Leica Biosystems pour être utilisé avec BOND Polymer Refine Detection et les réactifs accessoires BOND. Les utilisateurs qui ne respectent pas les procédures recommandées prennent la responsabilité de l'interprétation des résultats des patients dans ces conditions. Les durées du protocole peuvent varier, en raison des variations de fixation des tissus et de l'efficacité de la facilitation de l'antigène, et doivent être déterminées empiriquement. Des contrôles réactif négatifs devraient être testés lors de l'optimisation des conditions de démasquage et des durées du protocole.

Identification des problèmes

Voir la référence 3 pour connaître les mesures correctives.

Prenez contact avec votre distributeur local ou avec le bureau régional de Leica Biosystems pour signaler tout marquage inattendu.

Informations complémentaires

Des informations complémentaires sur l'immunomarquage avec les réactifs BOND, les principes de la méthode, le matériel nécessaire, la préparation des échantillons, le contrôle qualité, les vérifications d'analyse, l'interprétation du marquage, les légendes et symboles sur les étiquettes et les limites générales, peuvent être obtenues dans "Utilisation des réactifs BOND" dans votre manuel d'utilisation BOND.

Bibliographie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.

2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody-A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.

ProClin- 950 est une marque commerciale de Supelco, membre du groupe Sigma-Aldrich Corporation.

Date de publication

11 septembre 2018

Anticorpo Primario Pronto All'uso BOND™

Cytokeratin HMW (34βE12)

N. catalogo: PA0134

Uso previsto

Reagente per uso diagnostico in vitro.

L'anticorpo monoclonale Cytokeratin HMW (34βE12) è previsto per l'identificazione qualitativa con microscopio ottico delle citocheratine umane 1, 5, 10 e 14 in tessuto fissato in formalina, incluso in paraffina, con colorazione immunocitochimica, utilizzando il sistema automatizzato BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III).

L'interpretazione clinica di un'eventuale colorazione, o della sua assenza, deve avvalersi di studi morfologici e di opportuni controlli ed essere effettuata da patologi qualificati, in contesto dell'anamnesi clinica del paziente e di altri test diagnostici.

Sommario e spiegazione

Grazie alle tecniche di immunocitochimica è possibile dimostrare la presenza di antigeni nel tessuto e nelle cellule (vedere "Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente BOND). L'anticorpo primario Cytokeratin HMW (34βE12) è un prodotto pronto per l'uso che è stato ottimizzato in modo specifico per l'impiego con il BOND Polymer Refine Detection. La dimostrazione delle citocheratine umane 1, 5, 10 e 14 si ottiene in primo luogo consentendo il legame del Cytokeratin HMW (34βE12) con la sezione, e quindi visualizzando il legame stesso per mezzo dei reagenti forniti nel sistema di rilevazione. L'impiego di questi prodotti, insieme al sistema automatizzato BOND, riduce la possibilità di un errore umano e la relativa variabilità che deriva dalla diluizione individuale del reagente e dal pipettamento e dall'applicazione del reagente eseguiti manualmente.

Reagenti forniti

Il Cytokeratin HMW (34βE12) è un anticorpo monoclonale murino anti-umano prodotto come surnatante di coltura tissutale e fornito in soluzione salina tamponata Tris con proteina carrier, contenente 0,35% di ProClin® 950 come conservante.

Volume totale = 7 ml.

Clone

34βE12.

Immunogeno

Cheratina solubilizzata estratta dallo strato corneo umano.

Specificità

Citocheratine umane 1, 5, 10 e 14 con pesi molecolari rispettivamente di 68, 58, 56,5 e 50 kD.

Sottoclasse

IgG1.

Concentrazione proteica totale

Circa 10 mg/ml.

Concentrazione dell'anticorpo

Uguale o superiore a 0,16 mg/L, determinata mediante ELISA.

Diluizione e miscelazione

La diluizione dell'anticorpo primario Cytokeratin HMW (34βE12) è stata ottimizzata per l'uso con il sistema BOND. Non è necessario ricostituire, miscelare, diluire o titolare il reagente.

Materiale necessario non fornito

Per un elenco completo del materiale necessario per il trattamento del campione e la colorazione immunocitochimica con il sistema BOND, consultare l' "Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente BOND.

Conservazione e stabilità

Conservare a 2–8 °C. Non utilizzare dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta del contenitore.

I segni di contaminazione e/o instabilità del Cytokeratin HMW (34βE12) sono: torbidità della soluzione, formazione di odori e presenza di un precipitato.

Dopo l'uso riportare immediatamente a 2–8 °C.

L'utente deve verificare eventuali condizioni di conservazione diverse da quelle specificate¹.

Precauzioni

- Il prodotto è destinato all'uso diagnostico in vitro.
- La concentrazione di ProClin® 950 è 0,35%. Esso contiene il principio attivo 2-metil-4-isotiazolin-3-one e può causare irritazione alla cute, agli occhi, alle membrane mucose e alle alte vie respiratorie. Per la manipolazione dei reagenti usare guanti monouso.
- Una copia della Scheda di sicurezza può essere richiesta al distributore locale o all'ufficio di zona di Leica Biosystems o, in alternativa, visitando il sito di Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com.
- I campioni, prima e dopo la fissazione, e tutti i materiali esposti ad essi devono essere manipolati come potenziali vettori di infezione e smaltiti con le opportune precauzioni². Non pipettare mai i reagenti con la bocca ed evitare il contatto dei reagenti e dei campioni con la pelle e le mucose. Se un reagente o un campione viene a contatto con superfici sensibili, lavare abbondantemente con acqua. Consultare un medico.
- Consultare la normativa nazionale, regionale o locale vigente per lo smaltimento dei componenti potenzialmente tossici.
- Ridurre al minimo la contaminazione microbica dei reagenti per evitare il rischio di una colorazione non specifica.
- Tempi o temperature di incubazione o di riconoscimento diversi da quelli specificati possono fornire risultati erranei. Ogni eventuale modifica deve essere validata dall'utente.

Istruzioni per l'uso

L'anticorpo primario Cytokeratin HMW (34βE12) è stato sviluppato per essere utilizzato con il sistema automatizzato BOND in associazione con il BOND Polymer Refine Detection. Il protocollo di colorazione consigliato per l'anticorpo primario Cytokeratin HMW (34βE12) è l'IHC Protocol F. Si consiglia il pretrattamento enzimatico con il BOND Enzyme 1 per 5 minuti.

Nota tecnica

Nella colorazione del tessuto prostatico l'utilizzo di una duplice tecnica di riconoscimento, come lo smascheramento termoindotto degli epitopi con la BOND Epitope Retrieval Solution 1 per 5 minuti, seguito dal pretrattamento enzimatico con il BOND Enzyme (1 goccia di enzima concentrato in 21 ml di diluente) per 5 minuti, può migliorare la colorazione dell'epitelio basale. Tuttavia nel caso in cui con il duplice riconoscimento si verificasse una digestione eccessiva, potrebbe essere necessaria una soluzione enzimatica più diluita. L'utente deve convalidare le condizioni ottimali per il duplice riconoscimento su una serie di casi di prostata normale, iperplastica e neoplastica.

Risultati attesi

Tessuti normali

Il clone 34βE12 rileva le proteine del filamento intermedio citocheratine umane 1, 5, 10 e 14. Il clone ha colorato tutti gli strati dell'epitelio squamoso nella cute, nell'esofago, nella cervice uterina e nella tonsilla. Nell'esofago si sono colorate le ghiandole sieromucose della sottomucosa e nel polmone normale alcuni pneumociti e l'epitelio bronchiale. Anche alcune cellule duttali del pancreas, della mammella e della ghiandola sottomandibolare normale hanno reagito con il clone e cellule dell'epitelio basale si sono colorate nella mammella, nell'esofago, nella ghiandola sottomandibolare e nella prostata. È stata osservata anche una colorazione delle cellule mesoteliali nel cordone ombelicale, delle cellule epiteliali e dei corpuscoli di Hassal nel timo e una debolissima colorazione di qualche dotto biliare nel fegato normale; gli epatociti non si sono colorati. Nessuna colorazione è stata osservata nel surrene, nel rene, nel cervello, nell'intestino tenue, nel colon, nello stomaco, nel cuore, nella milza, nel muscolo scheletrico, nel testicolo, nell'utero, nell'ovaio, nella tiroide, nella paratiroide, nel midollo osseo, nel nervo periferico o nell'ipofisi (n=83).

Tessuti tumorali

Il clone 34βE12 ha colorato 30/30 carcinomi a cellule squamose, tra i quali quelli cutanei (22/22), dell'esofago (2/2), della laringe (2/2), del polmone (2/2) e dell'utero (2/2). La colorazione è stata osservata anche nel carcinoma basocellulare della cute (25/25), nel carcinoma duttale della mammella (1/2), nell'adenocarcinoma gastrico (1/2), nell'adenocarcinoma pancreatico (1/2), nel carcinoma metastatico linfonodale (1/2) e nel colangiocarcinoma (1/2). Non è stata osservata alcuna reattività in una serie di altri tumori quali melanomi, glioblastomi, linfomi, carcinomi della tiroide, carcinomi transizionali, cistoadenocarcinomi mucinosi, carcinomi epatocellulari, carcinomi renali e adenocarcinomi della prostata, del colon e del retto (n=29).

Si raccomanda l'uso del Cytokeratin HMW (34βE12) come parte di un gruppo di anticorpi per la caratterizzazione dei carcinomi squamosi e duttali che originano dagli epiteli complessi; l'anticorpo è utile nella differenziazione delle piccole lesioni acinose benigne e maligne della ghiandola prostatica.

Limitazioni specifiche del prodotto

Il Cytokeratin HMW (34βE12) è stato ottimizzato da Leica Biosystems per l'uso con il BOND Polymer Refine Detection e con i reagenti ausiliari BOND. Gli utenti che modificano le procedure raccomandate devono assumersi la responsabilità dell'interpretazione dei risultati relativi ai pazienti in tali circostanze. I tempi del protocollo possono variare in base alle variazioni nella fissazione del tessuto e nell'efficienza del potenziamento dell'antigene e devono essere definiti in modo empirico. Nell'ottimizzazione delle condizioni di riconoscimento e dei tempi del protocollo si devono impiegare dei controlli negativi del reagente.

Soluzione problemi

Per le azioni di rimedio consultare il riferimento bibliografico n. 3.

Per riferire una colorazione inusuale rivolgersi al distributore locale o all'ufficio di zona di Leica Biosystems.

Ulteriori informazioni

Ulteriori informazioni sull'immunocolorazione con i reagenti BOND si trovano in "Usi dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente BOND, ai titoli Principio della procedura, Materiali necessari, Preparazione del campione, Controllo di qualità, Verifica del saggio, Interpretazione della colorazione, Leggenda dei simboli e delle etichette e Limitazioni generali.

Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody-A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.

ProClin® 950 è un marchio di fabbrica di Supelco, società del gruppo Sigma-Aldrich.

Data di pubblicazione

11 settembre 2018

Gebrauchsfertiger BOND™ -Primärantikörper Cytokeratin HMW (34βE12)

Bestellnr.: PA0134

Verwendungszweck

Dieses Produkt ist für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.

Der monoklonale Antikörper Cytokeratin HMW (34βE12) ist für den qualitativen lichtmikroskopischen Nachweis der humanen Cytokeratine 1, 5, 10 und 14 in formalinfixiertem, in Paraffin eingebettetem Gewebe durch immunhistochemische Färbung mit dem automatischen BOND System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) vorgesehen. Die klinische Auswertung der An- oder Abwesenheit einer Färbung sollte durch morphologische Untersuchungen und geeignete Kontrollen ergänzt werden und sollte im Zusammenhang mit der Krankengeschichte des Patienten und anderen diagnostischen Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

Zusammenfassung und Erläuterung

Immunhistochemische Methoden können dazu verwendet werden, die Anwesenheit von Antigenen in Geweben und Zellen zu demonstrieren (sehen Sie dazu "Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien" in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch). Der Primärantikörper Cytokeratin HMW (34βE12) ist ein gebrauchsfertiges Produkt, das speziell für den Gebrauch mit dem BOND Polymer Refine Detection optimiert wurde. Der Nachweis der humanen Cytokeratine 1, 5, 10 und 14 erfolgt durch die Bindung von Cytokeratin HMW (34βE12) an das Präparat und die anschließende Sichtbarmachung dieser Bindung mit den Reagenzien, die im Detektionssystem bereitgestellt werden. Die Verwendung dieser Produkte zusammen mit dem automatischen BOND-System reduziert die Wahrscheinlichkeit menschlicher Fehler und die natürlichen Schwankungen, die beim individuellen Verdünnen von Reagenzien, dem manuellen Pipettieren und dem Auftragen der Reagenzien entstehen.

Mitgelieferte Reagenzien

Cytokeratin HMW (34βE12) ist ein monoklonaler Maus-Anti-Human-Antikörper, der aus Zellkulturüberstand hergestellt wurde, in Tris-pufferter Salzlösung mit einem Trägerprotein geliefert wird und 0,35% ProClin® 950 als Konservierungsmittel enthält.

Gesamtvolumen = 7 ml.

Klon

34βE12.

Immunogen

Lösliches Keratin, das aus humanem Stratum corneum gewonnen wurde.

Spezifität

Humane Cytokeratine 1, 5, 10 und 14 mit einer Molekülmasse von 68, 58, 56,5 bzw. 50 kD.

Subklasse

IgG1.

Gesamtproteinkonzentration

Ca. 10 mg/ml.

Antikörperkonzentration

Größer als oder gleich 0,16 mg/L, bestimmt mit ELISA.

Verdünnung und Mischung

Der Primärantikörper Cytokeratin HMW (34βE12) ist optimal für den Gebrauch mit dem BOND-System verdünnt. Rekonstitution, Mischen, Verdünnen oder Titrieren dieses Reagenzes ist nicht erforderlich.

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Eine vollständige Liste der Materialien, die für die Probenbehandlung und die immunhistochemische Färbung mit dem BOND-System benötigt werden, befindet sich im Abschnitt "Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien" in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch.

Lagerung und Stabilität

Bei 2–8 °C lagern. Nach dem Ablauf des auf dem Behälteretikett angegebenen Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

Zeichen, die auf eine Kontamination und/oder Instabilität von Cytokeratin HMW (34βE12) hinweisen, sind eine Trübung der Lösung, Geruchsentwicklung und das Vorhandensein von Präzipitat.

Unmittelbar nach Gebrauch wieder bei 2–8 °C aufbewahren.

Andere als die oben angegebenen Lagerungsbedingungen müssen vom Anwender selbst getestet werden¹.

Vorsichtsmaßnahmen

- Dieses Produkt ist für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
- Die Konzentration von ProClin[®] 950 beträgt 0,35%. Es enthält 2-Methyl-4-isothiazolin-3-on als aktiven Bestandteil und kann Reizungen der Haut, Augen, Schleimhäute und oberen Atemwege verursachen. Tragen Sie beim Umgang mit Reagenzien Einweghandschuhe.
- Ein Exemplar des Sicherheitsdatenblattes erhalten Sie von Ihrer örtlichen Vertriebsfirma, von der Regionalniederlassung von Leica Biosystems oder über die Webseite von Leica Biosystems unter www.LeicaBiosystems.com.
- Behandeln Sie Präparate vor und nach der Fixierung sowie sämtliche damit in Berührung kommenden Materialien so, als ob diese Infektionen übertragen können und entsorgen Sie sie unter Beachtung der entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen². Pipettieren Sie Reagenzien niemals mit dem Mund und vermeiden Sie den Kontakt von Haut und Schleimhäuten mit Reagenzien oder Präparaten. Falls Reagenzien oder Präparate mit empfindlichen Bereichen in Kontakt gekommen sind, spülen Sie diese mit reichlich Wasser. Holen Sie anschließend ärztlichen Rat ein.
- Beachten Sie bei der Entsorgung potentiell toxischer Bestandteile die behördlichen und örtlichen Vorschriften.
- Mikrobielle Kontaminationen sollten minimiert werden, da es sonst zu einer Zunahme unspezifischer Färbungen kommen kann.
- Die Verwendung anderer als den angegebenen Retrievals, Inkubationszeiten oder Temperaturen kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Diesbezügliche Änderungen müssen vom Anwender selbst getestet werden.

Gebrauchsanleitung

Der Primärantikörper Cytokeratin HMW (34βE12) wurde für die Verwendung mit dem automatischen BOND-System in Verbindung mit dem BOND Polymer Refine Detection entwickelt. Das empfohlene Färbeverfahren für den Primärantikörper Cytokeratin HMW (34βE12) ist das IHC Protocol F. Es wird eine enzymatische Vorbehandlung mit BOND Enzyme 1 für 5 Minuten empfohlen.

Technischer Hinweis

Bei der Färbung von Prostatagewebe kann die Färbung des Basalepithels durch Verwendung einer dualen Retrieval-Methode verbessert werden, z.B. durch ein hitzeinduziertes Epitop-Retrieval mit der BOND Epitope Retrieval Solution 1 für 5 Minuten, gefolgt von einer Enzymvorbehandlung mit BOND Enzyme 1 (1 Tropfen des Enzyme-Konzentrates in 21 ml Verdünnungsmittel) für 5 Minuten. Das duale Retrieval kann zu einer übermäßigen Verdauung führen. Wenn dies der Fall ist, wird unter Umständen eine stärker verdünnte Enzymlösung benötigt. Der Anwender sollte die optimalen Bedingungen für das duale Retrieval an einer Reihe normaler, hyperplastischer und maligner Prostata-Fälle überprüfen.

Erwartete Ergebnisse

Normale Gewebe

Klon 34βE12 erkennt die intermediären Filamentproteine der humanen Cytokeratine 1, 5, 10 und 14. Er färbte sämtliche Schichten in Plattenepithelien der Haut, des Ösophagus, der Cervix und der Tonsillen. In der Speiseröhre wurden die seromukösen Drüsen in der Submukosa gefärbt. In der normalen Lunge wurden einige Pneumozyten und das Bronchialepithel gefärbt. Der Klon reagierte auch mit einigen Gangzellen in normalen Geweben des Pankreas, der Mamma und der Unterkieferspeicheldrüse. In der Mamma, der Speiseröhre, der Unterkieferspeicheldrüse und der Prostata wurden Zellen des Basalepithels gefärbt. Es wurde ebenfalls eine Färbung von Mesothelzellen in der Nabelschnur, Epithelzellen und Hassall-Körperchen im Thymus und eine sehr schwache gelegentliche Färbung von Gallengängen in der normalen Leber beobachtet; Hepatozyten wurden nicht gefärbt. In der Nebenniere, Niere, dem Gehirn, Dünndarm, Kolon, Magen, Herz, der Milz, Skelettmuskulatur, dem Hoden, Uterus, Ovar, der Schilddrüse und der Nebenschilddrüse, dem Knochenmark, peripheren Nerven oder der Hypophyse wurde keine Färbung beobachtet (n=83).

Tumorgewebe

Klon 34βE12 färbte 30/30 Plattenepithelkarzinomen, darunter 22/22 Plattenepithelkarzinomen der Haut, 2/2 der Speiseröhre, 2/2 des Kehlkopfes, 2/2 der Lunge und 2/2 des Uterus. Des Weiteren wurde bei 25/25 Basalzellkarzinomen der Haut, 1/2 Milchgangkarzinomen, 1/2 Adenokarzinomen des Magens, 1/2 Adenokarzinomen des Pankreas, 1/2 metastasierenden Karzinomen in Lymphknoten und 1/2 Cholangiokarzinomen eine Färbung beobachtet. Bei verschiedenen anderen Tumoren, darunter Melanome, Glioblastome, Lymphome, Schilddrüsenkarzinome, Übergangszellkarzinome, muzinöse Zystadenokarzinome, hepatozelluläre Karzinome, Nierenzellkarzinome und Adenokarzinome der Prostata, des Kolons und des Rektums wurde keine Reaktivität beobachtet (n=29).

Cytokeratin HMW (34βE12) wird zur Verwendung als Teil einer Reihe von Antikörpern zur Charakterisierung von Plattenepithel- und Gangkarzinomen empfohlen, die aus komplexen Epithelien hervorgehen, und hilft bei der Differenzierung von gut- und bösartigen mikroglandulären Prostataläsionen.

Produktspezifische Einschränkungen

Cytokeratin HMW (34βE12) wurde von Leica Biosystems zur Verwendung mit dem BOND Polymer Refine Detection und BOND-Zusatzreagenzien optimiert. Anwender, die andere als die empfohlenen Testverfahren verwenden, müssen unter diesen Umständen die Verantwortung für die Auswertung der Patientenergebnisse übernehmen. Die Verfahrenszeiten können aufgrund von Unterschieden in der Gewebefixierung und der Wirksamkeit der Antigenverstärkung variieren und müssen empirisch bestimmt werden. Bei der Optimierung der Retrieval-Bedingungen und Verfahrenszeiten sollten negative Reagenzkontrollen eingesetzt werden.

Fehlersuche

Maßnahmen zur Abhilfe beim Auftreten von Fehlern finden Sie in Referenz 3.

Falls Sie ungewöhnliche Färbegergebnisse beobachten, wenden Sie sich an Ihre örtliche Vertriebsfirma oder an die Regionalniederlassung von Leica Biosystems.

Weitere Informationen

Weitere Informationen zur Immunfärbung mit BOND-Reagenzien finden Sie in den Abschnitten Grundlegende Vorgehensweise, Erforderliches Material, Probenvorbereitung, Qualitätskontrolle, Assay-Verifizierung, Deutung der Färbung, Schlüssel der Symbole auf den Etiketten und Allgemeine Einschränkungen in "Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien" in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch.

Bibliografie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
 2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
 3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
 4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
 5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
 6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
 7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody-A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
 8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.
- ProClin® 950 ist eine Marke von Supelco, einem Unternehmen der Sigma-Aldrich Corporation.

Ausgabedatum

11 September 2018

Anticuerpo Primario Listo Para Usar BOND™

Cytokeratin HMW (34βE12)

Catálogo N.º.: PA0134

Indicaciones de uso

Este reactivo es para uso diagnóstico in vitro.

El anticuerpo monoclonal Cytokeratin HMW (34βE12) está destinado a utilizarse para la identificación cualitativa por microscopía óptica de las citoqueratinas humanas 1, 5, 10 y 14 en tejidos fijados en formalina e incluidos en parafina mediante tinción inmunohistoquímica usando el sistema automatizado BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III).

La interpretación clínica de cualquier tinción o de la ausencia de ésta debe complementarse con estudios morfológicos y controles adecuados, y debe evaluarla un patólogo cualificado junto con el historial clínico del paciente y con otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación

Las técnicas inmunohistoquímicas pueden ser utilizadas para detectar la presencia de antígenos en tejidos y células (véase "Utilización de reactivos BOND" en la documentación de usuario suministrada por BOND). El anticuerpo primario Cytokeratin HMW (34βE12) es un producto listo para usar que se ha optimizado específicamente para su uso con BOND Polymer Refine Detection. La demostración de las citoqueratinas humanas 1, 5, 10 y 14 se consigue, en primer lugar, permitiendo la unión de Cytokeratin HMW (34βE12) a la sección y, a continuación, visualizando esta unión con los reactivos que proporciona el sistema de detección. El uso de estos productos, en combinación con el sistema automatizado BOND, reduce la posibilidad de errores humanos y la variabilidad inherente resultante de la dilución de cada reactivo, el pipeteo manual y la aplicación del reactivo.

Reactivos proporcionados

Cytokeratin HMW (34βE12) es un anticuerpo monoclonal antihumano de ratón que se produce como sobrenadante en cultivos de tejido, y se suministra en solución salina tamponada de Tris con proteína portadora, que contiene el 0,35% de ProClin® 950 como conservante. Volumen total = 7 mL.

Clon

34βE12.

Inmunógeno

Queratina solubilizada extraída de estrato córneo humano.

Especificidad

Citoqueratinas humanas 1, 5, 10 y 14 con pesos moleculares de 68, 58, 56,5 y 50 kD, respectivamente.

Subclase

IgG1.

Concentración total de proteína

Aprox. 10 mg/mL.

Concentración de anticuerpos

Mayor o igual que 0,16 mg/L según lo determinado mediante ELISA.

Dilución y mezcla

En anticuerpo primario Cytokeratin HMW (34βE12) se presenta en dilución óptima para su uso en el sistema BOND. No es necesaria la reconstitución, mezcla, dilución o titulación de este reactivo.

Material necesario pero no suministrado

Consulte, en el apartado "Uso de reactivos BOND" de la documentación de usuario de BOND, la lista completa del material necesario para el tratamiento de las muestras y la tinción inmunohistoquímica cuando se utiliza el sistema BOND.

Conservación y estabilidad

Debe conservarse a 2–8 °C. No se debe utilizar después de la fecha de caducidad que aparece en la etiqueta del recipiente.

Los signos que indican la contaminación y/o inestabilidad de Cytokeratin HMW (34βE12) son: turbidez de la solución, aparición de olor y presencia de precipitado.

Volver a guardar a 2–8 °C inmediatamente después de su uso.

Si las condiciones de conservación son diferentes de las especificadas, el usuario debe realizar las comprobaciones necesarias¹.

Precauciones

- Este producto es para uso diagnóstico in vitro.
- La concentración de ProClin[®] 950 es 0,35%. Contiene el principio activo 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, que puede producir irritación en la piel, ojos, mucosas y tracto respiratorio superior. Lleve siempre guantes desechables cuando manipule los reactivos.
- Si desea obtener un ejemplar de la Hoja de datos de seguridad de las sustancias, póngase en contacto con su distribuidor o con la oficina regional de Leica Biosystems, o visite la página Web de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com.
- Las muestras, antes y después de ser fijadas, y cualquier material en contacto con ellas, deben ser tratadas como sustancias capaces de transmitir infecciones y deben ser eliminadas con las precauciones correspondientes². No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y las mucosas con reactivos o muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas sensibles, lávelas enseguida con abundante agua. Consulte a un médico.
- Consulte la normativa federal, nacional o local referente a la eliminación de sustancias potencialmente tóxicas.
- Minimice la contaminación microbiana de los reactivos, ya que puede producir un aumento de las tinciones inespecíficas.
- Los tiempos de exposición e incubación, y las temperaturas diferentes de las especificadas pueden dar resultados erróneos. Cualquier cambio que se produzca deberá ser validado por el usuario.

Instrucciones de uso

El anticuerpo primario Cytokeratin HMW (34βE12) se ha desarrollado para su uso en el sistema automatizado BOND en combinación con BOND Polymer Refine Detection. El protocolo de tinción recomendado para Cytokeratin HMW (34βE12) es IHC Protocol F. Se recomienda el tratamiento previo con enzimas usando BOND Enzyme 1 durante 5 minutos.

Nota técnica

Quando se tiña tejido prostático, el uso de una técnica de recuperación doble, tal como la recuperación de epítomos inducida por calor con BOND Epitope Retrieval Solution 1 durante 5 minutos, seguida por el tratamiento previo con enzimas usando BOND Enzyme (1 gota de concentrado de enzimas en 21 mL de diluyente) durante 5 minutos, puede mejorar la tinción del epitelio basal. No obstante, la recuperación sobre puede sobredigerir; si se produce sobredigestión, puede que se necesite una solución de enzimas más diluida. El usuario debe validar las condiciones óptimas para la recuperación doble en una serie de casos de próstata normales, hiperplásicos y malignos.

Resultados esperados

Tejidos normales

El clon 34βE12 detecta las proteínas 1, 5 10 y 14 del filamento intermedio de la citoqueratina humana. Tiñó todas las capas del epitelio escamoso en piel, esófago, cérvix y amígdala. En esófago, hubo tinción de las glándulas seromucosas de la submucosa. Se observó alguna tinción de neumocitos y epitelio bronquial en pulmón normal. También reaccionó con algunas células de conductos de páncreas, mama y glándula submaxilar normales. Se tiñeron células epiteliales de mama, esófago, glándula submaxilar y próstata. También se observó tinción de células mesoteliales de cordón umbilical, células epiteliales y cuerpos de Hassall del timo, y tinción muy débil ocasional de conductos biliares de hígado normal; los hepatocitos no se tiñeron. No se observó tinción en glándula adrenal, riñón, encéfalo, intestino delgado, colon, estómago, corazón, bazo, músculo esquelético, testículos, ovario, tiroides, paratiroides, médula ósea, nervio periférico ni pituitaria (n=83).

Tejidos tumorales

El clon 34βE12 tiñó 30/30 carcinomas de células escamosas, incluidos los de piel 22/22, esófago 2/2, laringe 2/2, pulmón 2/2 y útero 2/2. También se observó tinción en carcinoma de células basales de la piel en 25/25, carcinoma y conductos de mama 1/2, adenocarcinoma gástrico 1/2, adenocarcinoma pancreático 1/2, carcinoma metastásico en nudo linfático 1/2 y colangiocarcinoma 1/2. No se observó reactividad en otros diversos tumores entre los que se incluyen melanomas, glioblastomas, linfomas, carcinomas de tiroides, carcinomas de transición, cistadenocarcinomas mucosos, carcinomas hepatocelulares, carcinomas de células renales y adenocarcinomas de próstata, colon y recto (n=29).

Cytokeratin HMW (34βE12) se recomienda para su uso como parte de un panel de anticuerpos para la caracterización de carcinomas escamosos y de conductos con origen en epitelios complejos, y es útil para la diferenciación de lesiones de células acinosas pequeñas benignas y malignas de la glándula prostática.

Limitaciones específicas del producto

Cytokeratin HMW (34βE12) se ha optimizado en Leica Biosystems para su uso con BOND Polymer Refine Detection y reactivos auxiliares BOND. Los usuarios que se aparten de los procedimientos de análisis recomendados deben asumir la responsabilidad de interpretar los resultados del paciente tomando en cuenta estas circunstancias. Los tiempos del protocolo pueden diferir debido a las variaciones en la fijación de los tejidos y en la eficacia de la preservación del antígeno, y deben determinarse empíricamente. Se debe utilizar controles negativos con reactivos a la hora de optimizar las condiciones de detección y los tiempos de protocolo.

Resolución de problemas

Consulte la referencia 3 para ver las acciones correctoras.

Contacte con su distribuidor local o con la oficina regional de Leica Biosystems para informar de cualquier tinción anómala.

Para obtener más información

Para obtener más información sobre inmunotinciones con reactivos BOND, consulte los apartados Principio del procedimiento, Material necesario, Preparación de las muestras, Control de calidad, Verificación del análisis, Interpretación de la tinción, Clave de símbolos en las etiquetas y Limitaciones generales de la sección "Utilización de reactivos BOND" de la documentación de usuario suministrada por BOND.

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
 2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
 3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
 4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
 5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
 6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
 7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody-A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
 8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.
- ProClin® 950 es una marca registrada de Supelco, parte de Sigma-Aldrich Corporation.

Fecha de publicación

11 de septiembre de 2018

Anticorpo Primário Pronto A Usar BOND™

Cytokeratin HMW (34βE12)

Nº de catálogo: PA0134

Utilização a que se destina

Este reagente destina-se a utilização diagnóstica in vitro.

O anticorpo monoclonal Cytokeratin HMW (34βE12) destina-se a ser utilizado na identificação qualitativa por microscopia óptica das citoqueratinas 1, 5, 10 e 14 humanas em tecidos fixos com formalina e incluídos em parafina por coloração imunohistoquímica utilizando o sistema BOND automatizado (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III).

A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos utilizando controlos adequados, e deve ser avaliada no contexto da história clínica do doente e de outros testes complementares de diagnóstico por um anátomo-patologista qualificado.

Resumo e Explicação

As técnicas de imunohistoquímica podem ser usadas para demonstrar a presença de antígenos em tecidos e células (ver "Usar os Reagentes BOND" na sua documentação do utilizador BOND). O anticorpo primário Cytokeratin HMW (34βE12) consiste num produto pronto usar que foi especificamente otimizado para utilização com BOND Polymer Refine Detection. A demonstração das citoqueratinas 1, 5, 10 e 14 humanas é obtida por, primeiro, permitindo a ligação de Cytokeratin HMW (34βE12) à secção e visualizando-a posteriormente utilizando os reagentes fornecidos no sistema de detecção. A utilização destes produtos, em combinação com o sistema BOND automatizado, reduz a possibilidade de erro humano e da variabilidade inerente resultante da diluição do reagente individual, pipetagem manual e aplicação de reagente.

Reagentes Fornecidos

Cytokeratin HMW (34βE12) é um anticorpo monoclonal anti-humano de rato produzido como sobrenadante de cultura tecidual e fornecida em solução salina com tampão Tris com proteína transportadora, contendo 0,35% de ProClin™ 950 como conservante.

Volume total = 7 mL.

Clone

34βE12.

Imunogénio

Queratina solubilizada extraída de estrato córneo humano.

Especificidade

Citoqueratinas 1, 5, 10 e 14 humanas com pesos moleculares de 68, 58, 56.5 e 50 kD respectivamente.

Subclasse

IgG1.

Concentração de Proteínas Totais

Aproximadamente 10 mg/mL.

Concentração de anticorpos

Maior ou igual a 0,16 mg/L conforme determinado por ELISA.

Diluição e mistura

O anticorpo primário Cytokeratin HMW (34βE12) apresenta-se com uma diluição ideal para utilização no sistema BOND. Não é necessária reconstituição, mistura, diluição ou titulação deste reagente.

Material necessário, mas não fornecido

Consultar "Usar os reagentes BOND" na sua documentação do utilizador BOND para uma lista completa de materiais necessários para tratamento de amostras e coloração imunohistoquímica usando o sistema BOND.

Armazenamento e Estabilidade

Armazene a uma temperatura de 2–8 °C. Não utilize após o fim do prazo de validade referido no rótulo do recipiente.

Os sinais que indicam contaminação e/ou instabilidade da Cytokeratin HMW (34βE12) são: turvação da solução, desenvolvimento de odor e presença de precipitado.

Coloque entre 2–8 °C imediatamente depois de utilizar

Condições de armazenamento diferentes das acima especificadas devem ser confirmadas pelo utilizador ¹.

Precauções

- Este produto destina-se a utilização diagnóstica in vitro.
- A concentração de ProClin[®] 950 é de 0,35%. Contém o ingrediente activo 2-metil-4-isotiazolina-3-a e pode provocar irritação da pele, olhos, membranas mucosas e vias aéreas superiores. Use luvas descartáveis quando manipular os reagentes. Use luvas descartáveis quando manipular os reagentes.
- Para obter uma cópia da Ficha de Dados de Segurança do Material, entre em contacto com o seu distribuidor local ou sucursal regional da Leica Biosystems ou, em alternativa, visite o site da Leica Biosystems na internet, www.LeicaBiosystems.com.
- As amostras, antes e depois da fixação, e todo o material que a elas seja exposto, devem ser manipulados como se fossem capazes de transmitir infecção e eliminados usando as precauções adequadas². Nunca pipete reagentes com a boca e evite o contacto entre a pele e membranas mucosas com reagentes ou amostras. Se reagentes ou amostras entrarem em contacto com os olhos, lave-os com uma quantidade abundante de água. Consultar um médico.
- Consulte os regulamentos federais, estaduais e locais relativamente à eliminação de quaisquer componentes potencialmente tóxicos.
- Minimize a contaminação microbiana dos reagentes ou poderá ocorrer um aumento da coloração inespecífica.
- A utilização de tempos e temperaturas de recuperação e incubação diferentes dos especificados pode produzir resultados erróneos. Qualquer alteração deste tipo deve ser validada pelo utilizador.

Instruções de utilização

O anticorpo primário Cytokeratin HMW (34βE12) foi desenvolvido para utilização no sistema BOND automatizado em combinação com BOND Polymer Refine Detection. O protocolo de coloração indicado para o anticorpo primário Cytokeratin HMW (34βE12) é o IHC Protocol F. Recomenda-se pré-tratamento enzimático utilizando BOND Enzyme 1 durante 5 minutos.

Nota técnica

Quando se procede à coloração de tecido da próstata, a utilização de uma técnica de recuperação dupla, como a recuperação de epitopos induzida por calor com BOND Epitope Retrieval Solution 1 durante 5 minutos, seguida por pré-tratamento enzimático utilizando BOND Enzyme (1 gota de concentrado enzimático em 21 mL de diluente) durante 5 minutos, pode melhorar a coloração do epitélio basal. Todavia, a recuperação dupla pode provocar hiper-digestão, e se tal ocorrer poderá ser necessária uma solução enzimática mais diluída. O utilizador deve validar as condições ideais para recuperação dupla numa série de casos de próstata normal, hiperplásica e doença maligna.

Resultados esperados

Tecidos normais

O clone 34βE12 detecta as proteínas filamentosas intermédias da citoqueratina humana 1, 5, 10 e 14. Corou todas as camadas do epitélio escamoso da pele, esófago, colo do útero e amígdala. No esófago, observou-se coloração das glândulas seromucosas da submucosa. Ocorreu coloração de alguns pneumócitos e epitélio brônquico do pulmão normal. Também reagiu com algumas células ductais do pâncreas normal, mama e glândula submandibular. Ocorreu coloração de células epiteliais basais da mama, esófago, glândula submandibular e próstata. Também se observou coloração de células mesoteliais do cordão umbilical, células epiteliais e corpos de Hassall do timo e uma coloração muito fraca de ductos biliares ocasionais do fígado normal; não ocorreu coloração de hepatócitos. Não foi observada qualquer coloração da supra-renal, rim, cérebro, intestino delgado, cólon, estômago, coração, baço, músculo esquelético, testículos, útero, ovário, paratiróide, tiróide, medula óssea, nervos periféricos ou pituitária (n=83).

Tecidos tumorais

O clone 34βE12 corou 30/30 carcinomas de células escamosas, incluindo da pele 22/22, esófago 2/2, laringe 2/2, pulmão 2/2 e útero 2/2. Também foi observada coloração no carcinoma de células basais da pele 25/25, carcinoma ductal da mama 1/2, adenocarcinoma gástrico 1/2, adenocarcinoma pancreático 1/2, carcinoma metastático em gânglios linfáticos 1/2 e colangiocarcinoma 1/2. Não foi observada qualquer reactividade numa ampla variedade de outros tumores, incluindo melanomas, glioblastomas, linfomas, carcinomas da tiróide, carcinomas de transição, cistadenocarcinomas mucinosos, carcinomas hepatocelulares, carcinomas de células renais e adenocarcinomas da próstata, cólon e recto (n=29).

Cytokeratin HMW (34βE12) está recomendada para utilização como parte de um painel de anticorpos para a caracterização de carcinomas escamosos e ductais surgindo em epitélios complexos, tendo valor na diferenciação entre lesões benignas e malignas dos pequenos ácinos da próstata.

Limitações Específicas para o Produto

Cytokeratin HMW (34βE12) foi otimizada na Leica Biosystems para utilização com BOND Polymer Refine Detection e reagentes auxiliares BOND. Utilizadores que se desviem dos procedimentos de teste recomendados devem assumir a responsabilidade pela interpretação dos resultados dos doentes nestas circunstâncias. Os tempos de protocolo podem variar, devido a variações na fixação tecidual e na eficácia de valorização com antígenos, devendo ser determinados de forma empírica. Os controlos de reagente negativos devem ser usados quando se optimizam as condições de recuperação e os tempos do protocolo.

Resolução de problemas

Consulte a referência 3 para acções de resolução.

Entre em contacto com o seu distribuidor local ou com a sucursal regional da Leica Biosystems para notificar qualquer coloração pouco habitual.

Informações Adicionais

Poderá encontrar informações adicionais sobre imunocoloração com reagentes BOND nas secções de Princípios do Procedimento, Material Necessário, Preparação da Amostra, Controlo de Qualidade, Verificação do Ensaio, Interpretação da Coloração, Significado dos Símbolos nos Rótulos e Limitações Gerais em "Utilizar os Reagentes BOND" na sua documentação do utilizador BOND.

Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
 2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
 3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
 4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
 5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
 6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
 7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody-A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
 8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.
- ProClin® 950 é uma marca registada de Supelco, parte da Sigma-Aldrich Corporation.

Data de Emissão

11 de Setembro de 2018

BOND™ Primär antikropp - färdig att användas

Cytokeratin HMW (34βE12)

Artikelnummer: PA0134

Användningsområde

Reagenset är avsett för in vitro-diagnostik.

Monoklonal antikropp Cytokeratin HMW (34βE12) är avsedd att användas för kvalitativ bestämning i ljusmikroskopi av humana cytotokeratiner 1, 5, 10 och 14 i formalinfixerad, paraffinbäddad vävnad, genom immunhistokemisk färgning i det automatiska systemet BOND (inkluderar Leica BOND-MAX-systemet och Leica BOND-III-systemet).

Den kliniska tolkningen av varje infärgning, eller utebliven infärgning, måste alltid kompletteras med morfologiska studier och lämpliga kontroller. Utvärderingen bör göras av kvalificerad patolog och inkludera patientens anamnes och övriga diagnostiktester.

Förklaring och sammanfattning

Med immunhistokemiska metoder kan man påvisa förekomsten av antigener i vävnad och celler (se "Använda BOND-reagens" i användardokumentationen från BOND). Den primära antikroppen Cytokeratin HMW (34βE12) är en bruksfärdig produkt som speciellt optimerats för användning med BOND Polymer Refine Detection. Påvisande av de humana cytotokeratinerna 1, 5, 10 och 14 uppnås genom att man först låter Cytokeratin HMW (34βE12) binda till snittet och därefter visualiserar denna bindning med hjälp av dem reagenser som ingår i detektionssystemet. Användning av dessa produkter tillsammans med det automatiska BOND-systemet reducerar risken för mänskliga misstag och för den inherent spridning som orsakas av individuell reagensutspädning, manuell pipettering och manuell reagenstillställning.

Ingående reagenser

Cytokeratin HMW (34βE12) är en anti-human monoklonal antikropp från mus, producerad som supernatant från cellkultur. Den levereras i trisbuffrad koksallösning med bärarprotein. Lösningen innehåller 0,35% ProClin™ 950 som konserveringsmedel.

Total volym = 7 ml.

Klon

34βE12.

Immunogen

Solubiliserat keratin extraherat från humant stratum corneum.

Specifitet

Humana cytotokeratiner 1, 5, 10 och 14 med molekylvikter på respektive 68, 58, 56,5 och 50 kD.

Subklass

IgG1.

Total proteinkoncentration

Ungefär 10 mg/ml.

Antikroppskoncentration

Större än eller lika med 0,16 mg/L, enligt bestämning med ELISA.

Spädning och blandning

Primär antikropp Cytokeratin HMW (34βE12) är optimalt utspädd för användning på systemet BOND. Denna reagens behöver varken rekonstitueras, blandas, spädas eller titreras.

Nödvändig materiel som ej medföljer

I "Använda BOND-reagens" i BOND-användardokumentationen finns en fullständig lista med den materiel du behöver för att behandla ett prov och göra en immunhistokemisk färgning med BOND-systemet.

Förvaring och stabilitet

Förvara vid 2–8 °C. Använd inte efter det utgångsdatum som anges på flaskans etikett.

Tecken som indikerar kontaminering och/eller instabilitet hos Cytokeratin HMW (34βE12) är: grumling i lösningen, luktutveckling och förekomst av fällning.

Ställ tillbaka i 2–8 °C omedelbart efter användning.

Andra förvaringsbetingelser än de ovan angivna måste verifieras av användaren¹.

Säkerhetsåtgärder

- Produkten är avsedd för in vitro-diagnostik.
- Koncentrationen av ProClin[®] 950 är 0,35%. Den aktiva ingrediensen 2-metyl-4-isotiazolin-3-on kan orsaka irritationer i hud, ögon, slemhinnor och de övre luftvägarna. Använd engångshandskar när du hanterar reagens.
- Du kan få tag på ett säkerhetsdatablad genom att kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor, eller besöka Leica Biosystems webbplats www.LeicaBiosystems.com.
- Prover, både före och efter fixering, samt all materiel som exponeras för dem, bör behandlas och avfallshanteras som potentiellt smittbärande material¹. Munpipettera aldrig reagens och undvik att hud eller slemhinnor kommer i kontakt med reagens eller prover. Om reagens eller prover skulle komma i kontakt med känsliga områden bör du tvätta dig med rikliga mängder vatten. Kontakta läkare.
- Angående avfallshantering av potentiellt toxiska material hänvisar vi till gällande europeiska, nationella och lokala bestämmelser och förordningar.
- Minimera mikrobiologisk kontamination av reagenser, annars kan en ökad icke-specifik infärgning bli resultatet.
- Retrieval, inkubationstider eller temperaturer som avviker mot dem angivna kan ge felaktiga resultat. Varje sådan förändring måste valideras av användaren.

Bruksanvisning

Den primära antikroppen Cytokeratin HMW (34βE12) har utvecklats för användning på det automatiserade systemet BOND i kombination med BOND Polymer Refine Detection. Rekommenderat färgningsprotokoll för Cytokeratin HMW (34βE12) primär antikropp är IHC Protocol F. Enzymförbehandling rekommenderas med BOND Enzyme 1 i 5 minuter.

Teknisk anmärkning

Vid färgning av prostatisk vävnad kan användning av en dubbel retrieval-teknik, såsom värmeinducerat epitopretrieval med BOND Epitope Retrieval Solution 1 i 5 minuter, följt av Enzymförbehandling med BOND Enzyme (1 droppe enzym-koncentrat i 21 ml lösning) i 5 minuter, förbättra färgningen av basalt epitel. Dock kan dubbelretrieval leda till att över-nedbrytning inträffar, vilket kan göra att en mer utspädd enzymlösning blir nödvändig. Användaren bör validera de optimala villkoren för dubbelretrieval på ett antal normala, hyperplastiska och maligna prostatafall.

Förväntade resultat

Normala vävnader

Klon 34βE12 detekterar de humana intermedjärfilament-proteinerna 1, 5, 10 och 14. Den färgade alla skikt av skvamöst epitel i hud, matstrupe, livmoderhals och tonsill. I matstrupe, förekom färgning av seromukösa körtlar i submukosa. Vissa pneumocyter och bronkialepitel färgades i normal lunga. Den reagerade också med vissa ductala celler i normal pankreas, bröst och underkåkspottkörtel. Basala epiteliala celler färgades i bröst, matstrupe, underkåkspottkörtel och prostata. Det förekom också färgning av mesoteliala celler i navelsträng, av epiteliala celler och Hassalls kroppar i tymus, och mycket svag färgning av enstaka gallgångar i normal lever; hepatocyter färgades inte. Ingen färgning observerades i binjure, njure, hjärna, tunntarm, tjocktarm, mage, hjärta, mjälte, skelettmuskel, testikel, livmoder, äggstock, sköldkörtel, bisköldkörtel, benmärg, perifer nerv eller hypofys (n=83).

Tumörvävnader

Klon 34βE12 färgade 30/30 skvamösa cellcarcinom, inklusive i hud 22/22, matstrupe 2/2, struphuvud 2/2, lunga 2/2 och livmoder 2/2. Färgning observerades också i basalcellscarcinom i hud 25/25, ductala carcinom i bröst 1/2, adenocarcinom i magsäck 1/2, pankreatiska adenocarcinom 1/2, metastasiskt carcinom i lymfkänta 1/2 och kolangiocarcinom 1/2. Ingen reaktivitet observerades i flera andra tumörer inklusive melanom, glioblastom, lymfom, sköldkörtelcarcinom, övergångscellcarcinom, musinösa cystadenocarcinom, hepatocellulära carcinom, njurcellscarcinom och adenocarcinom i prostata, tjocktarm och rektum (n=29).

Cytokeratin HMW (34βE12) rekommenderas för användning som del i en antikroppspanel för karakterisering av skvamösa och ductala carcinom som uppstår från komplexa epitel och är av värde vid differentiering av godartade och maligna små-acinära lesioner i prostatakörtel.

Produktspecifika begränsningar

Cytokeratin HMW (34βE12) har optimerats vid Leica Biosystems för användning med BOND Polymer Refine Detection och BOND hjälpreagenser. Användare som inte följer rekommenderade testprotokoll måste ta på sig ansvaret för att korrekt tolka patientresultat under dessa förhållanden. Som följd av variationer i vävnadsfixering och effektivitet hos antigensförstärkningen kan protokollets tider variera och de måste fastställas empiriskt. Negativa reagenskontroller bör användas när man optimerar betingelser för retrieval och protokolltider.

Felsökning

Se referens 3 för förslag till åtgärder.

Kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor för att rapportera onormal infärgning.

Mer information

Mer information om immunfärgning med BOND-reagens finns under rubrikerna Bakgrund till metoden, Nödvändig materiel, Förbereda provet, Kvalitetskontroll, Verifiering av assayer, Tolka infärgningsresultat, Symbolförklaring för etiketter och Allmänna begränsningar i "Använda BOND-reagens" i BOND användardokumentation.

Bibliografi

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD och Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody-A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.

ProClin® 950 är ett varumärke för Supelco som ingår i Sigma-Aldrich Corporation.

Utgivningsdatum

11 september 2018

Έτοιμο Για Χρήση Πρωτογενές Αντίσωμα BOND™ Cytokeratin HMW (34βE12)

Αρ. καταλόγου: PA0134

Σκοπός χρήσης

Αυτό το αντιδραστήριο προορίζεται για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

Το μονοκλωνικό αντίσωμα Cytokeratin HMW (34βE12) προορίζεται για χρήση για την ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός των ανθρώπινων κυτταροκερατινών 1, 5, 10 και 14 σε μονιμοποιημένο σε φορμόλη και ενσωματωμένο σε παραφίνη ιστό με ανοσοϊστοχημική χρώση, με χρήση του αυτοματοποιημένου συστήματος BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III).

Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή της απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες και σωστούς μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στα πλαίσια του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολογοανατόμο.

Περιήψη και επεξήγηση

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν ανοσοϊστοχημικές μέθοδοι για την κατάδειξη της παρουσίας αντιγόνων στον ιστό και τα κύτταρα (δείτε "Χρήση αντιδραστηρίων BOND" στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης του BOND). Το πρωτογενές αντίσωμα Cytokeratin HMW (34βE12) είναι ένα έτοιμο για χρήση προϊόν που έχει βελτιστοποιηθεί ειδικά για χρήση με το BOND Polymer Refine Detection. Η κατάδειξη των ανθρώπινων κυτταροκερατινών 1, 5, 10 και 14 επιτυγχάνεται πρώτα επιτρέποντας τη δέσμευση του Cytokeratin HMW (34βE12) και μετά οπτικοποιώντας αυτή τη δέσμευση με τη χρήση των αντιδραστηρίων που παρέχονται στο σύστημα ανίχνευσης. Η χρήση αυτών των προϊόντων, σε συνδυασμό με το αυτοματοποιημένο σύστημα BOND, μειώνει την πιθανότητα του ανθρώπινου σφάλματος και την εγγενή ποικιλοπλοία που προκαλείται από αραίωση συγκεκριμένου αντιδραστηρίου, χειροκίνητη αναρρόφηση με πιπέτα και εφαρμογή αντιδραστηρίου.

Αντιδραστήρια που παρέχονται

Το Cytokeratin HMW (34βE12) είναι ένα μονοκλωνικό αντι-ανθρώπινο αντίσωμα ποντικού που παράγεται ως υπερκείμενο ιστοκαλλιέργειας και παρέχεται σε αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα Tris με πρωτεΐνη φορέα που περιέχει 0,35% ProClin™ 950 ως συντηρητικό.

Συνολικός όγκος = 7 mL

Κλώνος

34βE12.

Ανοσογόνο

Διαλυτοποιημένη κερατίνη εξαχθείσα από ανθρώπινο στρώμα κερατίνης στοιβάδας.

Ειδικότητα

Ανθρώπινες κυτταροκερατίνες 1, 5, 10 και 14 με μοριακά βάρη 68, 58, 56,5 και 50 kD αντίστοιχα.

Υποκατηγορία

IgG1.

Συνολική συγκέντρωση πρωτεΐνης

Περίπου 10 mg/mL.

Συγκέντρωση αντισώματος

Μεγαλύτερη ή ίση με 0,16 mg/L, όπως προσδιορίζεται με ELISA.

Αραίωση και ανάμειξη

Το πρωτογενές αντίσωμα Cytokeratin HMW (34βE12) είναι βέλτιστα αραιωμένο για χρήση στο σύστημα BOND. Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμειξη, αραίωση ή πιλοδότηση αυτού του αντιδραστηρίου.

Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Για μια πλήρη λίστα των υλικών που απαιτούνται για την επεξεργασία δειγμάτων και την ανοσοϊστοχημική χρώση με τη χρήση του συστήματος BOND, ανατρέξτε στην ενότητα "Χρήση αντιδραστηρίων BOND" στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης του BOND.

Φύλαξη και σταθερότητα

Φυλάσσετε στους 2–8 °C. Μη το χρησιμοποιήσετε μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του δοχείου.

Τα σημεία που υποδεικνύουν μόλυνση ή και αστάθεια του Cytokeratin HMW (34βE12) είναι: θολότητα του διαλύματος, δημιουργία οσμής και παρουσία ιζήματος.

Επαναφέρετε στους 2–8 °C αμέσως μετά τη χρήση.

Συνθήκες φύλαξης εκτός από αυτές που καθορίζονται παραπάνω πρέπει να επαληθεύονται από τον χρήστη¹.

Προφυλάξεις

- Αυτό το προϊόν προορίζεται για in vitro διαγνωστική χρήση.
- Η συγκέντρωση του ProClim[®] 950 είναι 0,35%. Περιέχει το ενεργό συστατικό 2-methyl-4-isothiazolin-3-one και μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό του δέρματος, των ματιών, των βλεννογόνων μεμβρανών και της ανώτερης αναπνευστικής οδού. Φοράτε γάντια μιας χρήσης όταν χειρίζεστε αντιδραστήρια.
- Για να λάβετε ένα αντίτυπο του δελτίου δεδομένων ασφαλείας υλικού (Material Safety Data Sheet), επικοινωνήστε με τον τοπικό σας διανομέα ή τα περιφερειακά γραφεία της Leica Biosystems ή, εναλλακτικά, επισκεφθείτε τον ιστότοπο της Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com.
- Ο χειρισμός των δειγμάτων, πριν και μετά τη μονιμοποίηση και όλων των υλικών που εκτίθενται σε αυτά, θα πρέπει να γίνεται ως εάν ήταν ικανά να μεταδώσουν μόλυνση και θα πρέπει να απορρίπτονται λαμβάνοντας κατάλληλες προφυλάξεις. Μην κάνετε ποτέ αναρρόφηση αντιδραστηρίων με πιπέτα με το στόμα και αποφυγείτε να έρθει σε επαφή το δέρμα και οι βλεννογόνοι με τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα. Αν αντιδραστήρια ή δείγματα έρθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε τις με άφθονο νερό. Ζητήστε ιατρική συμβουλή.
- Συμβουλευτείτε τους ομοσπονδιακούς, πολιτειακούς ή τοπικούς κανονισμούς για απόρριψη τυχόν δυνητικών τοξικών συστατικών.
- Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διότι ενδέχεται να συμβεί αύξηση μη ειδικής χρώσης.
- Ανάκτηση, χρόνοι επώασης ή θερμοκρασίες διαφορετικές από τις καθορισμένες, μπορεί να οδηγήσουν σε εσφαλμένα αποτελέσματα. Οποιαδήποτε τέτοια αλλαγή πρέπει να επικυρώνεται από τον χρήστη.

Οδηγίες χρήσης

Το πρωτογενές αντίσωμα Cytokeratin HMW (34ΒΕ12) αναπτύχθηκε για χρήση στο αυτοματοποιημένο σύστημα BOND σε συνδυασμό με το BOND Polymer Refine Detection. Το συστατώμενο πρωτόκολλο χρώσης για το πρωτογενές αντίσωμα Cytokeratin HMW (34ΒΕ12) είναι το IHC Protocol F. Συνιστάται προεπεξεργασία ενζύμου με χρήση BOND Enzyme 1 για 5 λεπτά.

Τεχνική σημείωση

Κατά τη χρήση προστατικού ιστού ή χρήση διπλής τεχνικής ανάκτησης, όπως επαγόμενη με θερμότητα ανάκτηση επιτόπου με BOND EpiTope Retrieval Solution 1 για 5 λεπτά, ακολουθούμενη από ενζυμική προεπεξεργασία με χρήση BOND Enzyme (1 σταγόνα συμπυκνώματος Enzyme σε 21 mL διαλύτη) για 5 λεπτά μπορεί να βελτιώσει τη χρώση του βασικού επιθηλίου. Ωστόσο, η διπλή ανάκτηση ενδέχεται να οδηγήσει σε υπερβολική πέψη. Αν συμβεί υπερβολική πέψη, ενδέχεται να απαιτείται ένα πιο αραιωμένο ενζυμικό διάλυμα. Ο χρήστης θα πρέπει να επικυρώσει τις βέλτιστες συνθήκες για διπλή ανάκτηση σε μια σειρά φυσιολογικών, υπερπλαστικών και κακοήθων προστατικών περιστατικών.

Αναμενόμενα αποτελέσματα

Φυσιολογικοί ιστοί

Ο κλώνος 34ΒΕ12 ανιχνεύει τις ενδιάμεσες ινιδιακές πρωτεΐνες κυτταροκερατίνης 1, 5, 10 και 14. Έχρωσε όλα τα στρώματα του πλακώδους επιθηλίου σε δέρμα, οισοφάγο, τράχηλο και αμυγδαλή. Στον οισοφάγο, υπήρχε χρώση των οροβλεννώδων αδένων στον υποβλεννογόνο. Μερικά πνευμονοκύτταρα και βρογχικό επιθήλιο χρώστηκαν σε φυσιολογικό πνεύμονα. Αντέδρασε επίσης με μερικά πορογενή κύτταρα του φυσιολογικού παγκρέατος, μαστού και υπογνάθιου αδένα. Βασικά επιθηλιακά κύτταρα χρώστηκαν σε μαστό, οισοφάγο, υπογνάθιο αδένα και προστάτη. Υπήρχε επίσης χρώση των μεσοθηλιακών κυττάρων στον ομφάλιο λώρο, επιθηλιακά κύτταρα και σωμάτια του Hassall του θύμου και πολύ ασθενής χρώση περιστασιακών χοληφόρων σε φυσιολογικό ήπαρ. Δεν παρατηρήθηκε χρώση σε ηπατοκύτταρα. Δεν παρατηρήθηκε χρώση σε επινεφρίδιο, νεφρό, εγκέφαλο, λεπτό έντερο, κόλον, στόμαχο, καρδιά, σπλήνα, σκελετικό μυ, όρχη, μήτρα, ωοθήκη, θυροειδή, παραθυροειδείς, μυελό των οστών, περιφερικό νεύρο ή ύψωση (n=83).

Νεοπλασματικοί ιστοί

Με τον κλώνο 34ΒΕ12 χρώστηκαν 30/30 καρκινώματα εκ πλακωδών κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων αυτών του δέρματος 22/22, οισοφάγου 2/2, λάρυγγα 2/2, πνεύμονα 2/2 και μήτρας 2/2. Παρατηρήθηκε επίσης χρώση σε 25/25 βασικοκυτταρικά καρκινώματα του δέρματος, 1/2 πορογενή καρκινώματα του μαστού, 1/2 γαστρικά αδενοκαρκινώματα, 1/2 παγκρεατικά αδενοκαρκινώματα, 1/2 μεταστατικά καρκινώματα σε λεμφαδένια και 1/2 χολαγγειοκαρκινώματα. Δεν παρατηρήθηκε αντιδραστικότητα σε μια ποικιλία άλλων όγκων, όπως μελανώματα, γλοιοβλαστώματα, λεμφώματα, καρκινώματα του θυροειδούς, μεταβατικά καρκινώματα, βλενώδη κυσταδεοκαρκινώματα, ηπατοκυτταρικά καρκινώματα, καρκινώματα εκ νεφρικών κυττάρων και αδενοκαρκινώματα του προστάτη, κόλου και ορθού (n=29).

Το Cytokeratin HMW (34ΒΕ12) συνιστάται για χρήση ως μέρος ομάδας αντισωμάτων για τον χαρακτηρισμό πλακωδών και πορογενών καρκινωμάτων από σύνθετα επιθήλια και είναι πολύτιμο για τη διαφοροποίηση καλοήθων και κακοήθων μικρών κυψελιδωτών βλαβών στον προστατικό αδένα.

Ειδικοί περιορισμοί του προϊόντος

Το Cytokeratin HMW (34ΒΕ12) έχει βελτιστοποιηθεί στην Leica Biosystems για χρήση με το BOND Polymer Refine Detection και τα βοηθητικά αντιδραστήρια BOND. Οι χρήστες που παρεκκλίνουν από τις συστατώμενες διαδικασίες εξέτασης, πρέπει να αναλάβουν την ευθύνη για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων των ασθενών υπό αυτές τις συνθήκες. Οι χρόνοι του πρωτοκόλλου μπορεί να διαφέρουν λόγω της διαφοροποίησης στη μονιμοποίηση του ιστού και την αποτελεσματικότητα της ενίσχυσης του αντιγόνου και συνεπώς πρέπει να προσδιορίζονται εμπειρικά. Για τη βελτιστοποίηση των συνθηκών ανάκτησης και των χρόνων του πρωτοκόλλου θα πρέπει να χρησιμοποιούνται δείγματα αντιδραστηρίου αρνητικού ελέγχου.

Αντιμετώπιση προβλημάτων

Ανατρέξτε στην παραπομπή 3 για τις διορθωτικές ενέργειες.

Για να αναφέρετε περιπτώσεις ασυνήθιστης χρώσης, επικοινωνήστε με τον τοπικό σας διανομέα ή τα περιφερειακά γραφεία της Leica Biosystems.

Πρόσθετες πληροφορίες

Μπορείτε να βρείτε περισσότερες πληροφορίες σχετικά με την ανοσοχρώση με αντιδραστήρια BOND, υπό τους τίτλους "Αρχή της διαδικασίας", "Απαιτούμενα υλικά", "Προετοιμασία δείγματος", "Ποιοτικός έλεγχος", "Επαλήθευση προσδιορισμού", "Ερμηνεία της χρώσης", "Υπόμνημα για τα σύμβολα στις ετικέτες" και "Γενικοί περιορισμοί" στην ενότητα "Χρήση αντιδραστηρίων BOND" στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης του BOND.

Βιβλιογραφία

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody-A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.

Το ProClin® 950 είναι εμπορικό σήμα της Supelco, τμήμα της Sigma-Aldrich Corporation.

Ημερομηνία έκδοσης

11 Σεπτεμβρίου 2018

BOND™ Brugsklart Primaert Antistof Cytokeratin HMW (34βE12) Katalognummer.: PA0134

Tilsigtet anvendelse

Dette reagens er beregnet til in vitro diagnostik.

Det monoclonale Cytokeratin HMW (34βE12)-antistof er beregnet til brug ved kvalitativ identifikation med lysmikroskopi af humant cytokeratin 1, 5, 10 og 14 i formalinfikserede, paraffinindstøbte væv vha. immunhistokemisk farvning med det automatiske BOND system (herunder Leica BOND-MAX system og Leica BOND-III system).

Den kliniske fortolkning af enhver farvning eller fravær af samme ledsages af morfologiske undersøgelser og egnede kontroller samt evalueres af en uddannet patolog, som ser fortolkningen i kontekst med patientens anamnese samt andre diagnostiske prøver.

Resumé og forklaring

Immunhistokemiske teknikker kan anvendes til at påvise tilstedeværelsen af antigener i væv og celler (se "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugervejledningen). Cytokeratin HMW (34βE12) primært antistof er et brugsklart produkt, som er optimeret specielt til brug med BOND Polymer Refine Detection. Påvisningen af humant cytokeratin 1, 5, 10 og 14 opnås ved først at lade Cytokeratin HMW (34βE12) binde sig til præparatet, og derefter visualisere denne binding ved hjælp af de reagenser, der leveres med detektionssystemet. Brugen af disse produkter sammen med det automatiske BOND-system reducerer risikoen for menneskelige fejl og variabilitet som følge af individuel reagensfortynding, manuel pipettering og reagenspåførsel.

Leverede reagenser

Cytokeratin HMW (34βE12) er et murint antihumant monoklonalt antistof produceret som en vævskultursupernatant leveret i Tris-bufferjusteret saltvandsopløsning med bærerprotein, indeholder 0,35% ProClin™ 950 som konserveringsmiddel.

Volumen i alt = 7 ml.

Klon

34βE12.

Immunogen

Opløseliggjort keratin ekstraheret fra humant stratum corneum.

Specifitet

Humant cytokeratin 1, 5, 10 og 14 med molekylærvægte på henholdsvis 68, 58, 56,5 og 50 kD.

Underklasse

IgG1.

Total proteinkoncentration

Ca. 10 mg/ml.

Antistofkoncentration

Større end eller lig med 0,16 mg/L bestemt med ELISA.

Fortynding og blanding

Cytokeratin HMW (34βE12) primært antistof er optimalt fortyndet til brug på BOND-systemet. Rekonstitution, blanding, fortynding eller titrering af dette reagens er ikke påkrævet.

Nødvendige materialer, der ikke medfølger

Der henvises til "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugervejledningen for en komplet liste over materialer, der er nødvendige til præparatbehandling og immunhistokemisk farvning ved hjælp af BOND-systemet.

Opbevaring og stabilitet

Opbevares ved 2–8 °C. Må ikke anvendes efter udløbsdatoen, som er angivet på etiketten på beholderen.

Tegn, som indikerer, at Cytokeratin HMW (34βE12) er kontamineret og/eller ustabil: turbiditet af opløsningen, lugtudvikling og forekomst af præcipitat.

Sættes tilbage til opbevaring ved 2–8 °C straks efter brug.

Opbevaringsbetingelser, der adskiller sig fra de oven for specificerede, skal verificeres af brugeren¹.

Forholdsregler

- Dette produkt er beregnet til in vitro diagnostik.
- Koncentrationen af ProClin[®] 950 er 0,35%. Det indeholder den aktive ingrediens 2-methyl-4-isothiazolin-3-one og kan give anledning til irritation af hud, øjne, slimhinder og øvre luftveje. Der skal anvendes engangshandsker ved håndtering af reagenserne.
- Det er muligt at få et sikkerhedsdatablad (Material Safety Data Sheet) ved henvendelse til den lokale forhandler, det regionale kontor for Leica Biosystems eller via Leica Biosystems' hjemmeside www.LeicaBiosystems.com.
- Præparater, både før og efter fiksering, samt alle materialer eksponeret for præparater, skal håndteres som værende i stand til at overføre infektion og skal bortskaffes efter passende forholdsregler. Afpipetter ikke reagenser med munden og undgå, at reagenser eller præparater kommer i kontakt med hud og slimhinder. Hvis reagenser eller præparater kommer i kontakt med følsomme områder, skal disse områder vaskes med rigelige mængder vand. Søg læge.
- Bortskaffelse af potentielt toksiske komponenter skal ske i overensstemmelse med gældende statslig eller lokal lovgivning.
- Mikrobiel kontaminering af reagenser skal minimeres for at undgå en øget uspecifik farvning.
- Søgegentagelse og inkubationstider eller -temperaturer, som afviger fra de specificerede, kan give fejlagtige resultater. Enhver ændring heraf skal valideres af brugeren.

Brugsanvisning

Cytokeratin HMW (34βE12) primært antistof er udviklet til brug på det automatiske BOND-system sammen med BOND Polymer Refine Detection. Den anbefalede farvningsprotokol for Cytokeratin HMW (34βE12) primært antistof er IHC protocol F. Enzymforbehandling anbefales med anvendelse af BOND Enzyme 1 i 5 minutter.

Teknisk bemærkning

Ved farvning af prostatavæv kan anvendelsen af en dobbelt genfindningsteknik, fx varmeinduceret epitopgenfindning med BOND Epitope Retrieval Solution 1 i 5 minutter efterfulgt af enzymforbehandling med brug af BOND Enzyme (1 dråbe Enzyme-koncentrat i 21ml fortynder) i 5 minutter, forbedre farvning af basalt epitelium. Dobbelt genfindning kan dog over-opløse, og hvis over-opløsning forekommer, kan det være nødvendigt med en mere fortyndet enzymopløsning. Brugeren bør validere optimale betingelser for dobbelt genfindig på en serie sager med normalt, hyperplastisk og malignt prostatavæv.

Forventede resultater

Normalt væv

Klon 34βE12 detekterer de humane intermedieære filament-proteiner cytokeratin 1, 5, 10 og 14. Det farvede alle lag i pladeepitel i huden, øsofagus, cervix og tonsil. I øsofagus var der farvning af de seromukøse glandier i submucosa. Nogle pneumocytter og bronkialt epitel blev farvet i normalt lungevæv. Det reagerede også med nogle ductale celler i normalt væv fra pancreas, mamma og glandula submandibularis. Basale epiteliale celler farvedes i mamma, øsofagus, glandula submandibularis og prostata. Der var også farvning af mesotelceller i navlestreng, epitelceller og Hassalls legemer i thymus samt meget svag farvning af lejlighedsvis galdegange i normalt levervæv; hepatocytterne blev ikke farvet. Der sås ingen farvning af binyre, nyre, hjerne, tyndtarm, colon, gaster, hjerte, milt, skeletmuskulatur, testis, uterus, ovarie, thyreoidea, parathyreoidea, knoglemarv, perifer nerve eller hypofyse (n=83).

Tumør væv

Klon 34βE12 farvede 30/30 pladecellecarcinomer, herunder dem fra huden 22/22, øsofagus 2/2, larynx 2/2, lunge 2/2 og uterus 2/2. Der sås også farvning i basalcellecarcinom fra huden 25/25, ductalt carcinom fra mamma 1/2, adenocarcinomer fra gaster 1/2, adenocarcinomer fra pancreas 1/2, metastatisk carcinom i lymfeknude 1/2, samt cholangiocarcinom 1/2. Der sås ingen reaktivitet i en række andre tumorer, herunder melanomer, glioblastomer, lymfomer, thyreoidea carcinomer, transitionelle carcinomer, mucinøse cystadenocarcinomer, hepatocellulære carcinomer, renalcelle-carcinomer og adenocarcinomer fra prostata, colon og rectum (n=29).

Cytokeratin HMW (34βE12) anbefales til brug som en del af et antistof panel til karakterisering af pladeepitel- og ductale carcinomer med udspring fra komplekse epitelier og er af værdi i differentieringen af benigne og maligne små acinære læsioner i prostatakirtlen.

Produktspecifikke begrænsninger

Cytokeratin HMW (34βE12) er optimeret af Leica Biosystems til brug med BOND Polymer Refine Detection og BOND hjælpereagenser. Brugere, som afviger fra de anbefalede undersøgelsesprocedurer, må under disse forhold selv tage ansvaret for fortolkningen af patientresultater. Protokolliderne kan variere på grund af variation i vævsfiksering og effektiviteten i antigenfremhævning og skal bestemmes empirisk. Der skal anvendes negative reagenskontroller ved optimering af genfindingsforhold og protokollider.

Fejlfinding

Se reference 3 for afhjælpende foranstaltninger.

Kontakt venligst den lokale distributør eller Leica Biosystems' regionale kontor for at rapportere usædvanlig farvning.

Yderligere oplysninger

Yderligere oplysninger om immunfarvning med BOND-reagenser kan findes i "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugervejledningen under overskrifterne Proceduremæssige principper, Nødvendige materialer, Præparatklargøring, Kvalitetskontrol, Analyseverifikation, Fortolkning af farvning, Nøgle til symboler på etiketter og Generelle begrænsninger.

Bibliografi

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
 2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
 3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
 4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
 5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
 6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
 7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody-A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
 8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.
- ProClin® 950 er et varemærke tilhørende Supelco, en del af Sigma-Aldrich Corporation.

Udgivelsesdato

11 september 2018

BOND™ Klaar Voor Primaire Antilichaam te Gebruiken

Cytokeratine HMW (34βE12)

Catalogusnr.: PA0134

Beoogd gebruik

Dit reagens is voor gebruik bij diagnose in vitro.

Cytokeratine HMW (34βE12) is een monokonaal antilichaam dat bestemd is voor gebruik bij de kwalitatieve identificatie, met behulp van lichtmicroscopie, van humane cytokeratines 1, 5, 10 en 14 in met formaline gefixeerd en in paraffine ingebed weefsel door middel van immunohistochemische kleuring met het geautomatiseerde BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem).

De klinische interpretatie van een kleuring of de afwezigheid hiervan moet worden aangevuld met morfologische studies en de juiste controles. Ook moeten er evaluaties worden uitgevoerd binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests uitgevoerd door een bevoegd patholoog.

Samenvatting en toelichting

Immunohistochemische technieken kunnen worden gebruikt om de aanwezigheid van antigenen in weefsel en cellen aan te tonen (zie "Using BOND Reagents" (BOND-reagentia gebruiken) in de gebruikersdocumentatie van BOND). Cytokeratine HMW (34βE12) primair antilichaam is een gebruiksklaar product dat speciaal voor gebruik met BOND Polymer Refine Detection is geoptimaliseerd. Humane cytokeratines 1, 5, 10 en 14 worden aangetoond door eerst Cytokeratine HMW (34βE12) aan de coupe te laten binden en daarna die binding te visualiseren met behulp van de reagentia die in het detectiesysteem worden geleverd. Gebruik van deze producten in combinatie met het geautomatiseerde BOND-systeem vermindert de kans op menselijke fouten en de variabiliteit die inherent is aan het verdunnen van individuele reagentia, handmatig pipetteren en handmatige reagentoepassing.

Geleverde reagentia

Cytokeratine HMW (34βE12) is een anti-humaan monokonaal muizenantilichaam dat wordt geproduceerd als een weefselkweeksupernatant en geleverd in een tris-gebufferde zoutoplossing met dragereiwit, met als conserveringsmiddel 0,35% ProClin® 950.

Totaal volume = 7 ml.

Kloon

34βE12.

Immunogeen

Opgelost keratine geëxtraheerd van humaan stratum corneum.

Specificiteit

Humane cytokeratines 1, 5, 10 en 14 met moleculaire gewichten van respectievelijk 68, 58, 56,5 en 50 kD.

Subklasse

IgG1.

Totale eiwitconcentratie

Ongeveer 10 mg/ml.

Antilichaamconcentratie

Groter dan of gelijk aan 0,16 mg/l zoals bepaald door ELISA.

Verdunnen en mengen

Cytokeratine HMW (34βE12) primair antilichaam wordt optimaal verdund voor gebruik op het geautomatiseerde BOND-systeem. Het is niet nodig om dit reagens te reconstituëren, mengen, verdunnen of titreren.

Benodigde, maar niet meegeleverde materialen

Zie "Using BOND Reagents" (BOND-reagentia gebruiken) in de BOND-gebruikersdocumentatie voor een volledige lijst van de materialen die nodig zijn voor monsterbehandeling en immunohistochemische kleuring met het BOND-systeem.

Opslag en stabiliteit

Bewaren bij 2–8°C. Niet gebruiken na de vervaldatum die op het label van de container staat.

De tekenen die duiden op verontreiniging en/of instabiliteit van Cytokeratine HMW (34βE12) zijn: vertroebeling van de oplossing, geurontwikkeling en aanwezigheid van precipitaat.

Direct na gebruik weer bij 2–8°C opslaan.

Andere dan de hierboven genoemde opslagcondities moeten door de gebruiker worden geleverd¹.

Voorzorgsmaatregelen

- Dit product is bedoeld voor in vitro diagnostisch gebruik.
- De concentratie ProClin[®] 950 is 0,35%. Het bevat het werkzame bestanddeel 2-methyl-4-isothiazolin-3-one en kan irritatie van de huid, ogen, slijmvliezen en bovenste luchtwegen veroorzaken. Draag wegwerphandschoenen bij het hanteren van reagentia.
- Neem om een kopie van het veiligheidsinformatieblad te verkrijgen contact op met uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems, of ga naar de website van Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Specimens, en alle materialen die eraan worden blootgesteld, moeten voor en na fixatie worden behandeld als potentiële overdragers van infecties en afgevoerd worden met de juiste voorzorgsmaatregelen². Pipetteer reagentia nooit met de mond en vermijd contact van de huid en slijmvliezen met reagentia of monsters. Indien reagentia of monsters in aanraking komen met gevoelige gebieden, speel deze dan overvloedig met water. Raadpleeg een arts.
- Raadpleeg de nationale, regionale en plaatselijke voorschriften voor de afvoer van alle potentieel giftige stoffen.
- Minimaliseer de kans op microbiële contaminatie van reagentia, want dit kan de niet-specifieke kleuring verhogen.
- Andere herstelltijden, incubatietijden of temperaturen dan vermeld, kunnen onjuiste resultaten opleveren. Dergelijke wijzigingen moeten door de gebruiker worden gevalideerd.

Gebruiksaanwijzing

Cytokeratine HMW (34βE12) primair antilichaam werd ontwikkeld voor gebruik op het geautomatiseerde BOND-systeem in combinatie met BOND Polymer Refine Detection. Het aanbevolen kleuringsprotocol voor Cytokeratine HMW (34βE12) primair antilichaam is IHC Protocol F. Enzymevoorbehandeling wordt aanbevolen met gebruik van BOND Enzyme 1 gedurende 5 minuten.

Technische opmerking:

bij het kleuren van prostaatweefsel met gebruik van een dubbele herstelltechniek zoals warme-geïnduceerd epitooferstel met BOND Epitope Retrieval Solution 1 gedurende 5 minuten, gevolgd door enzymevoorbehandeling met BOND Enzyme 1 druppel enzymconcentraat in 21 mL verdunningsmiddel) gedurende 5 minuten, kan de kleuring van basaal epitheel verbeteren. Dubbel herstel kan echter over-absorberen. In geval van over-absorptie kan een meer verdunde enzymoplossing vereist zijn. De gebruiker moet de optimale condities voor dubbel herstel valideren op een reeks normale, hyperplastische en maligne prostaatgevallen.

Verwachte resultaten

Normaal weefsel

Kloon 34βE12 detecteert de humane cytokeratine intermediaire filamenteiwitten 1, 5, 10 en 14. Het kleurde alle lagen van plaveiselepitheel in huid, slokdarm, baarmoederhals en tonsil. In de slokdarm was er kleuring van de seromucozeuze klieren in de submucosa. Sommige pneumocyten en bronchiaal epitheel kleurden in normale long. Het reageerde ook met sommige ductale cellen van de normale pancreas, borst en submandibulaire klier. Basale epitheelcellen kleurden in borst, slokdarm, submandibulaire klier en prostaat. Er was ook kleuring van mesothelcellen in navelstreng, epitheelcellen en Hassall-lichaampjes van de thymus, een heel zwakke kleuring van incidentele galwegen in normale lever, hepatocyten kleurden niet. Er werd geen kleuring waargenomen in de bijnier, nier, hersenen, dunne darm, dikke darm, maag, hart, milt, skeletspier, testes, baarmoeder, eierstokken, schildklier en bijschildklier, beenmerg, perifere zenuw of hypofyse (n=83).

Tumorweefsels

Kloon 34βE12 kleurde 30/30 plaveiselcelcarcinomen, inclusief die van de huid 22/22, slokdarm 2/2, larynx 2/2, long 2/2 en baarmoeder 2/2. Er werd ook kleuring waargenomen in basaalcelcarcinoom van de huid 25/25, ductaal carcinoom van de borst 1/2, adenocarcinomen van de maag 1/2, adenocarcinomen van de pancreas 1/2, metastatisch carcinoom in lymfnode 1/2 en cholangiocarcinoom 1/2. Er werd geen reactiviteit waargenomen in verschillende andere tumoren waaronder melanomen, glioblastomen, lymfomen, schildkliercarcinomen, overgangscarcinomen, mucineuze cystadenocarcinomen, hepatocellulaire carcinomen, niercelcarcinomen en adenocarcinomen van de prostaat, dikke darm en rectum (n=29).

Cytokeratine HMW (34βE12) wordt aanbevolen voor gebruik als onderdeel van een panel antilichamen voor de karakterisering van plaveisel- en ductale carcinomen voortkomende uit complexe epithelen en is van waarde voor de differentiatie tussen goede en kwaadaardige kleine acinaire laesies van de prostaatklier.

Productspecifieke beperkingen

Cytokeratine HMW (34βE12) is door Leica Biosystems geoptimaliseerd voor gebruik met BOND Polymer Refine Detection en BOND-hulpreagentia. Gebruikers die afwijken van de aanbevolen testprocedures moeten de verantwoordelijkheid aanvaarden voor de interpretatie van patiëntenresultaten verkregen onder deze omstandigheden. Protocoltijden kunnen variëren door variatie in weefselsfixatie en de effectiviteit van antigeenversterking, en moeten empirisch worden bepaald. Bij het optimaliseren van de herstelcondities en de protocoltijden moeten negatieve reagenscontroles worden gebruikt.

Probleemoplossing

Raadpleeg referentie 3 voor herstelacties.

Neem contact op met uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems om ongebruikelijke kleuring te melden.

Overige informatie

Meer informatie over immunokleuring met BOND-reagentia vindt u onder de titels Principle of the procedure (Principe van de procedure), Materials required (Benodigde materialen), Specimen preparation (Specimenpreparatie), Quality control (Kwaliteitscontrole), Assay verification (Verificatie van de assay), Interpretation of staining (Interpretatie van de kleuring), Key to symbols on labels (Verklaring van symbolen op labels) en General limitations (Algemene beperkingen) in "Using BOND reagents" (BOND-reagentia gebruiken) in de gebruikersdocumentatie van BOND.

Literatuurlijst

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody-A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.

ProClin[®] 950 is een handelsmerk van Supelco, een onderdeel van de Sigma-Aldrich Corporation.

Datum uitgave

11 september 2018

BOND™ Primært Antistoff Klart til Bruk

Cytokeratin HMW (34βE12)

Katalognr.: PA0134

Tiltenkt bruk

Denne reagensen er til in vitro-diagnostisk bruk.

Cytokeratin HMW (34βE12) monoklonalt antistoff er tenkt brukt til kvalitativ identifisering med lysmikroskopering av humane cytotkeratiner 1, 5, 10 og 14 i formalinfiksert, parafininnstøpt vev med immunhistokjemisk farging ved bruk av det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Den kliniske tolkningen av enhver farging eller fravær av farging skal understøttes av morfologiske studier og gode kontroller og skal evalueres i sammenheng med pasientens sykehistorie og andre diagnostiske tester av en kvalifisert patolog.

Sammendrag og forklaring

Immunhistokjemiske teknikker kan brukes til å demonstrere tilstedeværelsen av antigener i vev og celler (se "Bruk av BOND-reagenser" i BOND-brukerdokumentasjonen). Det primære antistoffet cytotkeratin HMW (34βE12) er et produkt som er klart for bruk og spesielt optimalisert for bruk sammen med BOND Polymer Refine Detection. Påvisningen av humane cytotkeratiner 1, 5, 10 og 14 oppnås ved først å la cytotkeratin HMW (34βE12) binde seg til snittet, for deretter å visualisere bindingsprosessen ved hjelp av reagensene som brukes i deteksjonssystemet. Ved å bruke disse produktene i kombinasjon med det automatiserte BOND-systemet reduseres muligheten for menneskelig feil og iboende variabilitet som følge av individuell reagensfortynning, manuell pipettering og reagenspåføring.

Medfølgende reagenser

Cytokeratin HMW (34βE12) er et anti-humant, monoklonalt antistoff fra mus produsert som en vevskultur-supernatant, og den leveres i tris-bufret saltvann med bæreprøtein, og inneholder 0,35 % ProClin® 950 som konserveringsmiddel.

Totalvolum = 7 ml.

Klon

34βE12.

Immunogen

Oppløst keratin ekstrahert fra overhudens hornlag hos mennesker.

Spesifisitet

De humane cytotkeratinene 1, 5, 10 og 14 med molekylvekter på henholdsvis 68, 58, 56,5 og 50 kD.

Underklasse

IgG1.

Total proteinkonsentrasjon

Ca. 10 mg/ml.

Antistoffkonsentrasjon

Større enn eller lik 0,16 mg/l som fastslått av ELISA.

Fortynning og blanding

Det primære antistoffet cytotkeratin HMW (34βE12) er optimalt fortynnet for bruk med BOND-systemet. Rekonstitusjon, blanding, fortynning eller titrering av denne reagensen er ikke nødvendig.

Nødvendige materialer som ikke følger med

Se "Bruk av BOND-reagenser" i BOND-brukerdokumentasjonen for å finne en fullstendig liste over materialer som trengs for behandling av prøvemateriale og immunhistokjemisk farging ved bruk av BOND-systemet.

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevares ved 2–8 °C. Må ikke brukes etter utløpsdatoen angitt på beholderens etikett.

Tegnene som indikerer forurensning og/eller ustabilitet i Cytokeratin HMW (34βE12) er: turbiditet av løsningen, luktvikling og tilstedeværelse av bunnfall.

Returner til 2–8 °C umiddelbart etter bruk.

Andre oppbevaringsforhold enn de som er angitt ovenfor må verifiseres av brukeren¹.

Forholdsregler

- Dette produktet er beregnet for in vitro-diagnostisk bruk.
- Konsentrasjonen av ProClin[®] 950 er 0,35 %. Det inneholder den aktive ingrediensen 2-metyl-4-isotiazolin-3-on, og kan forårsake irritasjon på hud, øyne, slimhinner og øvre luftveier. Bruk engangshansker ved håndtering av reagenser.
- Hvis du ønsker et eksemplar av sikkerhetsdatabladet, kan du kontakte din lokale forhandler eller regionkontoret til Leica Biosystems, eller du kan besøke Leica Biosystems' nettsted på www.LeicaBiosystems.com.
- Prøvematerialer, før og etter fiksering, og alle materialer som er utsatt for dem, skal behandles som om de kan overføre smitte og avhendes med riktige forholdsregler². Reagenser skal aldri pipetteres med munnen, og unngå at reagenser eller prøvematerialer kommer i kontakt med hud eller slimhinner. Hvis reagenser eller prøvematerialer kommer i kontakt med følsomme områder, skyll med rikelige mengder vann. Oppsøk lege.
- Se lokale, regionale eller statlige forskrifter for avfallshåndtering av eventuelle potensielle giftkomponenter.
- Minimer mikrobiell kontaminering av reagenser, ellers kan det forekomme en økning i uspesifikk farging.
- Demaskering, inkuberingsstider eller temperaturer annet enn det som er angitt, kan gi unøyaktige resultater. Enhver slik endring må valideres av brukeren.

Bruksanvisning

Det primære antistoffet cytokeratin HMW (34βE12) er utviklet for bruk med det automatiserte BOND-systemet i kombinasjon med BOND Polymer Refine Detection. Anbefalt fargingsprotokoll for cytokeratin HMW (34βE12) primært antistoff er IHC Protocol F. Enzymforbehandling anbefales med bruk av BOND Enzyme 1 i 5 minutter.

Teknisk merknad

Når prostatavev skal farges, kan bruken av en dobbel demaskeringsteknikk, slik som varmeindusert epitop demaskering med BOND Epitome Retrieval Solution 1 i 5 minutter, etterfulgt av enzymforbehandling med BOND Enzyme (1 dråpe med enzymkonsentrat i 21 ml fortynningsmiddel) i 5 minutter, forbedre fargingen av basale epiteliumceller. Men dobbel demaskering kan «over-digest», hvis dette skjer, kan det være nødvendig med en mer fortynnet enzymløsning. Brukeren må validere optimale forhold for dobbel demaskering på en serie med normale, hyperplastiske og malignante prostatatiffeller.

Forventede resultater

Normalvev

Klon 34βE12 detekterer de humane cytokeratin intermediære filamentproteinene 1, 5, 10 og 14. Den farget alle lag av plateepitulum i hud, spiserør, livmorhals og mandel. I spiserøret ble de observert farging av slimkjertlene i submukosa. Noen pneumocytter og bronkial epitelium ble farget i normale lunger. Den reagerte også med noen kanalceller i normal bukspyttkjertel, bryst og den submandibulære kjertelen. Basale epiteliumceller ble farget i bryster, spiserør, den submandibulære kjertelen og prostata. Det var også farging av mesotelceller i navlestrengen, epitelceller og Hassalls knuter i brisselen og svært svak farging av sporadiske galleganger i normal lever. Hepatocytter ble ikke farget. Ingen farging ble observert i adrenal, nyre, hjerne, tyntarm, tykktarm, mage, hjerte, milt, skjelettmuskel, testikkel, livmor, eggstokk, skjoldbruskens biskjoldbruskkjertel, beinmarg, perifer nerve eller hypofyse (n = 83).

Svulstvev

Klon 34βE12 farget 30/30 skiveepitelkarsinomer, inkludert de i hud 22/22, spiserør 2/2, strupehode 2/2, lunge 2/2, og livmor 2/2. Farging ble også observert i basalcellekarsinomer i hud 25/25, ductkarsinomer i brystet 1/2, gastrisk adenokarsinom 1/2, bukspyttkjertel adenokarsinom 1/2, metastatisk karsinom i lymfeknute 1/2, og kolangiokarsinom 1/2. Ingen reaksjon ble observert i en rekke andre svulster inkludert melanomer, glioblastomer, lymfomer, skjoldbruskkarsinomer, overgangsepitelkarsinomer, mukinøs cystadenokarsinomer, hepatocellulære karsinomer, nyrecellekarsinomer og adenokarsinomer i prostata, tykktarm og rektum (n = 29).

Cytokeratin HMW (34βE12) anbefales til bruk som en del av et antistoffpanel for karakterisering av skvamøse og duktale karsinomer som kommer fra komplekse epitel og er verdifull for differensiering av godartede og ondartede små-acinuslesjoner i prostatakjertelen.

Produktspesifikke begrensninger

Cytokeratin HMW (34βE12) har blitt optimalisert hos Leica Biosystems til bruk med BOND Polymer Refine Detection og BOND hjelpereagenser. Brukere som avviker fra de anbefalte testprosedyrene, må ta ansvaret for tolkningen av pasientresultatene under disse forholdene. Protokolltidene kan variere pga. variasjon i vevsfiksering og effektiviteten til antigenforsterkningen, og må fastslås empirisk. Det skal brukes negative reagenskontroller når demaskeringsforhold og protokolltider optimeres.

Feilsøking

Se referanse 3 for utbedringstiltak.

Kontakt din lokale forhandler eller regionale kontor for Leica Biosystems for rapportering av uvanlig misfarging.

Mer informasjon

Mer informasjon om immunfarging med BOND-reagenser, under overskriftene Prinsipp for prosedyren, Nødvendige materialer, Preparering av prøvemateriale, Kvalitetskontroll, Analyseverifisering, Tolkning av farging, Symbolforklaring på etiketter og Generelle begrensninger, finner du under "Bruk av BOND-reagenser" i BOND-brukerdokumentasjonen.

Bibliografi

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
 2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
 3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
 4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
 5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
 6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
 7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody-A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
 8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.
- ProClin® 950 er et varemerke for Supelco, en del av Sigma-Aldrich Corporation.

Utstedelsesdato

11 september 2018

BOND™ Kullanıma Hazır Primer Antikor Cytokeratin HMW (34βE12)

Katalog No: PA0134

Kullanım Amacı

Bu reaktif, in vitro diagnostik kullanım içindir.

Cytokeratin HMW (34βE12) monoklonal antikor, otomatik BOND sistemi (Leica BOND-MAX sistemini ve Leica BOND-III sistemini içerir) kullanılarak immünohistokimyasal boyama yoluyla formalinle fikse edilmiş, parafine gömülmüş dokuda insan sitokeratin 1, 5, 10 ve 14'ün ışık mikroskopisiyle kalitatif tanımlanmasında kullanılır.

Herhangi bir boyamanın veya boyama yokluğunun klinik yorumu, morfolojik çalışmalar ve uygun kontrollerle tamamlanmalıdır ve nitelikli bir patolog tarafından hastanın klinik öyküsü ve diğer tanı testleri bağlamında değerlendirilmelidir.

Özet ve Açıklama

İmmünohistokimyasal teknikler, dokularda ve hücrelerde antijen varlığını göstermek amacıyla kullanılabilir (bkz. BOND kullanıcı belgenizdeki "BOND Reaktiflerinin Kullanımı" bölümü). Cytokeratin HMW (34βE12) primer antikor, BOND Polymer Refine Detection ile kullanım için spesifik olarak optimize edilmiş kullanıma hazır üründür. İnsan sitokeratin 1, 5, 10 ve 14'ün gösterimi öncelikle Cytokeratin HMW'nin (34βE12) kesite bağlanmasının sağlanması ve sonrasında saptama sisteminde tedarik edilmiş reaktiflerin kullanılarak bu bağlanmanın görüntülenmesi yoluyla elde edilir. Bu ürünler, otomatik BOND sistemiyle birlikte kullanıldıklarında, insan kaynaklı hata olasılığını azalttıkları gibi tekil reaktif seyreltisinin, manuel pipetlemenin ve reaktif uygulamasının neden olduğu değişkenliği de azaltır.

Sağlanan Reaktifler

Cytokeratin HMW (34βE12), doku kültürü süpernatantı olarak üretilen fare anti insan monoklonal antikordur ve koruyucu olarak %0,35 ProClin™ 950 içeren, taşıyıcı proteine sahip Tris tamponlu salinde tedarik edilir.

Toplam hacim = 7 mL.

Klon

34βE12.

İmmünojen

İnsan stratum corneumdan ekstrakte edilen çözündürülmüş keratin.

Spesifiklik

Moleküler ağırlıkları sırasıyla 68, 58, 56,5 ve 50 kD olan insan sitokeratinleri 1, 5, 10 ve 14.

Alt sınıf

IgG1.

Toplam Protein Konsantrasyonu

Yaklaşık 10 mg/mL.

Antikor Konsantrasyonu

ELISA tarafından belirlendiği gibi 0,16 mg/L'ye eşit veya bu değerden yüksek.

Seyreltme ve Karıştırma

Cytokeratin HMW (34βE12) primer antikor, BOND sisteminde kullanılmak üzere optimum düzeyde seyreltilmiştir. Bu reaktif için sulandırma, karıştırma, seyreltme veya titrasyon gerekli değildir.

Gereken Ancak Sağlanmayan Materyaller

BOND sistemi kullanılarak gerçekleştirilen örnek işleme ve immünohistokimyasal boyama için gerekli materyallerin tam listesi için BOND kullanıcı belgenizdeki "BOND Reaktiflerinin Kullanımı" bölümüne bakın.

Saklama ve Stabilite

2-8°C'de saklayın. Kaptaki etikette belirtilen son kullanma tarihi geçtiyse kullanmayın.

Cytokeratin HMW'de (34βE12) kontaminasyona ve/veya instabiliteye işaret eden belirtiler şunlardır: Çözeltide bulanıklıklaşma, koku gelişimi ve presipitat oluşumu.

Kullanımdan hemen sonra 2-8°C'ye geri alın.

Yukarıda belirtilenlerin dışındaki saklama koşulları kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır¹.

Önlemler

- Bu ürün, in vitro diagnostik kullanım içindir.
- ProClin® 950 konsantrasyonu %0,35'tir. Etkin madde olarak 2-metil-4-izotiazolin-3-bir içerir ve ciltte, gözlerde, mukoza membranlarında ve üst solunum yolunda iritasyona neden olabilir. Reaktifleri kullanırken tek kullanımlık eldiven takın.
- Malzeme Güvenlik Bilgileri Formunun bir kopyası için yerel distribütörünüzle veya Leica Biosystems bölge ofisiyle iletişime geçebilir ya da bunun yerine Leica Biosystems'in Web sitesini ziyaret edebilirsiniz: www.LeicaBiosystems.com.
- Fiksasyondan önce ve sonra örnekler ve bunlara maruz kalmış bütün materyaller, enfeksiyon yayabilecekmiş gibi işlem görmelidir ve gerekli önlemler alınarak imha edilmelidir². Reaktifleri hiçbir zaman ağızla pipetlemeyin. Cildin ve mukoz membranların reaktifler ve örneklerle temas etmesini önleyin. Reaktifler veya örnekler hassas bölgelere temas ederse bol miktarda suyla yıkayın. Tıbbi yardım isteyin.
- Potansiyel olarak toksik bileşenlerin atılmasıyla ilgili yerel, ulusal veya bölgesel düzenlemeleri dikkate alın.
- Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonunu minimize edin, aksi takdirde spesifik olmayan boyamada artış meydana gelebilir.
- Belirtilenlerin dışındaki geri kazanım, inkübasyon süreleri veya sıcaklıklar hatalı sonuçlara neden olabilir. Bu tür herhangi bir değişiklik kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Kullanım Talimatları

Cytokeratin HMW (34βE12) primer antikor, BOND Polymer Refine Detection ile kombine olarak otomatik BOND sisteminde kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Cytokeratin HMW (34βE12) için önerilen boyama protokolü IHC Protocol F'tir. BOND Enzyme 1 kullanılarak 5 dakika enzim ön işlemleri önerilmektedir.

Teknik Not

BOND Enzyme kullanılan 5 dakika boyunca Enzim ön işlemini takiben gerçekleştirilen BOND Epitope Retrieval Solution 1'le (21 mL seyreltiye 1 damla Enzim konsantrasyonu) 5 dakika boyunca ısı indüklü epitop alımı gibi ikili geri kazanım teknikleri, prostatik doku boyanırken bazal epitelin boyanmasını iyileştirebilir. Yine de ikili geri kazanım, aşırı parçalanma oluştuğu takdirde daha çok seyreltilmiş enzim gözetilmesini gerektirecek şekilde aşırı parçalanmaya neden olabilir. Normal, hiperplastik ve malign prostat vaka serilerinde gerçekleştirilen ikili geri kazanımın optimum koşulları kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Öngörülen Sonuçlar

Normal Dokular

Klon 34βE12, insan sitokeratin ara filamentöz proteinler 1, 5, 10 ve 14'ü saptar. Deride, özefagusta, servikte ve tonsildeki skuamöz epitelin tüm katmanlarını boyamıştır. Özefagusta, submukozadaki seromukoz bezlerinin boyanması gerçekleşmiştir. Bazı pnömositler ve bronşiyal epiteliler normal akciğerde boyanmıştır. Ayrıca, normal pankreas, meme ve submendişuler bez duktal hücrelerin bazılarında reaksiyona girmiştir. Bazal epitel hücreleri memede, özefagusta, submendişuler bezde ve prostatta boyanmıştır. Umbilikal kordondaki mezotelyal hücreler, timustaki epitelial hücreler ve Hassall cisimcikleri de boyanmıştır; normal karaciğerdeki safra kanalları ise arada bir zayıf bir şekilde boyanmış; buna karşılık hepatositler boyanmamıştır. Adrenalde, böbrekte, beyinde, ince bağırsakta, kolonda, midede, kalpte, dalakta, iskelet kasında, testiste, uterusu, overde, tiroide, paratiroidde, kemik iliğinde, periferik sinirde ve hipofizde boyama gözlemlenmemiştir (n=83).

Tümör Dokuları

Klon 34βE12, deri 22/22, özefagus 2/2, larinks 2/2, akciğer 2/2 ve uterus 2/2 dahil olmak üzere 30/30 skuamöz hücreli kansinonları boyamıştır. Deri 25/25, meme duktal karsinom 1/2, gastrik adenokarsinom 1/2, pankreatik adenokarsinom 1/2, lenf nodundaki metastatik karsinom 1/2 ve kolanjiyokarsinom 1/2 bazal hücreli karsinonlarda da boyama gözlemlenmiştir. Melanom, gliyoblastom, lenfoma, tiroid karsinom, transizyonel karsinom, müsinöz kistadenokarsinom, hepatosellüler karsinom, renal hücreli karsinom ve prostat, kolon ve rektum adenokarsinom dahil olmak üzere diğer tümör çeşitlerinde reaktivite gözlemlenmemiştir (n=29).

Kompleks epiteliyadan kaynaklanan skuamöz ve duktal karsinonların karakterizasyonu için antikor panelinin bir parçası olarak kullanılması önerilen Cytokeratin HMW (34βE12), prostat bezindeki iyi ve kötü huylu küçük asinar lezyonları birbirinden ayırt etmek için de kullanılır.

Ürüne Özgü Sınırlamalar

Cytokeratin HMW (34βE12), BOND Polymer Refine Detection'la ve BOND yardımcı reaktiflerle kullanılmak üzere Leica Biosystems'ta optimize edilmiştir. Önerilen test prosedürlerinden sapan kullanıcılar bu şartlar altında hasta sonuçlarının yorumlanmasının sorumluluğunu almaktadır. Doku fiksasyonu ve antijen alımının etkinliğindeki değişkenlikler nedeniyle protokol süreleri değişiklik gösterebilir ve bu süreler ampirik olarak belirlenmelidir. Geri kazanım koşulları ve protokol süreleri optimize edilirken negatif reaktif kontrolleri kullanılmalıdır.

Sorun Giderme

İyileştirici işlem için referans 3'e bakın.

Olağan dışı bir boyamayı bildirmek için yerel distribütörünüzle veya Leica Biosystems bölge ofisiyle iletişime geçin.

Daha Fazla Bilgi

BOND reaktifleriyle immüno-boyama ile ilgili daha fazla bilgi, BOND kullanıcı belgenizdeki "BOND Reaktiflerinin Kullanımı" bölümündeki Prosedür İlikesi, Gereken Materyaller, Örnek Hazırlama, Kalite Kontrol, Miktar Tayini Doğrulaması, Boyamanın Yorumlanması, Etiketlerdeki Sembol Açıklamaları ve Genel Sınırlamalar başlıkları altında yer almaktadır.

Kaynakça

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody-A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.

ProClin® 950, Sigma-Aldrich Corporation'a bađlı Supelco'nun ticari markasıdır.

Düzenlenme Tarihi

11 Eylül 2018

Готово за употреба първично антитяло BOND™

Cytokeratin HMW (34βE12)

Каталожен №: PA0134

Предназначение

Този реактив е за употреба при in vitro диагностика.

Моноклоналното антитяло Cytokeratin HMW (34βE12) е предназначено за качествената идентификация чрез оптична микроскопия на човешки цитокератини 1, 5, 10 и 14 във фиксирана с формалин, вградена в парафин тъкан чрез имунохистохимично оцветяване, използвайки автоматизираната система BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III).

Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания и съответните контроли и да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

Кратко описание и обяснение

Могат да бъдат използвани имунохистохимични техники за демонстриране на наличието на антигени в тъканта и клетките (вж. „Употреба на реактиви BOND“ във Вашата документация за потребителя на BOND). Първичното антитяло Cytokeratin HMW (34βE12) е готов за употреба продукт, който е специално оптимизиран за използване с BOND Polymer Refine Detection. Показването на човешки цитокератини 1, 5, 10 и 14 се постига, като първо се позволява свързването на Cytokeratin HMW (34βE12) с участъка, след което това свързване се визуализира, като се използват реактивите, предоставени в системата за откриване. Употребата на тези продукти заедно с автоматизираната система BOND намалява възможността от човешка грешка и присъщата изменчивост в резултат на отделно разреждане на реактиви, ръчно пипетиране и прилагане на реактиви.

Предоставени реактиви

Cytokeratin HMW (34βE12) е мише античовешко моноклонално антитяло, получено като пречистен супернатант от тъканна култура и доставено в триметамин-буфериран физиологичен разтвор с протеинов носител, съдържащ 0,35% ProClin™ 950 като консервант.

Общ обем = 7 mL.

Клонинг

34βE12.

Имуноген

Стабилизирани кератин, извлечен от човешки рогов слой.

Специфичност

Човешки цитокератини 1, 5, 10 и 14 с молекулни тегла 68, 58, 56.5 и 50 kD съответно.

Подклас

IgG1.

Обща концентрация на протеин

Приблизително 10 mg/mL.

Концентрация на антитела

По-висока или равна на 0,16 mg/L, както е определено от ELISA.

Разреждане и смесване

Първичното антитяло Cytokeratin HMW (34βE12) е оптимално разрежено за употреба със системата BOND. Не се изисква възстановяване, смесване, разреждане или титриране на този реактив.

Необходим, но непредоставени материали

Вижте „Употреба на реактиви BOND“ във Вашата документация за потребителя на BOND за пълен списък от материалите, необходими за третиране на спесимени и имунохистохимично оцветяване, използвайки системата BOND.

Съхранение и стабилност

Да се съхранява при температура 2 – 8 °C. Не използвайте след срока на годност, указан на етикета на контейнера.

Признаците за замърсяване и/или нестабилност на Cytokeratin HMW (34βE12) са: мътност на разтвора, проява на мирис и наличие на утайка.

Да се върне на температура 2 – 8 °C веднага след употреба.

Другите условия на съхранение, освен посочените по-горе, трябва да бъдат проверени от потребителя¹.

Предпазни мерки

- Този продукт е предназначен за in vitro диагностика.
- Концентрацията на ProClin® 950 е 0,35%. Съдържа активната съставка 2-метил-4-изотиазолин-3-он и може да причини дразнене на кожата, очите, лигавиците и горните дихателни пътища. При работа с реактивите да се носят ръкавици за еднократна употреба.
- За да получите копие на информацияния лист за безопасност на материалите, свържете се с Вашия местен дистрибутор или регионален офис на Leica Biosystems или посетете уебсайта на Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com.
- Спесимените преди и след фиксация, както и всички материали, изложени на тяхното влияние, трябва да бъдат третирани като способни да предадат инфекция и да бъдат изхвърлени, прилагайки съответните предпазни мерки². Никого не пипетвайте реактиви с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реактиви или спесимени. В случай че реактиви или спесимени влязат в контакт с чувствителни зони, да се измият с обилно количество вода. Потърсете медицинска помощ.
- Консултирайте се с федералните, държавните или местните регламенти относно изхвърлянето на потенциално токсични компоненти.
- Свеждайте до минимум микробната контаминация на реактивите, иначе може да се появи увеличаване на неспецифичното оцветяване.
- Извличането, инкубационните времена или температури, различни от посочените, могат да доведат до погрешни резултати. Всякакви подобни промени трябва да бъдат валидирани от потребителя.

Инструкции за употреба

Първичното антиядло Cytokeratin HMW (34βE12) е разработено за употреба с автоматизираната система BOND в комбинация с BOND Polymer Refine Detection. Препоръчителният протокол за оцветяване за първичното антиядло Cytokeratin HMW (34βE12) е IHC Protocol F. Препоръчва се предварително третиране на ензимите, използвайки BOND Enzyme 1 за 5 минути.

Технически бележки

При оцветяване на тъкан от простатата използването на техниката за двойно извличане като термично индуцирано извличане на епител с BOND Epitope Retrieval Solution 1 е продължение на 5 минути, последвано от предварително третиране на ензимите с BOND Enzyme (1 капка от Enzyme Concentrate в 21 mL разредител) за 5 минути, може да подобри оцветяването на базалния епител. Двойното извличане обаче може да доведе до прекомерно смилане, ако се получи такова прекомерно смилане може да се наложи използването на по-разреден ензимен разтвор. Потребителят следва да валидира оптималните условия за двойно извличане на серия от нормални, хиперпластични и злокачествени случаи на простатата.

Очаквани резултати

Нормални тъкани

Клонингът 34βE12 открива човешки цитокератинови интермедиерни филаментови протеини 1, 5, 10 и 14. Той оцветява всички слоеве на сквамозния епител в кожата, хранопровода, маточната шийка и сливиците. В хранопровода имаше оцветяване на серомукозните жлези в субмукозата. Някои пневмоцити и бронхиален епител се оцветяват в нормалния бял дроб. Той реагира и с някои дуктални клетки на нормалния панкреас, гърдата и субмундибуларната жлеза. Базалните епителни клетки се оцветяват в гърдата, хранопровода, субмундибуларната жлеза и простатата. Оцветяване имаше и на мезотелиални клетки в пълната връв, епителни клетки и Хасалевите телца на тимуса и много слабо оцветяване на някои жлъчни пътища в нормален черен дроб; хепатоцитите не се оцветяваха. Не се наблюдава оцветяване в надбъбречни жлези, бъбреци, мозък, тънко черво, дебело черво, стомах, сърце, далак, скелетни мускули, тестиси, матка, яйчници, щитовидна жлеза, паразитовидна жлеза, костен мозък, периферен нерв или хипофиза (n=83).

Туморни тъкани

Клонинг 34βE12 оцветява 30/30 сквамозноклетъчни карциноми, включително онези на кожата 22/22, хранопровод 2/2, ларинкс 2/2, бял дроб 2/2 и матка 2/2. Оцветяване се наблюдава и при базалноклетъчен карцином на кожата 25/25, дуктален карцином на гърдата 1/2, стомашен аденокарцином 1/2, аденокарцином на панкреаса 1/2, метастатичен карцином в лимфен възел 1/2 и холангиокарцином 1/2. Не се наблюдава реактивност при редица други тумори, включително меланоми, глиобластоми, лимфоми, карциноми на щитовидната жлеза, преходноклетъчни карциноми, муцинозни цистаденокарциноми, хепатоцелуларни карциноми, бъбречноклетъчни карциноми и аденокарциноми на простатата, дебелото черво и ректума (n=29).

Сytokeratin HMW (34βE12) се препоръчва за употреба като част от панел от антитела за характеризирането на сквамозни и дуктални карциноми, възникващи от комплексни епители, и е полезен при диференцирането на доброкачествени и злокачествени малки ацинарни лезии на простатната жлеза.

Специфични ограничения на продукта

Cytokeratin HMW (34βE12) е оптимизиран от Leica Biosystems за употреба с BOND Polymer Refine Detection и спомогателните реактиви BOND. Потребителите, които се отклоняват от препоръчаните процедури за тестване, трябва да поемат отговорност за интерпретацията на резултатите на пациентите при тези обстоятелства. Времетраенето на протоколите може да варира поради вариацията във фиксацията на тъканта и ефективността на усилването на антигена и трябва да се определи емпирично. Трябва да се използват негативни контроли на реактивите при оптимизиране на условията на извличане и времетраенето на протоколите.

Отстраняване на неизправности

Разгледайте референция 3 за коригиращи действия.

Свържете се с Вашия местен дистрибутор или регионалния офис на Leica Biosystems, за да съобщите за необичайно оцветяване.

Допълнителна информация

Допълнителна информация за имунооцветяване с реактиви BOND можете да намерите в „Употреба на реактиви BOND“ във Вашата документация за потребителя на BOND под заглавията „Принцип на процедурата“, „Необходими материали“, „Приготвяне на спесимен“, „Контрол на качеството“, „Потвърждаване на анализа“, „Интерпретация на оцветяването“, „Легенда на символите на етикетите“ и „Общи ограничения“.

Библиография

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
 2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
 3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
 4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
 5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
 6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
 7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody-A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
 8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.
- ProClin® 950 е търговска марка на Supelco, част от Sigma-Aldrich Corporation.

Дата на издаване

11 Септември 2018

BOND™ azonnal használható elsődleges antitest

Cytokeratin HMW (34βE12)

Katalógusszám: PA0134

Alkalmazási terület

Ez a reagens in vitro diagnosztikai használatra szolgál.

A Cytokeratin HMW (34βE12) monoklonális antitest a humán citokeratin 1, 5, 10 és 14 fénymikroszkóppal történő kvalitatív azonosítására szolgál formalinban fixált, paraffinba ágyazott szövetben, immunhisztokémiai festés útján, automata BOND rendszer (igy a Leica BOND-MAX rendszer vagy a Leica BOND-III rendszer) használatával.

Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegészíteni, valamint az értékelést a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

Összefoglalás és magyarázat

Az immunhisztokémiai módszerek antigének jelenlétének kimutatására szolgálnak szövetekben és sejtekben (lásd a „BOND reagensok használata” című részt a BOND felhasználói dokumentációban). A Cytokeratin HMW (34βE12) elsődleges antitest használatra kész termék, amely kifejezetten a BOND Polymer Refine Detection kittel való használatra lett optimalizálva. A humán citokeratin 1, 5, 10 és 14 kimutatása úgy történik, hogy előbb lehetővé kell tenni a Cytokeratin HMW (34βE12) kötődését a metszethez, majd ez a kötődés megjeleníthető a detektáló rendszerben található reagensekkel. Ha ezeket a termékeket az automata BOND rendszerrel együtt használják, csökken az emberi hibák lehetősége, és mérsékelhetők az egyes reagensek hígításából, a manuális pipettázásból és a reagens alkalmazásából származó eredendő eltérések.

Biztosított reagensek

A Cytokeratin HMW (34βE12) egér eredetű, antihumán monoklonális antitest, amelyet szövettenyésztet felülűszöként állítanak elő. Kiszárlása: tris-pufferelt sóoldatban, hordozófehérjével és tartósítószerként 0,35% ProCln™ 950-nel.

Teljes mennyiség = 7 ml.

Klón

34βE12.

Immunogén

Humán szarurétegből kinyert, oldott kreatin.

Specifititás

Humán citokeratin 1 (68 kD), 5 (58 kD), 10 (56,5 kD) és 14 (50 kD).

Alosztály

IgG1.

Összfehérje-koncentráció

Kb. 10 mg/ml.

Antitest-koncentráció

Legalább 0,16 mg/l ELISA módszerrel meghatározva.

Hígítás és elegyítés

A Cytokeratin HMW (34βE12) elsődleges antitest hígítása optimális a BOND rendszerrel való használatához. Nem szükséges a reagens feloldása, elegyítése, hígítása vagy titrálása.

Szükséges, de nem biztosított anyagok

A minta kezeléséhez és a BOND rendszerrel végzett immunhisztokémiai festéshez szükséges anyagok teljes listáját lásd a BOND felhasználói dokumentáció „BOND reagensok használata” című részében.

Tárolás és stabilitás

2–8 °C-on tárolandó. Ne használja fel a tartály címkéjén feltüntetett lejárati dátum után.

A Cytokeratin HMW (34βE12) szennyezettségére és/vagy instabilitására utaló jelek a következők: az oldat zavarossága, szag kialakulása és csapadék jelenléte.

Felhasználás után azonnal tegye vissza 2–8 °C közötti hőmérsékletre.

A fentiekben előírtaktól eltérő tárolási feltételeket a felhasználóknak ellenőriznie kell¹.

Óvintézkedések

- Ez a termék in vitro diagnosztikai használatra szolgál.
- A ProClin[®] 950 koncentrációja 0,35%. A termék 2-metil-4-izotiazolin-3-on hatóanyagot tartalmaz, amely a bőr, a szem, a nyálkahártyák és a felső légutak irritációját okozhatja. A reagensok kezeléséhez viseljen egyszer használatos kesztyűt.
- Az anyagbiztonsági adatlap igényléséhez forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához, vagy keresse fel a Leica Biosystems weboldalát a www.LeicaBiosystems.com címen.
- A mintákat fixálás előtt és után, valamint a velük érintkező összes anyagot fertőtlenítésre képes anyagként kell kezelni, és megfelelő körültekintéssel kell ártalmatlanítani². Soha ne pipettázza szájjal a reagenseket, továbbá kerülje a bőr és a nyálkahártyák érintkezését a reagensekkel és a mintákkal. Ha a reagensok vagy minták érzékeny területtel érintkeznek, bő vízzel mossa le az érintett területet. Forduljon orvoshoz.
- Minden potenciálisan toxikus összetevő ártalmatlanításával kapcsolatban kövesse a szövetségi, állami és helyi előírásokat.
- Minimálisra kell csökkenteni a reagensok mikrobiális szennyeződését, különben megnövekedhet a nem specifikus festődés.
- A megadottaktól eltérő feltérési körülmények, inkubációs idők és hőmérsékletek hibás eredményekhez vezethetnek. A felhasználónak minden ilyen jellegű változtatást validálnia kell.

Használati útmutató

A Cytokeratin HMW (34βE12) elsődleges antitest automata BOND rendszerrel és a BOND Polymer Refine Detection kittel való együttes használatra lett kifejlesztve. A Cytokeratin HMW (34βE12) elsődleges antitesthez javasolt festési protokoll az „F” IHC-protokoll. Az enzimes előkezeléshez a BOND Enzyme 1 oldat 5 percig tartó alkalmazása javasolt.

Technikai megjegyzés

Prosztataszövet festések kettős feltérési módszer alkalmazása – pl. BOND Epitope Retrieval Solution 1 oldattal végzett 5 perces hőindukált epitópfeltérás, majd BOND Enzyme (1 csepp enzimm koncentrárum 21 ml hígítóba) használatával végzett 5 perces enzimes előkezelés – javíthatja a bazális epithelium festődését. Kettős feltérás alkalmazása esetén azonban előfordulhat tülemésztés, ilyen esetben nagyobb mértékben hígított enzimotoad használat lehet szükséges. A felhasználónak normál, hiperplasztikus és rosszindulatú prosztataszövetek használatával validálnia kell a kettős feltérás optimális feltételeit.

Várható eredmények

Normál szövetek

A 34βE12 klón a humán citokeratin 1, 5, 10 és 14 intermedier filamentum fehérjéket mutatja ki. Megfestette a bőr, a nyelőlcső, a méhnyak és a tonsilla laphámjának minden rétegét. A nyelőlcső esetében megfestette a nyálkahártya alatti szeromukózus mirigyeket. A normál tüdőszövetben megfestődött néhány pneumocita és bronchialis hámsejt. Reakcióba lépett továbbá a normál hasnyálmirigy, emlő és áll alatti mirigy néhány dukális sejtjével is. Az emlő, a nyelőlcső, az áll alatti mirigy és a prosztata bazális hámsejtjei megfestődtek. Ugyancsak megfestődtek a köldökzsinórban lévő mesothel sejtek, a csecsémőmirigyben lévő hámsejtek és Hassall-tesetek, és a normál májszövet epevezetékei is gyenge festődést mutattak esetenként; a hepatociták nem festődtek meg. A mellékvese, vese, agy, vékonybél, vastagbél, gyomor, szív, lép, vázizom, herék, méh, petefészek, pajzsmirigy, mellékpajzsmirigy, csontvelő, perifériás idegek és a hipofízis esetében nem volt megfigyelhető festődés (n=83).

Tumorszövetek

A 34βE12 klón festődést mutatott laphámsejtes karcinóma esetén 30-ból 30 esetben, ezek közé a bőr (22/22), a nyelőlcső (2/2), a gége (2/2), a tüdő (2/2) és a méh (2/2) laphámsejtes karcinómája tartozott. Festődés volt megfigyelhető a bőr bazális sejt karcinómája esetén 25-ből 25 esetben, az emlő dukális karcinómája esetén 2-ből 1 esetben, gyomor adenokarcinóma esetén 2-ből 1 esetben, hasnyálmirigy adenokarcinóma esetén 2-ből 1 esetben, metasztatikus nyirokcsomó-karcinóma esetén 2-ből 1 esetben és kolangiokarcinóma esetén 2-ből 1 esetben. További különböző típusú daganatok esetében nem volt megfigyelhető reaktivitás, ezek közé melanómák, glioblasztómák, limfómák, pajzsmirigy-karcinómák, átmeneti sejt karcinómák, mucinózus cisztadenokarcinómák, hepatocelluláris karcinómák, vesesejtes karcinómák és a prosztata, vastagbél és végbél adenokarcinómája tartozott (n=29).

A Cytokeratin HMW (34βE12) alkalmazása többretegű hám eredetű laphámsejtes vagy dukális karcinóma jellemzésére szolgáló antitestpanel részeként javasolt, és értékes eszközként szolgál a prosztata jó- és rosszindulatú, kis acinusú elváltozásainak megkülönböztetésére.

Termékspecifikus korlátozások

A Cytokeratin HMW (34βE12) terméket a Leica Biosystems a BOND Polymer Refine Detection kittel és a BOND segédreagensekkel való használatra optimalizálta. A tesztelési eljárásoktól való eltérés esetén a felhasználó felelőssége a betegeredmények értelmezése az adott körülmények között. A protokoll végrehajtásához szükséges idő a szövet fixálásának és az antigén-erősítés hatékonyságának eltérései miatt változó lehet, ezért tapasztalati alapon történő meghatározást igényel. A feltérési körülmények és a protokollidók optimalizálásakor negatív reagenskontrollokat kell használni.

Hibaelhárítás

A javító intézkedéseket lásd a 3. hivatkozásban.

Szokatlan festődés bejelentéséhez forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához.

További információk

A BOND reagensekkel végzett immunfestésre vonatkozó további információkat a BOND felhasználói dokumentáció „BOND reagensok használata” című részében talál a következő szakaszokban: Az eljárás elve, Szükséges anyagok, A minták előkészítése, Minőség-ellenőrzés, A teszt ellenőrzése, A festődés értelmezése, A címkéken szereplő szimbólumok magyarázata és Általános korlátozások.

Szakirodalom

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody-A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.

A ProClin® 950 a Sigma-Aldrich Corporation részét képező Supelco védjegye.

Kiadás dátuma

11 szeptember 2018

Anticorpul primar gata de utilizare BOND™

Cytokeratin HMW (34βE12)

Nr. catalog: PA0134

Utilizare prevăzută

Acest reactiv este destinat utilizării pentru diagnosticare in vitro.

Anticorpul monoclonal Cytokeratin HMW (34βE12) este destinat utilizării pentru identificarea calitativă prin microscopie optică citokeratinelor umane 1, 5, 10 și 14 în țesut fixat în formalină, încorporat în parafină, prin colorare imunohistochimică utilizând sistemul automat BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III).

Interpretarea clinică a oricărei colorații sau a absenței acesteia trebuie verificată prin studii morfologice, folosind proceduri de control adecvate, și trebuie evaluată în contextul istoricului clinic al pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

Rezumat și explicație

Pot fi utilizate tehnici imunohistochimice pentru a demonstra prezența antigenilor în țesut și celule (a se vedea „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația de utilizare BOND). Anticorpul primar Cytokeratin HMW (34βE12) este un produs gata de utilizare care a fost optimizat în mod specific pentru utilizarea cu BOND Polymer Refine Detection. Demonstrarea prezenței citokeratinelor umane 1, 5, 10 și 14 este realizată mai întâi prin permiterea legării Cytokeratin HMW (34βE12) la secțiune și apoi prin vizualizarea acestei legări utilizând reactivii furnizați în sistemul de detecție. Utilizarea acestor produse, în combinație cu sistemul automat BOND, reduce posibilitatea producerii de erori umane și variabilitatea inerentă care rezultă din diluția individuală a reactivului, pipetarea manuală și aplicarea reactivului.

Reactivi furnizați

Cytokeratin HMW (34βE12) este un anticorp monoclonal anti-uman de șoarece produs ca supernatant de cultură tisulară și furnizat în soluție salină tamponată cu trometamină cu proteină purtătoare, care conține 0,35% ProClin™ 950 drept conservant.

Volum total = 7 ml.

Clonă

34βE12.

Imunogen

Keratină solubilizată extrasă din stratul cornos uman.

Specificitate

Citokeratine umane 1, 5, 10 și 14 cu mase moleculare 68, 58, 56,5 și respectiv 50 kD.

Sub-clasă

IgG1.

Concentrație proteină totală

Aproximativ 10 mg/mL.

Concentrație anticorpi

Mai mare sau egală cu 0,16 mg/L, așa cum este determinată prin ELISA.

Diluare și amestecare

Anticorpul primar Cytokeratin HMW (34βE12) este diluat optim pentru utilizare la sistemul BOND. Reconstituirea, amestecarea, diluarea sau titrarea acestui reactiv nu sunt necesare.

Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate

Consultați „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația dumneavoastră de utilizare a sistemului BOND pentru o listă completă a materialelor necesare pentru tratarea speciemenelor și colorarea imunohistochimică utilizând sistemul BOND.

Depozitare și stabilitate

A se depozita la 2–8 °C. A nu se utiliza după data expirării indicată pe eticheta recipientului.

Semnele care indică contaminarea și/sau instabilitatea Cytokeratin HMW (34βE12) sunt: turbiditatea soluției, formarea de mirosuri și prezența precipitatului.

A se returna la 2–8 °C imediat după utilizare.

Alte condiții de depozitare decât cele specificate mai sus trebuie verificate de către utilizator¹.

Precauții

- Acest produs este destinat utilizării pentru diagnosticare in vitro.
- Concentrația de ProClin™ 950 este 0,35%. Acesta conține ingredientul activ 2-metil-4-izotiazolin-3-ona și poate cauza iritarea pielii, ochilor, membranelor mucoase și tractului respirator superior. Purtați mănuși de unică folosință atunci când manipulați reactivii.
- Pentru a obține o copie a fișei tehnice de securitate a materialului, luați legătura cu distribuitorul dvs. local sau cu biroul regional al Leica Biosystems sau, ca alternativă, vizitați site-ul web al Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- Specimenele, înainte și după fixare, precum și toate materialele expuse la acestea, trebuie manipulate ca și când ar avea potențialul de a transmite infecții și trebuie eliminate luând măsurile de precauție adecvate². Nu pipetați niciodată reactivii cu gura și evitați contactul reactivilor și speciemenelor cu pielea și membranele mucoase. Dacă reactivii sau probele vin în contact cu suprafețele sensibile, spălați cu apă din abundență. Solicitați asistență medicală.
- Consultați reglementările naționale, județene sau locale pentru informații privind eliminarea la deșeuri a oricăror componente cu potențial toxic.
- Reduceți la minimum contaminarea microbiană a reactivilor, în caz contrar poate apărea o creștere a colorației nespecifice.
- Timpii sau temperaturile de recuperare, incubaje care diferă de valorile specificate pot genera rezultate eronate. Orice astfel de modificare trebuie validată de către utilizator.

Instrucțiuni de utilizare

Anticorpii primari Cytokeratin HMW (34βE12) a fost dezvoltat pentru utilizare la sistemul automat BOND în combinație cu BOND Polymer Refine Detection. Protocolul de colorare recomandat pentru anticorpii primari Cytokeratin HMW (34βE12) este IHC Protocol F. Se recomandă pretratarea cu enzime utilizând BOND Enzyme 1 timp de 5 de minute.

Notă tehnică

La colorarea țesutului prostatic, utilizarea unei tehnici duble de recuperare, cum ar fi recuperarea indusă de căldură a epitopiilor cu BOND Epitope Retrieval Solution 1 timp de 5 minute, urmată de pretratarea cu enzime utilizând BOND Enzyme (1 picătură de concentrat enzimatic în 21 ml diluant) timp de 5 minute, poate îmbunătăți colorarea epiteliului bazal. Recuperarea dublă poate însă duce la supradigestie, iar dacă se produce supradigestia, poate fi necesară o soluție enzimatică mai diluată. Utilizatorul trebuie să valideze condițiile optime pentru recuperare dublă pe o serie de cazuri de prostată normală, hiperplazică și malignă.

Rezultate așteptate

Țesuturi normale

Clona 34βE12 detectează proteinele filamentoase intermediare de citokeratină umană 1, 5, 10 și 14. A colorat toate straturile epiteliului scuamos în piele, esofag, colul uterin și amigdale. În esofag a avut loc colorarea glandelor seromucoase în submucoasă. Unele pneumocite și epitelul bronhial s-au colorat în plămânul normal. De asemenea a reacționat cu unele celule ductale ale pancreasului, sânelui și glandei submandibulare normale. Celulele epiteliului bazal s-au colorat în sân, esofag, glanda submandibulară și prostată. A avut loc de asemenea colorarea celulelor mezoteliale în cordonul ombilical, a celulelor epiteliale și corpiilor lui Hassall din timus și o colorare foarte slabă ocazională a canalelor biliare în ficatul normal; hepatocitele nu s-au colorat. Nu s-a observat colorare în suprarenale, rinichi, encefal, intestinul subțire, colon, stomac, inimă, splină, mușchi scheletici, testicule, uter, ovare, tiroidă paratiroidă, măduva osoasă, nervii periferici sau pituitară (n=83).

Țesuturi tumorale

Clona 34βE12 a colorat 30/30 carcinoame cu celule scuamoase, incluzând cele ale pielii 22/22, esofagului 2/2, laringelui 2/2, plămânului 2/2 și uterului 2/2. S-a observat colorare și în carcinom cu celule bazale al pielii 25/25, carcinom ductal al sânelui 1/2, adenocarcinom gastric 1/2, adenocarcinom pancreatic 1/2, carcinom metastatic în nodul limfatic 1/2 și colangiocarcinom 1/2. Nu s-a observat vreo reactivitate într-o varietate de alte tumori incluzând melanoame, glioblastoame, limfoame, carcinoame tiroidiene, carcinoame tranzitoriale, cistadenocarcinoame mucinoase, carcinoame hepatocelulare, carcinoame cu celule renale și adenocarcinoame ale prostatei, colonului și rectului (n=29).

Cytokeratin HMW (34βE12) este recomandată pentru utilizare ca parte a unui panel de anticorpi pentru caracterizarea carcinoamelor scuamoase și ductale rezultate din epiteliile complexe și este valoroasă în diferențierea între leziunile mici acinare benigne și maligne ale glandei prostatice.

Restricții specifice produsului

Cytokeratin HMW (34βE12) a fost optimizată la Leica Biosystems pentru utilizarea cu BOND Polymer Refine Detection și cu reactivii auxiliari BOND. Utilizatorii care se abat de la procedurile de testare recomandate trebuie să accepte responsabilitatea pentru interpretarea rezultatelor pacientului în aceste circumstanțe. Timpii protocolului pot varia, datorită variației în fixarea țesutului și eficacității intensificării antigenului, și trebuie să fie determinați empiric. Atunci când se optimizează condițiile de recuperare și timpii protocolului, trebuie să fie utilizați reactivi de control negativ.

Rezolvarea problemelor

Consultați referința 3 pentru acțiuni de remediere.

Contactați distribuitorul dumneavoastră local sau biroul regional al Leica Biosystems pentru raportarea colorării neobișnuite.

Informații suplimentare

Informații suplimentare referitoare la imunocolorația cu reactivii BOND, sub titlurile Principiul procedurii, Materiale necesare, Pregătirea speciemenului, Controlul calității, Verificarea analizei, Interpretarea colorării, Codul simbolurilor de pe etichete și Limitări generale pot fi găsite în „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația dumneavoastră de utilizare a sistemului BOND.

Bibliografie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
 2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
 3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
 4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
 5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
 6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
 7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody-A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
 8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.
- ProClin® 950 este o marcă comercială a Supelco, care face parte din Sigma-Aldrich Corporation.

Data publicării

11 septembrie 2018

Готовое к применению первичное антитело BOND™

Cytokeratin HMW (34βE12)

Номер по каталогу: PA0134

Назначение

Этот реактив предназначен для диагностики in vitro.

Моноклональное антитело Cytokeratin HMW (34βE12) предназначено для качественного определения человеческих цитокератинов 1, 5, 10 и 14 методом световой микроскопии в фиксированных формалином и залитых в парафин образцах тканей после иммуногистохимического окрашивания в автоматизированной системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica).

Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями с надлежащими контрольными исследованиями и должна быть оценена квалифицированным патологом с учетом анамнеза пациента и других диагностических тестов.

Краткое изложение и пояснение

Имуногистохимические методы могут использоваться для выявления антигенов в тканях и клетках (смотрите монографию «Применение реактивов BOND» в документации пользователя BOND). Первичное антитело Cytokeratin HMW (34βE12) является готовым к применению препаратом, специально оптимизированным для использования в системе BOND Polymer Refine Detection. Подтверждение присутствия человеческих цитокератинов 1, 5, 10 и 14 достигается, во-первых, за счет связывания Cytokeratin HMW (34βE12) со срезом ткани с последующей визуализацией участка связывания, что осуществляется с использованием реактивов, которые предусмотрены системой обнаружения. Применение этих продуктов в сочетании с автоматизированной системой BOND снижает вероятность человеческой ошибки и вариабельность, присущую процессам разведения отдельных реактивов, ручного пипетирования и нанесения реактивов.

Реактивы, входящие в комплект поставки

Реактив Cytokeratin HMW (34βE12) представляет собой препарат моноклональных антител мыши к антигенам человека, который выпускается в форме супернатанта культуры ткани и поставляется в трис-солевом буферном растворе, содержащем белок-носитель, а также 0,35% ProClin® 950 в качестве консерванта.

Общий объем = 7 млб.

Клон

34βE12.

Иммуноген

Солюбилизованный кератин, экстрагированный из рогового слоя эпидермиса человека.

Специфичность

Человеческие цитокератины 1, 5, 10 и 14 с молекулярной массой 68, 58, 56,5 и 50 кДа соответственно.

Подкласс

IgG1.

Общая концентрация белка

Примерно 10 мг/млб.

Концентрация антитела

Концентрация выше или эквивалентна 0,16 мг/л при определении методом ИФА.

Разведение и смешивание

Первичное антитело Cytokeratin HMW (34βE12) имеет оптимальное разведение для применения в системе BOND. Этот реактив не нуждается в восстановлении, смешивании, разведении или титровании.

Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

Полный список материалов, необходимых для обработки и иммуногистохимического окрашивания образцов с использованием системы BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica), представлен в разделе «Применение реактивов BOND» документации пользователя системы BOND.

Хранение и стабильность

Хранить при температуре 2–8 °С. Не использовать после указанной на этикетке контейнера даты истечения срока годности.

Признаками, которые указывают на контаминацию и (или) нестабильность реактива Cytokeratin HMW (34βE12), являются: помутнение раствора, появление запаха и наличие осадка.

Немедленно после применения вернуть на хранение при 2–8 °С.

Условия хранения, отличающиеся от указанных выше, должны быть верифицированы пользователем¹.

Меры предосторожности

- Данная продукция предназначена для диагностики in vitro.
- Концентрация ProClin™ 950 составляет 0,35%. Продукт содержит в качестве активного ингредиента 2-метил-4-изотиазолин-Зон, и может вызывать раздражение глаз, кожи, слизистых оболочек и органов верхних дыхательных путей. При работе с реактивами надевайте одноразовые перчатки.
- Для получения копии паспорта безопасности химической продукции (Material Safety Data Sheet) обратитесь к местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems. В качестве альтернативы посетите веб-сайт компании Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com
- С образцами (до и после фиксации) и всеми материалами, на которые они воздействуют, следует обращаться как с потенциально способными к передаче инфекции и утилизировать, соблюдая соответствующие меры предосторожности². Никогда не набирайте реактивы в пилетку ртом. Избегайте контакта реактивов и образцов с кожей и слизистыми оболочками. В случае контакта реактивов или образцов с чувствительными зонами промойте их большим количеством воды. Обратитесь за медицинской помощью.
- По вопросам утилизации любых возможно токсических компонентов выполняйте требования федеральных, региональных или местных нормативных документов.
- Сводите к минимуму микробное загрязнение реактивов во избежание усиления неспецифического окрашивания.
- Нарушение указанных в инструкции правил демаскировки, времени инкубации и термической обработки может привести к ошибочным результатам. Любые подобные изменения должны быть валидированы пользователем.

Инструкция по применению

Первичное антитело Cytokeratin HMW (34βE12) было разработано для использования в автоматизированной системе BOND в сочетании с системой обнаружения BOND Polymer Refine Detection. Рекомендуемым протоколом иммуногистохимического окрашивания с использованием реактива Cytokeratin HMW (34βE12) является ИГХ-протокол F. Предварительную обработку ферментами рекомендуется выполнять с применением раствора BOND Enzyme 1 в течение 5 минут.

Техническое примечание

При окрашивании тканей простаты использование двойной техники проявления, например, тепловая демаскировка эпитопа с применением раствора BOND Epitope Retrieval Solution 1 в течение 5 минут, а затем предварительная ферментная обработка раствором BOND Enzyme (1 капля концентрата Enzyme в 21 мл разбавителя) в течение 5 минут может улучшить окрашивание базального эпителия. Однако при двойной демаскировке возможно избыточное разложение тканей; если это происходит, используйте ферментный раствор в большем разведении. Пользователь должен провести валидацию наиболее оптимальных условий двойной демаскировки на серии образцов нормальных, гиперпластических и злокачественно измененных тканей простаты.

Ожидаемые результаты

Нормальные ткани

Клон 34βE12 выявляет цитокератины промежуточного филамента номер 1, 5, 10 и 14. Он окрашивает все слои плоского эпителия кожи, пищевода, шейки матки и миндалин. В тканях пищевода наблюдалось окрашивание серозно-слизистых желез в подслизистой оболочке. В здоровых легочных тканях наблюдалось окрашивание некоторых пневмоцитов и эпителия бронхов. Продукт также реагировал с некоторыми клетками протоков в образцах нормальных тканей поджелудочной железы, молочной железы и подчелюстной железы. Клетки базального эпителия окрашивались в тканях молочной железы пищевода, подчелюстной и предстательной желез. Имело место также окрашивание клеток мезотелия пуповины, эпителиальных клеток и телец Гассала в вилочковой железе, а также время от времени слабо окрашивались желчные протоки в нормальных тканях печени. В гепатоцитах окрашивание не развивалось. Не отмечалось окрашивания в тканях надпочечников, почек, мозга, тонкого кишечника, толстой кишки, желудка, сердца, селезенки, скелетной мускулатуры, яичек, матки, яичников, щитовидной и паращитовидной желез, костного мозга, периферийных нервов или гипофиза (n=83).

Ткани опухолей

Клон 34βE12 окрасил 30/30 случаев плоскоклеточной карциномы, включая опухоли кожи (22/22), пищевода (2/2), гортани (2/2), легких (2/2) и матки (2/2). Окрашивание наблюдалось также в случаях карциномы базальных клеток кожи (25/25), карциномы протоков молочной железы (1/2), аденокарциномы желудка (1/2), аденокарциномы поджелудочной железы (1/2), метастатической карциномы лимфатического узла (1/2) и холангиокарциномы (1/2). Не наблюдалось реактивности в отношении других разнообразных опухолей, включая меланомы, глиобластомы, лимфомы, карциномы щитовидной железы, карциномы переходных типов, слизистые цистоаденосаркомы, гепатоцеллюлярные карциномы, почечно-клеточные карциномы и аденокарциномы простаты, толстой и прямой кишки (n=29).

Реактив Cytokeratin HMW (34βE12) рекомендуется для использования в составе панели антител, применяемых для определения свойств плоскоклеточных и протоковых карцином, растущих из сложного эпителия; также он имеет ценность при установлении различий между доброкачественными и злокачественными мелкокариозными очагами предстательной железы.

Ограничения, специфичные для этого продукта

Реактив Cytokeratin HMW (34βE12) оптимизирован компанией Leica Biosystems для использования с системой BOND Polymer Refine Detection и дополнительными реактивами BOND. Пользователи, отклоняющиеся от рекомендованных процедур анализа, должны брать на себя ответственность за интерпретацию результатов исследований пациентов, выполненных в таких условиях. Продолжительность выполнения протокола должна быть определена опытным путем и может различаться в связи с вариабельностью фиксации ткани и эффективности усиления антигена. При оптимизации условий демаскировки и длительности протокола следует использовать отрицательные контроли реактивов.

Поиск и устранение неполадок

Действия по устранению неполадок описаны в (3).

С сообщениями о необычном окрашивании обращайтесь к своему местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems.

Дополнительная информация

Дополнительная информация по иммуногистохимическому окрашиванию с использованием реактивов BOND, содержится в рубриках «Принцип методов», «Необходимые материалы», «Подготовка образцов», «Контроль качества», «Проверка достоверности анализа», «Интерпретация окрашивания», «Значения символов в маркировке продукции» и «Ограничения общего характера» раздела «Применение реактивов BOND» документации пользователя системы BOND.

Список литературы

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody-A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.

ProClin[®] 950 — торговая марка компании Supelco, входящей в состав корпорации Sigma-Aldrich.

Дата выпуска

11 Сентябрь 2018

Gotowe do użycia przeciwciało BOND™

Cytokeratin HMW (34βE12)

Nr katalogowy: PA0134

Przeznaczenie

Ten odczynnik jest przeznaczony do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Przeciwciało monoklonalne Cytokeratin HMW (34βE12) służy do identyfikacji jakościowej z zastosowaniem mikroskopii świetlnej ludzkich cytokeratyn 1, 5, 10 i 14 w tkance utrwalonej w formalinie i zatopionej w parafinie za pomocą barwienia immunohistochemicznego przy użyciu automatycznego systemu BOND (w tym systemów Leica BOND-MAX i Leica BOND-III).

Kliniczną interpretację wybarwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocenę powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

Podsumowanie i objaśnienie

W celu wykazania obecności antygenów w tkankach i komórkach (zob. „Korzystanie z odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika BOND) można skorzystać z technik immunohistochemicznych. Przeciwciało pierwszorzędowe Cytokeratin HMW (34βE12) jest gotowym do użycia produktem, który został specjalnie zoptymalizowany pod kątem użycia z BOND Polymer Refine Detection. Obecność ludzkich cytokeratyn 1, 5, 10 i 14 jest wykazywana w pierwszej kolejności przez umożliwienie wiązania Cytokeratin HMW (34βE12) z odcinkiem, a następnie wizualizację tego wiązania za pomocą odczynników dostarczonych w systemie detekcji. Używanie tych produktów, w połączeniu z automatycznym systemem BOND ogranicza prawdopodobieństwo popełnienia błędu przez człowieka i nieodłączną zmienność wynikającą z indywidualnego rozcieńczania odczynnika, ręcznego pipetowania i stosowania odczynnika.

Odczynniki znajdujące się w zestawie

Cytokeratin HMW (34βE12) jest mysim anti-ludzkim przeciwciałem monoklonalnym, produkowanym jako oczyszczony supernatant hodowli tkankowej i dostarczony w roztworze soli fizjologicznej buforowanej odczynnikiem Tris z białkiem nośnikowym, konserwowanym 0,35% ProClin® 950.

Łączna objętość = 7 ml.

Klon

34βE12.

Immunogen

Rozpuszczona keratyna ekstrahowana z warstwy rogowej ludzkiego naskórka.

Swoistość

Ludzkie cytokeratyny 1, 5, 10 i 14 o ciężarach cząsteczkowych odpowiednio 68, 58, 56,5 i 50 kD.

Podklasa

IgG1.

Całkowite stężenia białka

Okolo 10 mg/ml.

Stężenie przeciwciał

Większe lub równe 0,16 mg/L oznaczone za pomocą testu ELISA.

Rozcieńczanie i mieszanie.

Przeciwciało pierwszorzędowe Cytokeratin HMW (34βE12) zostało specjalnie zoptymalizowane pod kątem użycia z systemem BOND. W przypadku tego odczynnika nie jest konieczne dodawanie wody, mieszanie, rozcieńczanie ani miareczkowanie.

Wymagane materiały niedołączone do zestawu

W rozdziale „Korzystanie z odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika BOND podano pełną listę materiałów wymaganych do przygotowania próbki i barwienia immunohistochemicznego przy użyciu systemu BOND.

Przechowywanie i trwałość

Przechowywać w temperaturze 2-8 °C. Nie używać po upływie daty ważności podanej na etykiecie pojemnika.

Oznaki skażenia i/lub niestabilności Cytokeratin HMW (34βE12) są następujące: zmętnienie roztworu, pojawienie się zapachu i obecność osadu.

Niezwłocznie po użyciu ponownie umieścić w temperaturze 2-8 °C.

Przechowywanie w warunkach innych od wskazanych powyżej wymaga weryfikacji użytkownika¹.

Środki ostrożności

- Ten odczynnik jest przeznaczony do diagnostyki in vitro
- Stężenie ProClin[®] 950 wynosi 0,35%. Zawiera składnik czynny, metyloizotiazolinon, który może powodować podrażnienie skóry, oczu, błon śluzowych i górnych dróg oddechowych. Podczas pracy z odczynnikami należy nosić rękawice jednorazowego użytku.
- Aby otrzymać egzemplarz karty charakterystyki, należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub regionalnym biurem Leica Biosystems, lub odwiedzić stronę internetową, www.LeicaBiosystems.com.
- Z preparatami przed utrwaleniem i po utrwaleniu, jak również ze wszystkimi materiałami, które mają z nimi styczność, należy obchodzić się tak, jak z materiałami potencjalnie zakaźnymi i należy je utylizować, zachowując odpowiednie środki ostrożności.² Podczas pobierania pipetą nie wolno zasysać odczynników ustami i należy unikać kontaktu odczynników i preparatów ze skórą oraz błonami śluzowymi. W razie kontaktu odczynników lub próbek ze szczególnie narażonymi miejscami przemyć miejsce kontaktu dużą ilością wody. Należy zasięgnąć porady lekarza.
- Wszelkie potencjalnie toksyczne składniki należy utylizować zgodnie z krajowymi lub lokalnymi przepisami.
- Chronić odczynnik przed skażeniem drobnoustrojami, ponieważ może ono doprowadzić do zwiększonego barwienia niespecyficznego.
- Zastosowanie czasów odmaskowywania, inkubacji lub temperatur innych niż podano w instrukcji może spowodować błędne wyniki. Wszelkie zmiany tego typu muszą zostać zweryfikowane przez użytkownika.

Instrukcja stosowania

Przeciwiako pierwszorzędowe Cytokeratin HMW (34βE12) zostało opracowane z myślą o zastosowaniu w automatycznym systemie BOND w połączeniu z BOND Polymer Refine Detection. Zalecany protokół barwienia dla przeciwiako pierwszorzędowego Cytokeratin HMW (34βE12) to IHC Protocol F. Zaleca się enzymatyczną obróbkę wstępną przy użyciu BOND Enzyme 1 przez 5 minut.

Uwaga techniczna

Podczas barwienia tkanki gruczołu krokowego technika podwójnego odmaskowywania, na przykład ciepłe odmaskowywanie za pomocą roztworu BOND Epitope Retrieval Solution 1 przez 5 minut, a następnie enzymatyczną obróbkę wstępną przy pomocy BOND Enzyme (1 kropla koncentratu enzymu w 21 ml rozcieńczalnika) przez 5 minut, może poprawić wybarwienie nabłonka podstawnego. Jednak podwójne odmaskowywanie może spowodować nadmierne trawienie; jeśli dojdzie do nadmiernego trawienia, konieczne może okazać się zastosowanie bardziej rozcieńczonego roztworu enzymu. Użytkownik powinien zweryfikować optymalne warunki dla podwójnego odmaskowywania w serii prawidłowych, rozrostowych i złośliwych tkanek gruczołu krokowego.

Oczekiwane wyniki

Tkanki prawidłowe

Klon 34βE12 wykrywa ludzkie filamenty pośrednie cytokeratyn 1, 5, 10 i 14. Wybarwił wszystkie warstwy nabłonka płaskiego w skórze, przełyku, szyjce macicy i migdałku. W przełyku stwierdzono barwienie gruczołów śluzowych w warstwie podśluzowej. Niektóre pneumocyty i nabłonek oskrzeli wybarwiły się w prawidłowej tkance płucnej. Preparat reagował również z niektórymi komórkami przewodowymi zdrowej trzustki, sutka i ślinianki podżuchowej. Komórki podstawne nabłonka wybarwiły się w sutku, przełyku, gruczołach podżuchowych i prostaty. Stwierdzono również barwienie komórek międzybłonka w pępowinie, komórkach nabłonka i ciążka Hassala w grasicy oraz bardzo słabe barwienie pojedynczych komórek przewodów żółciowych w prawidłowej wątrobie; brak barwienia w hepatocytach. Nie stwierdzono barwienia w komórkach nadnerczy, nerek, mózgu, jelita cienkiego, okrężnicy, żołądka, serca, śledziony, mięśni szkieletowych, jąder, macicy, jajników, przytarczyc, tarczycy, szpiku kostnego, nerwów obwodowych ani przysadki (n = 83).

Tkanki nowotworowe

Klon 34βE12 wybarwił 30/30 raków płaskonabłonkowych, w tym raka skóry 22/22, przełyku 2/2, krtni 2/2, płuca 2/2 i macicy 2/2. Barwienie obserwowano również w przypadku raka podstawnomórkowego skóry 25/25, raka przewodowego piersi 1/2, gruczołakoraka żołądka 1/2, gruczołakoraka trzustki 1/2, raka przerzutowego w węzłach chłonnych 1/2 i raka dróg żółciowych 1/2. Nie zaobserwowano reaktywności w przypadku wielu innych nowotworów, w tym w przypadku czerniaka, glejaka, chłoniaka, raka tarczycy, rakach przejściowokomórkowych, gruczołakotorbielakoraka śluzowego, raka wątrobowokomórkowego, raka nerwowokomórkowego i gruczołakoraka gruczołu krokowego, okrężnicy i odbytnicy (n = 29).

Preparat Cytokeratin HMW (34βE12) jest zalecany w ramach panelu przeciwiako do charakteryzowania płaskonabłonkowych i przewodowych raków powstałych z nabłonka złozonego i ma znaczenie w różnicowaniu łagodnej i złośliwej proliferacji małych zrzazików w gruczole krokowym.

Szczególne ograniczenia dla produktu

Preparat Cytokeratin HMW (34βE12) został zoptymalizowany w Leica Biosystems pod kątem stosowania z BOND Polymer Refine Detection i odczynnikami pomocniczymi BOND. W tych okolicznościach użytkownicy, którzy postępują niezgodnie z zalecanymi procedurami testowymi muszą wziąć odpowiedzialność za interpretację wyników chorego. Czasy protokołu mogą być różne w związku ze zróżnicowaniem w zakresie utrwalenia tkanek i skuteczności wzmocnienia przez przeciwiako i należy je określić doświadczalnie. Odczynnik kontroli ujemnej należy stosować podczas optymalizacji warunków odmaskowywania i czasów protokołu.

Rozwiązywanie problemów

W celu uzyskania dalszych informacji dot. działań zaradczych zob. odsyłacz 3.

W celu zgłoszenia nietypowego barwienia należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub z regionalnym biurem firmy Leica Biosystems.

Dodatkowe informacje

Dodatkowe informacje dotyczące immunobarwienia przy użyciu odczynników BOND opisanego w rozdziałach „Zasady postępowania”, „Wymagane materiały”, „Przygotowanie próbek”, „Kontrola Jakości”, „Weryfikacja testu”, „Interpretacja barwienia”, „Objaśnienie symboli na etykietach” i „Ograniczenia ogólne” można znaleźć w punkcie „Stosowanie odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika systemu BOND.

Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
 2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
 3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
 4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
 5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
 6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
 7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody-A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
 8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.
- ProClin[®] 950 jest znakiem handlowym firmy Supelco, będącej częścią Sigma-Aldrich Corporation.

Data publikacji

11 września 2018

Primarno protitelo BOND™ pripravljeno za uporabo Cytokeratin HMW (34βE12)

Katalogška št.: PA0134

Predvidena uporaba

Ta reagent je namenjen diagnostični uporabi in vitro.

Monoklonsko protitelo Cytokeratin HMW (34βE12) je namenjeno kvalitativni identifikaciji človeških citokeratinov 1, 5, 10 in 14 s svetlobno mikroskopijo v tkivih, fiksiranih s formalinom in vstavljenih v parafin, z imunohistokemijskim barvanjem z uporabo avtomatiziranega sistema BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III).

Klinično razlago kakršnega koli obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopolnjevati morfološke študije in ustrezni kontrolni vzorci, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

Povzetek in razlaga

Imunohistokemijske tehnike se lahko uporabijo za prikaz prisotnosti antigenov v tkivih in celicah (glejte »Uporaba reagentov BOND« v priloženi dokumentaciji za uporabnike sistema BOND). Primarno protitelo Cytokeratin HMW (34βE12) je izdelek, pripravljen za uporabo, ki je bil posebej optimiziran za uporabo s sistemom za zaznavanje BOND Polymer Refine Detection. Prikaz človeških citokeratinov 1, 5, 10 in 14 se doseže tako, da se najprej dovoli vezava protitelesa Cytokeratin HMW (34βE12) na rezino, nato pa se ta vezava prikaže z uporabo reagentov v sistemu za zaznavanje. Uporaba teh izdelkov, skupaj z avtomatiziranim sistemom BOND, zmanjša možnost človeške napake in variabilnosti, ki sama po sebi izhaja iz redčenja posameznega reagenta, ročnega pipetiranja in nanosa reagenta.

Priloženi reagenti

Cytokeratin HMW (34βE12) je mišje monoklonsko protitelo, usmerjeno proti humanim antigenom, ki je izdelano kot supernatant tkivne kulture in dobavljeno v fiziološki raztopini s pufrom tris, nosilno beljakovino in 0,35 % konzervansa ProClin™ 950.

Skupna prostornina = 7 ml.

Klon

34βE12

Imunogen

Raztopljeni keratin, ekstrahiran iz človeškega stratuma corneuma.

Specifičnost

Človeški citokeratini 1, 5, 10 in 14 z molekulsko maso 68, 58, 56,5 in 50 kD.

Podzred

IgG1.

Skupna koncentracija beljakovin

Približno 10 mg/ml.

Koncentracija protiteles

Višja ali enaka 0,16 mg/l, določena s testom ELISA.

Redčenje in mešanje

Primarno protitelo Cytokeratin HMW (34βE12) je optimalno razredčeno za uporabo na sistemu BOND. Rekonstitucija, mešanje, redčenje ali titracija tega reagenta niso potrebni.

Potrebni materiali, ki niso priloženi

Za celoten seznam materialov, potrebnih za obdelavo vzorcev in imunohistokemijsko barvanje pri uporabi sistema BOND, glejte poglavje »Uporaba reagentov BOND« v priloženi dokumentaciji za uporabnike sistema BOND.

Shranjevanje in stabilnost

Hraniti pri temperaturi 2–8 °C. Ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti, navedenem na oznaki na vsebniku.

Znaki, ki kažejo na okužbo in/ali nestabilnost izdelka Cytokeratin HMW (34βE12), so: motnost raztopine, prisotnost vonja in oborine.

Takoj po uporabi ohladite na temperaturo 2–8 °C.

Uporabnik mora potrditi ustreznost pogojev shranjevanja, če se ti razlikujejo od zgoraj navedenih¹.

Previdnosti ukrepi

- Ta izdelek je namenjen za diagnostično uporabo in vitro.
- Koncentracija konzervansa ProClin[®] 950 je 0,35 %. Vsebuje aktivno učinkovino 2-metil-4-izotiazolin-3-on in lahko povzroči draženje kože, oči, sluznice ter zgornjih dihalnih poti. Kadar delate z reagenti, nosite rokavice za enkratno uporabo.
- Kopijo varnostnega lista lahko dobite pri lokalnem distributerju ali regionalni pisarni družbe Leica Biosystems ali na spletnem mestu www.LeicaBiosystems.com.
- Z vzorci, pred fiksiranjem in po njem, in vsemi materiali, s katerimi so prišli v stik, morate rokovati, kot da bi lahko prenašali okužbe, in pri njihovem odstranjevanju upoštevati ustrezne previdnostne ukrepe.² Nikoli ne pipetirajte reagentov skozi usta; pazite, da reagenti in vzorci ne pridejo v stik s kožo ali sluznicami. Če reagenti ali vzorci pridejo v stik z občutljivimi deli, jih izperite z obilo vode. Poišcite zdravniško pomoč.
- Sledite zveznim, državnim ali lokalnim predpisom za odstranjevanje katerih koli morebitno strupenih sestavin.
- Pazite, da ne pride do mikrobne okužbe reagentov, saj lahko povzroči nespecifično barvanje.
- Če uporabite čas ali temperature razkrivanja in inkubacije, ki se razlikujejo od navedenih, lahko pridobite napačne rezultate. Uporabnik mora validirati morebitne spremembe.

Navodila za uporabo

Primarno protitelo Cytokeratin HMW (34βE12) je bilo razvito za uporabo na avtomatiziranem sistemu BOND skupaj s sistemom BOND Polymer Refine Detection. Priporočeni protokol barvanja za primarno protitelo Cytokeratin HMW (34βE12) je IHC Protocol F. Priporoča se encimska predhodna obdelava z encimom BOND Enzyme 1 za 5 minut.

Tehnična opomba

Pri barvanju tkiva prostate lahko uporaba dvojne tehnike pridobivanja, kot je toplotno pridobivanje epitopa z raztopino BOND Epitope Retrieval Solution 1 za 5 minut, ki ji sledi predhodna obdelava z encimom z raztopino BOND Enzyme (1 kapljica koncentrata Enzyme v 21 ml redčila) za 5 minut, izboljša obarvanje bazalnega epitelija. Vendar lahko pri dvojnem pridobivanju pride do pretirane razgradnje. Če pride do pretirane razgradnje, boste morda potrebovali bolj razredčeno raztopino encima. Uporabnik mora validirati optimalne pogoje za dvojno pridobivanje na nizu primerov normalne, hiperplastične in maligne prostate.

Pričakovani rezultati

Normalna tkiva

Klon 34βE12 zazna beljakovine intermediarnega filamenta citokeratina 1, 5, 10 in 14. Obarval je vse plasti skvamoznega epitelija v koži, požiralniku, materničnem vratu in tonzilah. V požiralniku je obarval seromukozne žleze v podsluznici. Pri normalnih pljučih je obarval nekatere prevmocite in bronhialni epitelij. Reagiralo je tudi z nekaterimi celicami duktusov normalne trebušne slinavke, dojke in submandibularne žleze. Pri dojki, požiralniku, submandibularni žlezi in prostati so se obarvale celice bazalnega epitelija. Obarval je tudi mezotelijske celice v popkovini, epiteljske celice in Hassalova telesca v priželjcu, zelo šibko pa je obarval nekatere žolčevode pri normalnih jetrih; hepatocitov ni obarval. Pri nadledvični žlezi, ledvicah, možganih, tankem črevesu, kolonu, želodcu, srcu, vrnici, skeletnih mišicah, testisah, maternici, jajčnikih, ščitnici, obščitnici, kostnem mozgu, perifernih živcih in hipofizi obarvanja niso opazili (n = 83).

Tumorska tkiva

Klon 34βE12 je obarval 30/30 karcinomov skvamoznih celic, vključno s karcinomi kože (22/22), požiralnika (2/2), grla (2/2), pljuč (2/2) in maternice (2/2). Obarvanje so opazili tudi pri karcinomu bazalnih celic kože (25/25), karcinomu kanalov dojke (1/2), adenokarcinomu želodca (1/2), adenokarcinomu trebušne slinavke (1/2), metastatskem karcinomu bezgavk (1/2) in holangiokarcinomu (1/2). Pri številnih drugih tumorjih, vključno z melanomi, glioblastomi, limfomi, karcinomi ščitnice, prehodnimi karcinomi, mucinoznimi cistadenokarcinomi, hepatocelularnimi karcinomi, karcinomi ledvičnih celic ter adenokarcinomi prostate, kolona in rektuma (n = 29), reakcije niso opazili.

Protitelo Cytokeratin HMW (34βE12) je priporočeno za uporabo kot del nabora protiteles za karakterizacijo skvamoznih in duktalnih karcinomov, ki izvirajo iz kompleksnih epitelijev, koristen pa je tudi pri razlikovanju benignih in malignih majhnih acinarnih lezij na prostati.

Specifične omejitve izdelka

Družba Leica Biosystems je protitelo Cytokeratin HMW (34βE12) optimizirala za uporabo s sistemom BOND Polymer Refine Detection in pomožnimi reagenti BOND. Uporabniki, ki odstopijo od priporočenih preizkusnih postopkov, morajo prevzeti odgovornost za razlago bolnikovih rezultatov pod temi pogoji. Trajanje protokola se lahko spremeni zaradi razlik pri fiksiranju tkiv in učinkovitosti izboljšave antigena ter se mora določiti empirično. Uporabiti morate negativne kontrolne reagente, kadar optimizirate pogoje razkrivanja in trajanje protokola.

Odravljanje težav

Glejte 3. navedbo za ukrep za odpravljanje napake.

Če želite poročati o nenavadnem obarvanju, se obrnite na svojega lokalnega distributerja ali regionalno pisarno družbe Leica Biosystems.

Dodatne informacije

Dodatne informacije o imunološkem barvanju z reagenti BOND lahko najdete v priloženi dokumentaciji za uporabnike sistema BOND »Uporaba reagentov BOND« v poglavjih Načelo postopka, Potrebni materiali, Priprava vzorcev, Kontrola kakovosti, Verifikacija testa, Tolmačenje obarvanja, Legenda za simbole na oznakah in Splošne omejitve.

Literatura

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
 2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
 3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
 4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
 5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
 6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
 7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody-A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
 8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.
- ProClin® 950 je blagovna znamka družbe Supelco, ki je del družbe Sigma-Aldrich Corporation.

Datum izdaje

11 september 2018

BOND™ Primární protilátka připravená k použití

Cytokeratin HMW (34βE12)

Kat. č.: PA0134

Zamýšlené použití

Tato reagensie je určena k diagnostickému použití in vitro.

Monoklonální protilátka Cytokeratin HMW (34βE12) je určena k použití při kvalitativním stanovení lidských cytokeratinů 1, 5, 10 a 14 světelnou mikroskopií ve tkáni fixované formalínem a zalité v parafínu imunohistochemickým barvením pomocí automatického systému BOND system (včetně systému Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system).

Klinickou interpretaci jakéhokoliv barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfoloogickým vyšetřením s použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

Souhrn a vysvětlení

Imunohistochemické techniky lze použít k průkazu přítomnosti antigenů ve tkáni a v buňkách (viz „Použití reagensí BOND“ v uživatelské dokumentaci BOND). Primární protilátka Cytokeratin HMW (34βE12) je produkt připravený k použití, který byl specificky optimalizován k použití se soupravou BOND Polymer Refine Detection. Průkazu lidských cytokeratinů 1, 5, 10 a 14 se dosáhne tím, že se nejprve umožní vazba Cytokeratinu HMW (34βE12) na řezu, a poté se tato vazba vizualizuje pomocí reagensí dodaných v detekčním systému. Použití těchto produktů v kombinaci s automatickým systémem BOND system snižuje možnost lidské chyby a inherentní variability v důsledku ředění jednotlivých reagensí, manuálního pipetování a použití reagensí.

Dodávané reagensie

Cytokeratin HMW (34βE12) je myši monoklonální protilátka proti lidským antigenům vyráběná jako supernatant z tkáňové kultury a dodávaná ve fyziologickém roztoku pufovaném Tris s pěníšejším proteinem, obsahující jako konzervační prostředek 0,35% ProClin™ 950. Celkový objem = 7 ml.

Klon

34βE12.

Imunogen

Solubilizovaný keratin extrahovaný z lidského strata cornea.

Specifita

Lidské cytokeratiny 1, 5, 10 a 14 s molekulárními hmotnostmi 68, 58, 56.5 a 50 kD.

Podtřída

IgG1.

Konzentrace celkového proteinu

Přibližně 10 mg/ml.

Konzentrace protilátek

0,16 mg/l nebo vyšší, stanovená metodou ELISA.

Ředění a míchání

Primární protilátka Cytokeratin HMW (34βE12) je optimálně naředěná k použití v systému BOND system. Rekonstituce, míchání, ředění ani titrace této reagensie nejsou nutné.

Potřebný materiál, který není součástí dodávky

Úplný seznam materiálů požadovaných pro úpravu vzorku a imunohistochemické barvení s použitím systému BOND system je uveden v bodě „Použití reagensí BOND“ v uživatelské dokumentaci BOND.

Skladování a stabilita

Uchovávejte při teplotě 2–8 °C. Nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na štítku nádoby.

Známky signalizující kontaminaci a/nebo nestabilitu Cytokeratinu HMW (34βE12) jsou: zkalení roztoku, vznik zápachu a přítomnost precipitátu.

Okamžitě po použití vraťte do prostředí s teplotou 2–8 °C.

Podmínky skladování jiné než výše uvedené musí uživatel¹ validovat.

Bezpečnostní opatření

- Tento produkt je určen pouze pro diagnostické použití in vitro.
- Koncentrace přípravku ProClin[®] 950 je 0,35%. Obsahuje aktivní složku 2-methyl-4-isothiazolin-3-on a může způsobit podráždění kůže, očí, sliznic a horních cest dýchacích. Při manipulaci s reagensy používejte rukavice na jedno použití.
- Výtisk bezpečnostního listu materiálu získáte od místního distributora nebo oblastní kanceláře společnosti Leica Biosystems, nebo můžete navštívit webové stránky Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.
- Se vzorky, před fixací i po fixaci, a se všemi materiály, které s nimi přišly do kontaktu, je nutno zacházet, jako by mohly přenášet infekci, a likvidovat je s použitím příslušných bezpečnostních opatření². Nikdy reagencie nepipetujte ústy a zabraňte kontaktu reagensů a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagencie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody. Vyhledejte lékařskou pomoc.
- Údaje o likvidaci jakýchkoli potenciálně toxických komponent prostudujte ve federálních, státních nebo místních nařízeních.
- Minimalizujte mikrobiální kontaminaci reagensů, mohlo by dojít ke zvýšení výskytu nespecifického barvení.
- Odmaskování, inkubační doby nebo teploty jiné než specifikované mohou vést k chybným výsledkům. Všechny takové změny musí být uživatelem validovány.

Návod k použití

Primární protilátka Cytokeratin HMW (34βE12) byla vyvinuta k použití v automatickém systému BOND system v kombinaci se soupravou BOND Polymer Refine Detection. Protokol doporučeného barvení primární protilátky Cytokeratin HMW (34βE12) je imunohistochemický protokol F. Předběžná úprava enzymu se doporučuje s použitím enzymu BOND Enzyme 1 po dobu 5 minut.

Technické poznámka

Při barvení prostatické tkáně může barvení bazálního epitelu zlepšit použití dvojitě techniky odmaskování pomocí teplem indukovaného odmaskování epitopu s použitím roztoku BOND Epitope Retrieval Solution 1 po dobu 5 minut, a následně předběžné úpravy enzymu s použitím enzymu BOND Enzyme (1 kapka koncentráту enzymu v 21 ml fedičního roztoku) po dobu 5 minut. Dvojitě odmaskování však může způsobit nadměrnou digesci, proto může být nutné použít větší ředění roztoku enzymu. Uživatel musí validovat optimální podmínky pro duální odmaskování při sérii vyšetření normálních, hyperplastických a maligních prostatických tkání.

Očekávané výsledky

Normální tkáně

Klon 34βE12 detekuje proteiny intermediálních filament cytotkeratin lidského cytotkeratinu 1, 5, 10 a 14. Barvil všechny vrstvy skvamózního epitelu v kůži, jícnu, děložního hrdla a tonzile. U jícnu došlo k barvení seromukózních žláz v submukóze. U normálních plic se barvil některé pneumocyty a bronchiální epitelie. Rovněž reagoval s některými dukálními buňkami pankreatu, prsu a submandibulární žlázy. Barvil bazální epitelální buňky v prsu, jícnu, submandibulární žláze a prostatě. Rovněž bylo zjištěno barvení u mezotelálních buněk u papečnicku, epitelálních buněk a Hassalových tělísek thymu a velmi slabé příležitostné barvení žlučových u normálních jater. U hepatocytů k barvení nedošlo. Barvení nebylo pozorováno u nadledvin, ledvin, mozku, tenkého střeva, tlustého střeva žaludku, srdce, sleziny, kosterních svalů, varlat, dělohy, ovarií, příštítných tělísek, kostní dřevě, periferních nervů či hypofýzy (n=83).

Nádorové tkáně

Klon 34βE12 barvil 30/30 karcinómů skvamózních buněk včetně karcinómů kůže 22/22, jícnu 2/2, hrtanu 2/2, plic 2/2 a dělohy 2/2. Barvení bylo rovněž pozorováno u karcinómů bazálních buněk kůže 25/25, dukálního karcinomu prsu 1/2, gastrického adenokarcinomu 1/2, pankreatického adenokarcinomu 1/2, metastatického karcinomu u lymfatických uzlin 1/2 a cholangiokarcinomu 1/2. Reaktivita nebyla pozorována u různých ostatních nádorů, včetně melanómů, glioblastomů, lymfómů, karcinómů štítné žlázy, karcinómů přechodných buněk, mucinózních cystadenokarcinómů, hepatocelulárních karcinómů, karcinómů renálních buněk a adenokarcinómů prostaty, tlustého střeva a rekta (n=29).

Cytokeratin HMW (34βE12) se doporučuje použít jako součást panelu protilátek k charakterizaci skvamózních a dukálních karcinómů vznikajících z komplexu epitelů a má význam při diferenciaci benigních a maligních malých acinárních lézí prostaty.

Omezení specifická pro tento produkt

Cytokeratin HMW (34βE12) byl společností Leica Biosystems optimalizován k použití se soupravou BOND Polymer Refine Detection a s pomocnými reagensy BOND. Uživatelé, kteří se při vyšetření odchýlí od doporučeného postupu, musí za těchto okolností přijmout odpovědnost za interpretaci výsledků u pacienta. Doby uvedené v protokolu se mohou lišit v důsledku odchylek při fixaci tkání a účinnosti při vzárodnění antigenu a musí být stanoveny empiricky. Při optimalizaci podmínek pro odmaskování a pro doby v protokolu musí být použity reagencie pro negativní kontrolu.

Řešení problémů

Nápravná opatření jsou uvedena v odkaze 3.

S hlášením neobvyklého barvení kontaktujte místního distributora nebo oblastní kancelář společnosti Leica Biosystems.

Další informace

Další informace o imunobarvení reagensy BOND naleznete pod názvy Princip metody, Potřebné materiály, Příprava vzorku, Kontrola kvality, Ověření testů, Interpretace barvení, Vysvětlení symbolů na štítech a Obecná omezení v uživatelské dokumentaci BOND, v bodě „Použití reagensů BOND“.

Literatura

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
 2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
 3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
 4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
 5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
 6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
 7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody-A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
 8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.
- ProClin[®] 950 je ochranná známka společnosti Supelco, která je součástí Sigma-Aldrich Corporation.

Datum vydání

11 září 2018

BOND™ Pripravené na Použitie Primárne Protilátky Cytokeratin HMW (34βE12)

Katalógové č.: PA0134

Zamýšľané použitie

Toto činidlo je určené na diagnostické použitie in vitro.

Monoklonálna protilátka Cytokeratin HMW (34βE12) je určená na použitie pri kvalitatívnej identifikácii ľudských cytokeratínov 1, 5, 10 a 14 svetelnou mikroskopiou v tkanive fixovanom formalínom a zaliatom do parafínu prostredníctvom imunohistochemického farbenia s použitím automatizovaného systému BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III).

Klinická interpretácia akéhokoľvek zafarbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými vyšetreniami a zodpovedajúcimi kontrolami. Výsledky je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a ďalších diagnostických testov vedených kvalifikovaným patológom.

Zhrnutie a vysvetlenie

Imunohistochemické techniky možno použiť na preukázanie prítomnosti antigénov v tkanivách a bunkách (pozrite si časť „Používanie činidiel BOND“ v používateľskej dokumentácii k systému BOND). Primárna protilátka Cytokeratin HMW (34βE12) je produkt pripravený na okamžité použitie, ktorý bol špecificky optimalizovaný na použitie so systémom BOND Polymer Refine Detection. Preukázanie ľudských cytokeratínov 1, 5, 10 a 14 sa vykonáva tak, že najprv sa umožní väzba prípravku Cytokeratin HMW (34βE12) na rez a táto väzba sa následne vizualizuje pomocou činidiel poskytnutých v detekčnom systéme. Použitie týchto produktov v spojitosti s automatizovaným systémom BOND znižuje možnosť ľudskej chyby a inherentnej variability vyplývajúcej z individuálneho nariadenia činidiel, manuálneho pipetovania a aplikácie činidiel.

Dodané činidlá

Cytokeratin HMW (34βE12) je myšia anti-ľudská monoklonálna protilátka vyprodukovaná ako supernatant bunkových kultúr a dodávaná v tris pufovanom fyziologickom roztoku s transportným proteínom, obsahujúca 0,35 % prípravku ProCln™ 950 ako konzervačnej látky. Celkový objem = 7 ml.

Klon

34βE12.

Imunogén

Solubilizovaný keratín extrahovaný z ľudskej rohovitej vrstvy.

Špecifita

Ľudské cytokeratíny 1, 5, 10 a 14 s molekulovou hmotnosťou 68, 58, 56,5 a 50 kD.

Podtrieda

IgG1.

Celková koncentrácia proteínov

Čca 10 mg/ml.

Koncentrácia protilátok

Vyššia alebo rovnaká ako 0,16 mg/l podľa ELISA.

Riedenie a miešanie

Primárna protilátka Cytokeratin HMW (34βE12) je optimálne zriedená na použitie v systéme BOND. Rekonštitúcia, miešanie, riedenie ani titrácia tohto činidla nie sú potrebné.

Požadovaný nedodaný materiál

Úplný zoznam materiálov potrebných na prípravu vzorky a imunohistochemické zafarbenie pomocou systému BOND si pozrite v časti „Používanie činidiel BOND“ v používateľskej dokumentácii k systému BOND.

Uskladnenie a stabilita

Skladujte pri teplote 2 – 8 °C. Nepoužívajte po uplynutí dátumu expirácie uvedeného na štítku zásobníka.

Známky signalizujúce kontamináciu alebo nestabilitu prípravku Cytokeratin HMW (34βE12) sú: zakalenosť roztoku, vznik zápachu a prítomnosť zrazeniny.

Okamžite po použití vráťte do teploty 2 – 8 °C.

Iné než vyššie uvedené podmienky skladovania si vyžadujú validáciu používateľom¹.

Bezpečnostné opatrenia

- Tento produkt je určený na diagnostické použitie in vitro.
- Koncentrácia produktu ProCin[®] 950 je 0,35 %. Obsahuje aktívnu zložku 2-metyl-4-izotiazolín-3-ón a môže spôsobiť podráždenie kože, očí, sliznic a horných dýchacích ciest. Pri manipulácii s činidlami používajte jednorazové rukavice.
- Materiálový bezpečnostný list vám poskytne miestny distribútor alebo regionálna pobočka spoločnosti Leica Biosystems, prípadne navštívte webovú lokalitu spoločnosti Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com.
- So vzorkami pred fixáciou a po nej a všetkými materiálmi, ktoré s nimi prišli do kontaktu, je nutné manipulovať ako s potenciálne infekčnými a zlikvidovať ich pri dodržaní zodpovedajúcich bezpečnostných opatrení. Činidlá nikdy nepipetujte ústami a zabráňte kontaktu činidiel a vzoriek s kožou a sliznicami. Ak sa činidlá alebo vzorky dostanú do kontaktu s citlivými oblasťami, umyte ich veľkým množstvom vody. Vyhladajte lekársku pomoc.
- Likvidáciu prípadných potenciálne toxických súčastí definujú federálne, štátne alebo miestne predpisy.
- Minimalizujte mikrobiálnu kontamináciu činidiel. V opačnom prípade môže dôjsť k zvýšeniu nešpecifického zafarbenia.
- Nedodržanie predpísaných dôb záchytu, inkubačných dôb alebo teplôt môže viesť k nesprávnym výsledkom. Všetky takéto zmeny si vyžadujú validáciu používateľom.

Návod na použitie

Prímarna protilátka Cytokeratin HMW (34βE12) bola vytvorená na použitie v automatizovanom systéme BOND v spojitosti so systémom BOND Polymer Refine Detection. Odporúčany protokol farbenia pre primárnu protilátku Cytokeratin HMW (34βE12) je IHC Protocol F. Enzymatická predpríprava sa odporúča s použitím roztoku BOND Enzyme 1 na 5 minút.

Technická poznámka

Pri zafarbení prostatického tkaniva môže použitie techniky dvojitého vyhľadávania, ako je záchyt epitopov s tepelnou indukciou pomocou prípravku BOND Epitope Retrieval Solution 1 na 5 minút, po ktorom nasleduje enzymatická predpríprava pomocou prípravku BOND Enzyme (1 kvapka enzymového koncentráту v 21 ml riedidla) počas 5 minút, zlepšiť zafarbenie bazálneho epitelu. Dvojitý záchyt sa však môže nadmerne stráviť, ak dôjde k nadmernému tráveniu, a môže byť potrebný zriedenejší roztok enzýmu. Používateľ by mal overiť optimálne podmienky pre dvojitý záchyt na sérii normálnych, hyperplastických a maligných prípadoch prostaty.

Očakávané výsledky

Normálne tkanivá

Klon 34βE12 deteguje proteíny 1, 5, 10 a 14 ľudských cytokeratínových intermediárnych filamentov. Zafarbil všetky vrstvy šupinatého epitelu kože, pažeráku, krčku maternice a mandlí. V pažeráku došlo k zafarbeniu sérumukózných žliaz v submukózií. Niektoré pneumocyty a bronchiálny epitel boli zafarbené v normálnych pľúcach. Reagoval aj s niektorými duktálnymi bunkami normálneho pankreasu, prsníka a submandibulárnej žľazy. Bazálne epitelialne bunky boli zafarbené v prsníku, pažeráku, submandibulárnej žľaze a prostate. Vyskytlo sa aj zafarbenie mezoteliálnych buniek v pupočníkovej šnúre, epitelialnych buniek a Hassalových telieskach týmsu a veľmi slabé zafarbenie priležitostných žľazových kanálikov v normálnej pečeni; hepatocyty neboli zafarbené. Nepozorovalo sa žiadne zafarbenie v nadobličkách, obličkách, mozgu, tenkom čreve, hrubom čreve, žalúdku, srdci, slezine, kostrovom svali, semenníkoch, maternici, vaječníkoch, štítnej žľaze, kostnej dreni, periférnych nervoch alebo hypofýze (n = 83).

Nádorové tkanivá

Klon 34βE12 zafarbil karcinómy dlaždicových buniek 30/30, vrátane kožných buniek 22/22, pažeráka 2/2, hrtana 2/2, pľúc 2/2 a maternice 2/2. Zafarbenie bolo pozorované aj pri bazocelulárnom karcinóme kože 25/25, duktálnom karcinóme prsníka 1/2, žalúdočnom adenokarcinóme 1/2, pankreatickom adenokarcinóme 1/2, metastatickom karcinóme v lymfatických uzlinách 1/2 a cholangiokarcinóme 1/2. Nepozorovala sa žiadna reaktivita u mnohých iných nádorov vrátane melanómov, glioblastómov, lymfómov, karcinómov štítnej žľazy, prechodných karcinómov, mucinózných cystadenokarcinómov, hepatocelulárnych karcinómov, karcinómov renálnych buniek a adenokarcinómov prostaty, hrubého čreva a konečníka (n = 29).

Cytokeratin HMW (34βE12) sa odporúča používať ako súčasť panela protilátok na charakterizáciu skvamózných a duktálnych karcinómov vznikajúcich z komplexných epitelov a je cenný pri diferenciacii benigných a maligných maloklinárnych lézií prostaty.

Špecifické obmedzenia pre tento výrobok

Cytokeratin HMW (34βE12) bol v spoločnosti Leica Biosystems optimalizovaný na použitie so systémom BOND Polymer Refine Detection a pomocnými činidlami BOND. Používatelia, ktorí sa odchyli od odporúčaných testovacích postupov, musia akceptovať zodpovednosť za interpretáciu výsledkov pacienta za týchto okolností. Časy podľa protokolu sa môžu líšiť z dôvodu odchýlok vo fixácii tkaniva a účinnosti zvýraznenia antigénu a musia sa zistiť empiricky. Pri optimalizácii podmienok záchytu a časov podľa protokolov je potrebné použiť negatívne kontroly činidlom.

Riešenie problémov

Pri náprave môže byť nápomocná referencia 3.

Neobvyklé zafarbenie ohláste miestnemu distribútorovi alebo regionálnej pobočke spoločnosti Leica Biosystems.

Ďalšie informácie

Ďalšie informácie o imunofarbení s činidlami BOND nájdete v častiach Princíp postupu, Požadované materiály, Príprava vzorky, Kontrola kvality, Overenie testu, Interpretácia zafarbenia, Legenda k symbolom na označení a Všeobecné obmedzenia v používateľskej dokumentácii k systému BOND „Používanie činidiel BOND“.

Literatúra

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413–424.
5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309–321.
6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414–424.
7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody—A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191–196.

ProClin® 950 je ochranná známka spoločnosti Supelco, súčasťou spoločnosti Sigma-Aldrich Corporation.

Dátum vydania

11 septembra 2018

BOND™ قيليولاً ةداضملاً ماسجلاً مادختسللاً زهاج

Cytokeratin HMW (34βE12)

رقم الدليل: PA0134

الاستعمال المستهدف

هذا الكاشف مخصص للاستعمال في أغراض التشخيص في المختبرات.

إن الغرض من الجسم المضاد أحادي النسيلة (34βE12) Cytokeratin HMW هو استخدامه في التحديد النوعي بواسطة المجهر الضوئي لبروتينات سيتوكيراتين 1، 5، 10، و 14 البشرية في النسيج المثبت بالفورمالين، والمضمن في البارافين عن طريق التلطيف الكيميائي النسيجي المعاني باستخدام نظام BOND الآلي (يشمل نظامي Leica Leica BOND-MAX و Leica BOND-III).

ينبغي أن يُستكمل التفسير السريري لوجود أي تلوين أو غيابه من خلال الدراسات المورفولوجية والضوابط الصحيحة، وينبغي تقييم ذلك في سياق التاريخ السريري للمريض وغيره من الاختبارات التشخيصية التي يجريها أخصائي مؤهل في علم الأمراض.

الملخص والشرح

يمكن استخدام الأساليب الكيميائية النسيجية المناعية لإثبات وجود مودئات المضادات في النسيج والخلايا (انظر "استعمال كواشف BOND" في وثائق مستخدم BOND التي بحوزتك). الجسم المضاد الأولي Cytokeratin HMW (34βE12) عبارة عن منتج جاهز للاستعمال تم تصنيهه تحديداً من أجل استخدامه مع نظام BOND Polymer Refine Detection. يتحقق إظهار بروتينات سيتوكيراتين 1، 5، 10، و 14 البشرية من خلال السماح أو لا بربط (34βE12) Cytokeratin HMW بالقطاع، ثم تصوير هذا الربط باستخدام الكواشف المتوفرة في نظام الكشف. يقلل استخدام هذه المنتجات، جنباً إلى جنب مع نظام BOND الآلي، من إمكانية حدوث خطأ بشري وتغيرات متصلة ناتجة عن تخفيف الكاشف الفردي، والمص البشري، واستعمال الكاشف.

الكواشف المتوفرة

يعتبر (34βE12) Cytokeratin HMW جسمًا مضافًا مضادًا بشريًا أحادي النسيلة لدى الفران يتم إنتاجه كمادة طاقية لزراعة الأنسجة، ويتم توفيره في محلول ملحي ثلاثي منظم مع بروتين حامل، ويحتوي على 0.35% من ProClim® 950 كمادة حافظة.

الحجم الكلي = 7 مل.

المستسخ

34βE12.

المستضد

كيراتين قابل للتوبان مستخلص من الطبقة القرنية البشرية.

الخصوصية

بروتينات سيتوكيراتين 1، 5، 10، و 14 البشرية مع الأوزان الجزيئية 68، 58، 56.5، و 50 كيلو دالتون على التوالي.

الغنة الفرعية

IgG1.

تركيز البروتين الكلي

نحو 10 مج/مل تقريباً

تركيز الجسم المضاد

أكثر من أو يساوي 0.16 مج/لتر حسبما تحدد مقاييس الممتز المعاني المرتبط بالإنزيم (ELISA).

التخفيف والخلط

يتم تخفيف الجسم المضاد الأولي (34βE12) Cytokeratin HMW للحد الأمثل لاستخدامه في نظام BOND. لا يلزم إعادة تشكيل هذا الكاشف، أو خلطه، أو تخفيفه، أو معايرته.

المواد المطلوبة لكن غير متوفرة

ارجع إلى "استعمال كواشف BOND" في وثائق مستخدم BOND التي بحوزتك للحصول على قائمة كاملة بالمواد المطلوبة لمعالجة العينات والتلطيف الكيميائي النسيجي المعاني باستخدام نظام BOND.

التخزين والاستقرار

يُخزن في درجة حرارة 2-8 درجة مئوية. لا يُستعمل بعد تاريخ الانتهاء المدون على ملصق الحاوية.

تمثل العلامات التي تشير إلى ثلوث (34βE12) Cytokeratin HMW و/أو عدم استقراره في: تعكر المحلول، وانبعاث رائحة، ووجود راسب.

أعد درجة الحرارة إلى 2-8 درجة مئوية بعد الاستعمال مباشرةً.

يجب التحقق من ظروف التخزين بمعرفه المستخدم بخلاف الظروف المحددة أعلاه.

الاحتياطات

- هذا المنتج مخصص للاستعمال في أغراض التشخيص في المختبرات.
- تركيز ProClim® 950 هو 0.35%. وهو يحتوي على العنصر النشط 2-ميثيل-4-أيزوثيازولين-3-واحد، وقد يسبب تهيجاً في الجلد، والعينين، والأغشية المخاطية، والجهاز التنفسي العلوي. عليك بارتداء قفاز للاستعمال مرة واحدة عند التعامل مع الكواشف.
- للحصول على نسخة من صحيفة بيانات سلامة المواد، اتصل بالموزع المحلي لديك أو مكتب Leica Biosystems الإقليمي، أو يمكنك بدلاً من ذلك زيارة موقع Leica Biosystems على شبكة الويب على العنوان الإلكتروني www.LeicaBiosystems.com.
- ينبغي التعامل مع العينات، قبل التثبيت بعده، وكذلك مع جميع المواد التي تتعرض لها كما ولو كانت قادرة على نقل العدوى، وينبغي التخلص منها مع اتخاذ الاحتياطات السلمية. لا تمص الكواشف مطلقاً عن طريق الفم، وتجنب احتكاك الجلد والأغشية المخاطية بالكواشف أو العينات. إذا كانت الكواشف أو العينات تحتك بمناطق حساسة، فغسل هذه المناطق بكميات وفيرة من الماء. اطلب المشورة الطبية.
- راجع اللوائح الفيدرالية، أو لوائح الولاية، أو اللوائح المحلية للتخلص من أي مكونات سامة محتملة.
- قُلِّ التلوث الميكروبي للكواشف وإلا قد تحدث زيادة في التلوين غير المحدد.

- قد تؤدي ظروف الاسترجاع، أو أوقات الحضانة، أو درجات الحرارة بخلاف تلك الظروف المحددة إلى الحصول على نتائج خاطئة. يجب التحقق من أي تغيير كهذا من جانب المستخدم.

تعليمات الاستخدام

تم تطوير الجسم المضاد الأولي (34βE12) Cytokeratin HMW لاستخدامه في نظام BOND الالبي بالاقتران مع نظام BOND Polymer Refine Detection. يتمثل بروتوكول التلطيح الموصى به للجسم المضاد الأولي (34βE12) Cytokeratin HMW في IHC Protocol F. ويوصى بالمعالجة المسبقة للإنزيمات باستخدام BOND Enzyme 1 لمدة 5 دقائق.

ملاحظة فنية

عند تخطيط نسيج البروستاتا، يمكن استخدام تقنية استرجاع ثنائية، مثل استرجاع الحامضة المثار الحرارة مع محلول استرجاع BOND Epitope Retrieval Solution لمدة 5 دقائق، يتبعه المعالجة المسبقة للإنزيمات باستخدام BOND Enzyme (قطرة واحدة من تركيز الإنزيم في 21 مل مخفف) لمدة 5 دقائق، لتحسين تلوين الظهارة القاعدية. مع ذلك قد يحدث هضم زائد للاسترجاع الثنائي، وفي هذه الحالة قد يكون هناك حاجة لاستخدام محلول إنزيمي مخفف بشكل أكبر. يجب أن يتحقق المستخدم من الظروف المثلى للاسترجاع الثنائي على سلسلة من حالات البروستاتا العادية، والمتضخمة، والخبيثة.

النتائج المتوقعة

الأنسجة العادية

يكتف مستنسخ 34βE12 بروتيئات سيتوكيراتين 1، 5، 10، و14 البشرية ذات الشعيرة المتوسطة وهي قد تلطخت كل طبقات الظهارة الحرشقية في الجلد، والمرى، وعرق الرحم، والبروستاتين. ولوحظ وجود تلوين في الغدد المسلية المخاطية في الطبقة تحت المخاطية بالمرى. وتلطخت بعض الخلايا الاربوية والظهارة الشعية في رنة طبيعية. كما إنها تفاعلت كذلك مع بعض الخلايا القوية بينكرياتيس طبيعي، وغدة تحت الفك السفلي. وتلطخت الخلايا الظاهرية القاعدية بالثدي، والمرى، والغدة تحت الفك السفلي، والبروستاتا. لوحظ أيضاً وجود تلوين في خلايا المتوسطة الحبل السري، والخلايا الظاهرية، وأجسام هامال الغدة الصغرية، وتلوين ضعيف للغاية أحياناً في القوات الصفراوية بكبد طبيعي؛ دون تلوين الخلايا الكبدية. لم يلاحظ وجود أي تلوين في القشرة الكظرية، أو الكلى، أو المخ، أو الأمعاء الدقيقة، أو القولون، أو المعدة، أو القلب، أو الطحال، أو الهيكل العظمي، أو الحصى، أو الرحم، أو المبيض، أو الغدة الدرقية أو جاز الدرقية، أو النخاع العظمي، أو الأعصاب الطرفية أو الغدة الخيامية (العدد=83).

الأنسجة الورمية

مستنسخ 34βE12 لمخ 30/30 من سرطانات الخلايا الحرشقية، ومنها تلك الموجودة بالجلد 22/22، والمرى 2/2، والحنجرة 2/2، والرئة 2/2، والرحم 2/2. لوحظ وجود تلوين كذلك في سرطان الخلايا القاعدية بالجلد 25/25، والسرطان القوي بالثدي 1/2، والسرطان الغدي بالمعدة 1/2، والسرطان الغدي بالبنكرياس 1/2، والسرطان القوي بالمعدد الليفياوية 1/2، وسرطان القوات الصفراوية 1/2. لم يلاحظ وجود أي تفاعلية في الأنواع الأخرى من الأورام، بما في ذلك سرطان الجلد، والأورام الأرومية الدقيقة، والمغفومات، و سرطان الغدة الدرقية، وسرطان الخلايا الانتقالية، والسرطانات الغدية الكيسية الموسينية، وسرطان الخلايا الكبدية، وسرطان الخلايا الكلوية، والسرطان الغدي بالبروستاتا، والقولون، والمستقيم (العدد=29).

يوصى باستخدام Cytokeratin HMW (34βE12) كجزء من لوحة أجسام مضادة للمساعدة في توصيف الأورام السرطانية الحرشقية والقوية الناشئة من الظهارة المعقدة، كما أنه قيم في التمييز بين الآفات الغيبية الصغيرة الحميدة والخبيثة بغدة البروستاتا.

القيود الخاصة بالمنتح

تم تحسين (34βE12) Cytokeratin HMW في Leica Biosystems لاستخدامه مع نظام BOND Polymer Refine Detection وكواشف BOND المساعدة على المستخدمين الذين يحددون عن إجراءات الاختيار الموصى بها قبول تحمل المسؤولية عن تفسير نتائج المرضى في ظل هذه الظروف. قد يختلف عدد مرات البروتوكول، بسبب الاختلاف في تلوين الأنسجة وفعالية تعزيز المستنسخ، وذلك يجب تحديده تجريبياً. ينبغي استعمال ضوابط الكواشف السلبية عند تحسين ظروف الاسترجاع وعدد مرات البروتوكول.

اكتشاف المشكلات وحلها

ارجع إلى المرجع رقم 3 للاطلاع على الإجراء العلاجي.

اتصل بالموزع المحلي لديك أو بمكتب Leica Biosystems الإقليمي للإبلاغ عن أي تلوين غير اعتيادي.

المزيد من المعلومات

يمكن العثور على المزيد من المعلومات حول التلوين المناعي باستخدام كواشف BOND، تحت العناوين التالية: مبدأ الإجراء، المواد المطلوبة، إعداد العينة، ضبط الجودة، التحقق من صحة الفحص، تفسير التلوين، مفتاح الرمز المونة على الملصقات، والقيود العامة، وذلك في قسم "استعمال كواشف BOND" في وثائق مستخدم BOND التي بحوزتك.

قائمة المراجع

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors. American Journal of Clinical Pathology. 1985; 84(4):413-424.
5. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. American Journal of Pathology. 1984; 114(2):309-321.
6. Gown AM and Vogel AM. Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells: unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology. 1982; 95:414-424.
7. Varma M, Amin MB, Linden MD, Zarbo RJ. Discriminant staining pattern of small glandular and preneoplastic lesions of the prostate using high molecular weight cytokeratin antibody-A study of 301 consecutive needle biopsies. Modern Pathology. 1997; 10:93A.
8. O'Malley FP, Grignon DJ, Shum DT. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histopathology. 1990; 417:191-196.

يتمل ProClin[®] 950 علامة تجارية لشركة Supelco، وهي جزء من مؤسسة Sigma-Aldrich Corporation.

تاريخ الإصدار

11 سبتمبر 2018

Leica Biosystems Newcastle Ltd 
Balliol Business Park West
Benton Lane
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW
United Kingdom
☎ +44 191 215 4242

Leica Biosystems Canada
71 Four Valley Drive
Concord, Ontario L4K 4V8
Canada
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Inc
1700 Leider Lane
Buffalo Grove IL 60089
USA
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Melbourne
Pty Ltd
495 Blackburn Road
Mt Waverley VIC 3149
Australia
☎ +61 2 8870 3500