

FITC Anti-C3 Primary Antibody

REF 760-2686

05267978001

IVD  50

VERWENDUNGSZWECK

FITC Anti-C3 Primary Antibody ist ein mit Fluorescein markierter, polyklonaler Antikörper. Er ist für den Laboreinsatz zum qualitativen Immunofluoreszenz-Nachweis von C3 durch Fluoreszenzmikroskopie in Schnitten von gefrorenem Gewebe, die mit einem BenchMark IHC/ISH Gerät gefärbt wurden, bestimmt.

Dieses Produkt muss von einem qualifizierten Pathologen in Verbindung mit histologischen Untersuchungen, klinisch relevanten Informationen und geeigneten Kontrollen interpretiert werden.

Dieser Antikörper ist für die Verwendung in der In-vitro-Diagnostik (IVD) bestimmt.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Immunkomplexe (ICs) sind Makromoleküle, die aus Antikörpern bestehen, die an verschiedene Antigene gebunden sind.^{1,2} ICs werden bei der normalen Immunantwort gebildet und können sich ansammeln, falls sie nicht durch normale zelluläre Mechanismen effizient entfernt werden.² Überschüssige ICs können in Körperflüssigkeiten zirkulieren oder sich in verschiedenen Geweben ablagern, was lokal oder auf systemischer Ebene zu Entzündungen und Gewebeschäden führen kann.^{1,2} Die Nieren entfernen toxische Abbauprodukte des Stoffwechsels aus dem Blut und einige Nierenerkrankungen sind durch die Ablagerung von ICs gekennzeichnet, welche Immunglobuline (Igs) enthalten können.²

C3 (Komplement 3) ist ein Glykoprotein, das hauptsächlich in der Leber synthetisiert wird und das am häufigsten im menschlichen Plasma vorkommende Protein ist.^{3,4} C3 spielt eine wesentliche Rolle im Komplementsystem und trägt zur angeborenen Immunabwehr bei.³

Bei bestimmten Erkrankungen können anormale Mengen ICs und Ablagerungen von ICs in Geweben und Organen nachgewiesen werden.² Renale Erkrankungen, etwa Glomerulonephritis, können durch Ablagerungen von ICs, die durch verschiedene Igs und Komplementproteine gebildet werden, erkannt werden.⁵ Insgesamt gehören immunvermittelte renale Erkrankungen, darunter Glomerulonephritis, zu einer großen Gruppe Erkrankungen, bei denen ein dysregulierter Autoimmunprozess die vorherrschende treibende Kraft hinter dem Auftreten von Nierenentzündungen und -schäden ist.⁵⁻⁷ Diese Erkrankungen können durch IC-Ablagerungen aus einem oder mehreren der folgenden Bestandteile erkannt werden: Igs (z. B. IgG, IgM, IgA), Kappa- und Lambda-Leichtketten, Fibrinogen, C3 und/oder C1q.⁵⁻⁷

FITC Anti-C3 Primary Antibody kann verwendet werden, um Pathologen bei der Identifizierung von Immunkomplexablagerungen in Zusammenhang mit verschiedenen renalen Pathologien zu unterstützen.

VERFAHRENSPRINZIP

FITC Anti-C3 Primary Antibody bindet an das humane C3 in gefrorenen Gewebeschnitten. Die immunhistochemische Färbung ermöglicht generell die Sichtbarmachung von Antigenen durch sequenzielle Verwendung eines spezifischen Antikörpers und verschiedener Nachweiskomponenten, wobei die enzymatische Aktivierung des Chromogens zu einem sichtbaren Reaktionsprodukt an der Antigenstelle führt. Bei Antikörpern mit FITC-Markierung ist das Fluorochrom direkt mit dem primären Antikörper verknüpft, sodass keine zusätzliche Nachweisabfolge notwendig ist. Der primäre Antikörper bindet spezifisch an das Zielantigen und kann daraufhin sichtbar gemacht werden. Die Ergebnisse werden anhand Fluoreszenzmikroskopie mit dem geeigneten Filterset interpretiert.

IM LIEFERUMFANG ENTHALTENES MATERIAL

FITC Anti-C3 Primary Antibody enthält ausreichendes Reagenzmaterial für 50 Tests. Ein 5-mL-Spender mit FITC Anti-C3 Primary Antibody enthält ca. 440 µg eines FITC-markierten, polyklonalen Ziegen-Antikörpers.

Der Antikörper ist in Tris-HCl-Puffer mit Trägerprotein und 0.10 % ProClin 300, einem Konservierungsmittel, verdünnt.

Die spezifische Antikörperkonzentration beträgt etwa 88 µg/mL.

NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE, ABER ERFORDERLICHE MATERIALIEN

Färbereagenzien wie Hilfskomponenten, einschließlich der Objektträger mit negativen und positiven Gewebekontrollen, werden nicht mitgeliefert.

Möglicherweise sind nicht alle in dem Methodenblatt aufgeführten Produkte in allen Regionen verfügbar. Wenden Sie sich an den zuständigen Kundendienst.

Die folgenden möglicherweise für die Färbung benötigten Reagenzien und Materialien sind nicht im Lieferumfang enthalten:

1. Empfohlenes Kontrollgewebe
2. Objektträger, positiv geladen
3. EZ Prep Concentrate (10X) (Art.-Nr. 950-102 / 05279771001)
4. Reaction Buffer Concentrate (10X) (Art.-Nr. 950-300 / 05353955001)
5. LCS (Predilute) (Art.-Nr. 650-010 / 05264839001)
6. ULTRA LCS (Predilute) (Art.-Nr. 650-210 / 05424534001)
7. Allgemeine Laborgeräte
8. BenchMark IHC/ISH Gerät
9. Wässrige Eindeckmedien, für Fluoreszenz geeignet
10. Deckglas
11. Epifluoreszenzmikroskop (20-80X), ausgestattet mit einem FITC-Filter.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Bei Annahme, und wenn nicht verwendet, bei 2–8 °C lagern. Nicht einfrieren.

Um die ordnungsgemäße Abgabe der Reagenzien und die Stabilität des Antikörpers zu gewährleisten, muss die Spender-Verschlusskappe nach jedem Gebrauch wieder aufgesetzt und der Spender sofort in aufrechter Position in den Kühlschrank gestellt werden.

Jeder Antikörperspender ist mit einem Verfallsdatum versehen. Bei korrekter Lagerung ist das Reagenz bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil. Das Reagenz darf nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden.

PROBENVORBEREITUNG

Für die Verwendung mit diesem primären Antikörper eignen sich routinemäßig präparierte, gefrorene Gewebe, wenn sie mit BenchMark IHC/ISH Geräten verwendet werden. Die empfohlene Gewebefixierung beträgt 10 Minuten in kaltem Aceton. In Abhängigkeit von einer längeren Fixierung oder besonderen Bearbeitungen, z. B. der Entkalkung von Knochenmarkpräparaten, können unterschiedliche Ergebnisse auftreten.

Die Lagerung von gefrorenem Gewebe bei -80°C über einen längeren Zeitraum (bis zu 5 Jahre) behält die Proteinqualität bei.⁸

Jeder Schnitt sollte etwa 4 µm dick sein und auf einen positiv geladenen Objektträger aufgebracht werden.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

1. Zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik (IVD).
2. Nur zur professionellen Verwendung.
3. **WICHTIGER HINWEIS:** In den USA ist der Verkauf dieses Produkts laut Bundesgesetz nur durch einen Arzt oder auf Anordnung eines Arztes zulässig. (Rx Only (verschreibungspflichtig))
4. Nur für die angegebene Testanzahl verwenden.
5. ProClin 300 Lösung wird als Konservierungsmittel in diesem Reagenz verwendet. Es ist als Reizstoff eingestuft und kann eine Sensibilisierung durch Hautkontakt hervorrufen. Beim Umgang mit diesem Mittel angemessene Vorsichtsmaßnahmen zu treffen. Kontakt der Reagenzien mit Augen, Haut und Schleimhäuten vermeiden. Schutzhandschuhe und entsprechende Schutzkleidung tragen.
6. Positiv geladene Objektträger können gegenüber umgebungsbedingten Belastungen anfällig sein, die zu einer nicht adäquaten Färbung führen. Mehr Informationen über die Verwendung dieser Arten von Objektträgern erhalten Sie von Ihrem Roche Servicetechniker.
7. Materialien menschlichen oder tierischen Ursprungs müssen als biogefährliche Stoffe behandelt und mit den erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen entsorgt

werden. Im Falle einer Exposition sind die Richtlinien der zuständigen Gesundheitsbehörden zu beachten.^{9,10}

8. Kontakt der Reagenzien mit Augen und Schleimhäuten vermeiden. Bei Kontakt von Reagenzien mit empfindlichen Körperteilen mit reichlich Wasser spülen.
9. Mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden, da dies zu fehlerhaften Versuchsergebnissen führen kann.
10. Weiterführende Informationen zur Verwendung dieses Produkts sind dem Benutzerhandbuch des BenchMark IHC/ISH Geräts und den Gebrauchsanweisungen der benötigten Komponenten auf dialog.roche.com zu entnehmen.
11. Anweisungen zur vorschriftsmäßigen Entsorgung sind bei den zuständigen kommunalen und/oder staatlichen Behörden erhältlich.
12. Die Kennzeichnung der Produktsicherheit erfolgt in erster Linie nach der EU-GHS-Verordnung. Sicherheitsdatenblätter sind für professionelle Benutzer auf Anfrage erhältlich.
13. Bei Verdacht auf ein schwerwiegendes Ereignis im Zusammenhang mit diesem Produkt wenden Sie sich an den Roche-Vertreter vor Ort und melden das Ereignis bei der zuständigen Behörde des EU-Mitgliedstaats bzw. des Landes, in dem sich der Benutzer befindet.

Dieses Produkt enthält Bestandteile, die nach Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 wie folgt eingestuft sind:

Tabelle 1. Gefahrenhinweis.

Gefahr	Code	Hinweis
Warnung 	H317	Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
	H412	Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
	P261	Nebel oder Dämpfe nicht einatmen.
	P273	Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
	P280	Schutzhandschuhe tragen.
	P333 + P313	Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
	P362 + P364	Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.
	P501	Inhalt/Behälter einer zugelassenen Müllentsorgungsanlage zuführen.

Dieses Produkt enthält CAS-Nr. 55965-84-9, eine Reaktionsmasse von 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1).

FÄRBEVERFAHREN

VENTANA primäre Antikörper mit FITC-Markierung wurden zur Verwendung auf BenchMark IHC/ISH Geräten in Kombination mit VENTANA Zubehör entwickelt. Die empfohlenen Färbeprotokolle sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Dieser Antikörper wurde für spezifische Inkubationszeiten optimiert, der Benutzer sollte jedoch die mit diesem Reagenz erzielten Ergebnisse überprüfen.

Die Parameter für die automatisierten Verfahren können gemäß dem Verfahren im Benutzerhandbuch des Geräts angezeigt, gedruckt und bearbeitet werden.

Weitere Hinweise zur ordnungsgemäßen Verwendung dieses Produkts sind dem Methodenblatt des integrierten Spenders (Art.-Nr. 760-2686) zu entnehmen.

Tabelle 2. Empfohlene Färbeprotokolle für FITC Anti-C3 Primary Antibody auf BenchMark IHC/ISH Geräten.

Verfahrensart	Methode	
	XT	ULTRA oder ULTRA PLUS ^a
Fluoreszenz-Antikörper	Ausgewählt, 8 Minuten	Ausgewählt, 8 Minuten

^a Die Konkordanz zwischen BenchMark ULTRA und BenchMark ULTRA PLUS Geräten wurde unter Verwendung repräsentativer Assays aufgezeigt.

Durch die Unterschiede bei der Gewebefixierung und -aufbereitung sowie der allgemeinen Merkmale der verwendeten Laborgeräte und der herrschenden Laborbedingungen kann es erforderlich sein, die Inkubationsdauer für den primären Antikörper je nach verwendeten Proben und nach Ermessen des Ablesers zu verlängern oder zu verkürzen. Weiterführende Informationen über Fixierungsvariablen siehe „Immunohistochemistry Principles and Advances.“¹¹

Nach Abschluss des Laufs die Objektträger aus dem BenchMark IHC/ISH Gerät nehmen. Bei dem Chromogen FITC ist keine Dehydrierung und Klärung erforderlich. Die mit dem FITC-Primäranitkörper gefärbten Objektträger mit wässrigem Eindeckmedium aufbringen. Effiziente Entfernung der Liquid Coverslip Solution von den Objektträgern nach der Entnahme aus dem Gerät wird das Auftreten von Hintergrund-Autofluoreszenz stark reduzieren. Um dies zu erzielen, die Objektträger gründlich in Reaction Buffer spülen. Anschließend können die Objektträger in destilliertem Wasser gespült und eingedeckt werden. Die gefärbten Objektträger sollten am Tag der Färbung ausgelesen werden und in einer dunklen und kalten Umgebung (-20 °C oder -80 °C) aufbewahrt werden. Objektträger, die mit den FITC-Primäranitkörpern gefärbt sind, können mit der Zeit oder bei längerer Einwirkung von Licht quellen. Einwirkung von Licht vermeiden.

POSITIVE GEWEBEKONTROLLE

Jeder Färbelauf muss eine Gewebekontrolle beinhalten. Es ist optimale Laborpraxis, einen positiven Kontrollschnitt auf denselben Objektträger zu platzieren, auf dem sich auch das Testgewebe befindet. Auf diese Weise können Fehler bei Anwendung der Reagenzien auf den Objektträger erkannt werden. Gewebe mit schwach positiver Färbung ist zur Qualitätskontrolle am besten geeignet. Kontrollgewebe kann sowohl positiv als auch negativ färbende Bestandteile enthalten und damit als Positiv- wie auch als Negativkontrolle verwendet werden. Das Kontrollgewebe muss eine frische Probe einer Autopsie, Biopsie oder eines chirurgischen Eingriffs sein und so schnell wie möglich auf identische Weise wie die Probenschnitte präpariert oder fixiert werden.

Nachweislich positive Gewebekontrollen dürfen nur zur Kontrolle der Leistung von Reagenzien und Geräten verwendet werden und nicht als Unterstützung bei der Erstellung einer spezifischen Diagnose von Testproben. Wenn mit der positiven Gewebekontrolle keine positive Färbung nachgewiesen werden kann, gelten die Ergebnisse der Testprobe als ungültig.

Beispiele für positives Kontrollgewebe für FITC Anti-C3 Antikörper ist Nieren- oder Hautgewebe von Lupusfällen, das C3-Ablagerungen enthält.

AUSWERTUNG DER FÄRBUNG / ERWARTETE ERGEBNISSE

Das Ventana Verfahren zur automatisiertes Immunfärbung sorgt dafür, dass das Zielantigen mit dem markierten Primäranitkörper und dem verknüpften Fluorochrom sichtbar gemacht wird. Sofern vorhanden wird unspezifische Färbung gelb bis grünlich sichtbar sein. Auch in Schnitten von sehr stark fixiertem Gewebe kann eine sporadische leichte Färbung des Bindegewebes festgestellt werden. In gefärbten Gewebeproben kann Autofluoreszenz auftreten.

Ein qualifizierter, mit Immunfluoreszenz-Verfahren vertrauter Pathologe muss zunächst die positiven und negativen Gewebekontrollen auswerten, bevor die Ergebnisse interpretiert werden können.

SPEZIFISCHE EINSCHRÄNKUNGEN

Es sind möglicherweise nicht alle Assays auf jedem Gerät registriert. Weitere Informationen erhalten Sie von Ihrem Roche-Vertreter vor Ort.

LEISTUNGSMERKMALE

ANALYTISCHE LEISTUNG

Es wurden Färbetests auf Sensitivität, Spezifität und Präzision durchgeführt; die Ergebnisse sind unten aufgeführt

Sensitivität und Spezifität

Die nachfolgenden Tabellen zeigen die Reaktivität des Produkts bei verschiedenen normalen und neoplastischen gefrorenen Geweben sowie Geweben mit Nierenpathologie (Nierenlupus). Bei renalem Gewebe ist der positive C3-Status hinweisend, aber kein bestätigender Beweis für das Vorhandensein von IC-Ablagerungen.

Tabelle 3. Die Sensitivität/Spezifität des FITC Anti-C3 Primary Antibody wurde mittels Tests an gefrorenen, normalen Geweben und an Krankheitsbilder anzeigenden Geweben ermittelt

Gewebe	Anzahl positiver/ aller Fälle	Gewebe	Anzahl positiver/ aller Fälle
Großhirn (Gehirn)	0/4	Myeloide Zellen (Knochenmark)	0/3
Kleinhirn	0/3	Lunge	0/4
Nebenniere	0/3	Herz	0/3
Eierstock	0/4	Speiseröhre	0/3
Bauchspeicheldrüse	0/4	Magen	0/4
Plazenta	2/3	Dünndarm	0/1
Hirnanhangsdrüse	0/3	Dickdarm	0/4
Hoden	0/3	Leber	0/4
Schilddrüse	0/3	Harnleiter	0/3
Brust	0/4	Niere	0/4
Milz	0/3	Niere (Lupus)	4/5
Gebärmutter	0/4	Prostata	0/4
Quergestreifter Muskel	0/3	Gebärmutterhals	0/3
Muskel	0/1	Haut	0/4
Rückenmark	0/3	Lymphknoten	0/3
Blutgefäß (Arterie)	0/3	Eileiter	0/3
Thymus	0/3		

Tabelle 4. Die Sensitivität/Spezifität des FITC Anti-C3 Primary Antibody wurde mittels Tests an unterschiedlichen und gefrorenen neoplastischen Geweben ermittelt.

Pathologie	Anzahl positiver/ aller Fälle
Glioblastom (Cerebrum)	0/1
Adenokarzinom (Ovarien)	0/1
Adenokarzinom (Pankreas)	0/1
Invasives duktales Karzinom (Brust)	0/1
Adenokarzinom (Lunge)	0/1
Adenokarzinom (Magen)	0/1
Non-Hodgkin-Lymphom (Dünndarm)	0/1
Adenokarzinom (kolorektal)	0/1
Adenokarzinom (Leber)	0/1
Klärzellkarzinom (Niere)	0/1
Adenokarzinom (Prostata)	0/1
Adenokarzinom (Uterus)	0/1
Melanom (Haut)	0/1

Pathologie	Anzahl positiver/ aller Fälle
Leiomyosarkom (glatte Muskulatur)	0/1

Präzision

In Präzisionsstudien mit FITC Anti-C3 Primary Antibody wurde Folgendes untersucht:

- Inter-Chargen-Präzision des Antikörpers.
- Intra-Lauf- und Inter-Tages-Präzision auf einem BenchMark ULTRA Gerät.
- Inter-Geräte-Präzision auf dem BenchMark XT und BenchMark ULTRA Gerät.
- Inter-Plattform-Präzision auf dem BenchMark XT und BenchMark ULTRA Gerät.

Alle Studien erfüllten die jeweiligen Akzeptanzkriterien.

Die Präzision auf dem BenchMark ULTRA PLUS Gerät wurde unter Verwendung repräsentativer Assays gezeigt. In den Studien wurden die Wiederholbarkeit innerhalb eines Laufs, die Inter-Tages-Laborpräzision und die Inter-Lauf-Laborpräzision untersucht. Alle Studien erfüllten die jeweiligen Akzeptanzkriterien.

LITERATURANGABEN

1. Theofilopoulos AN, Dixon FJ. Immune Complexes in Human Diseases: A Review. *Am J Pathol.* 1980;100(2):529-594.
2. Aibara N, Ohyama K. Revisiting Immune Complexes: Key to Understanding Immune-Related Diseases. *Adv Clin Chem.* 2020;96:1-17.
3. Delanghe JR, Speeckaert R, Speeckaert MM. Complement C3 and Its Polymorphism: Biological and Clinical Consequences. *Pathology.* 2014;46(1):1-10.
4. Ricklin D, Reis ES, Mastellos DC, et al. Complement Component C3 - the "Swiss Army Knife" of Innate Immunity and Host Defense. *Immunol Rev.* 2016;274(1):33-58.
5. Sethi S, Haas M, Markowitz GS, et al. Mayo Clinic/Renal Pathology Society Consensus Report on Pathologic Classification, Diagnosis, and Reporting of Gn. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27(5):1278-128.
6. Glasscock RJ, Cohen AH. The Primary Glomerulopathies. *Dis Mon.* 1996;42(6):329-38.
7. Kdigo Clinical Practice Guideline for Glomerulonephritis. 2012.
8. Auer H, Mobley JA, Ayers LW, et al. The effects of frozen tissue storage conditions on the integrity of RNA and protein. *Biotech Histochem* 2014;89(7): 518–528.
9. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
10. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
11. Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

HINWEIS: In diesem Dokument wird statt einem Komma ein Punkt als Dezimaltrennzeichen verwendet, um die Vorkomma- von den Nachkommastellen zu trennen. Es werden keine Tausendertrennzeichen verwendet.

Symbole

Ventana verwendet die folgenden Symbole und Zeichen zusätzlich zu den Symbolen und Zeichen gemäß Norm ISO 15223-1 (USA: siehe die Symboldefinition auf dialog.roche.com):



Globale Artikelidentnummer



Eindeutige Geräteerkennung (UDI)



Verweist auf den Importeur des medizinischen Produkts in die Europäische Union

VERSIONSVERLAUF

Rev.	Updates
C	Aktualisierung der folgenden Abschnitte: Verwendungszweck, Zusammenfassung und Erklärung, Verfahrensprinzip, Im Lieferumfang enthaltenes Material, Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber erforderliche Materialien, Lagerung und Haltbarkeit, Probenvorbereitung, Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen, Färbeverfahren, Positive Gewebekontrolle, Auswertung der Färbung / Erwartete Ergebnisse, Spezifische Einschränkungen, Analytische Leistung, Literaturangaben, Symbole, Geistiges Eigentum und Kontaktdaten. Hinzufügung von BenchMark ULTRA PLUS Gerät.

GEISTIGES EIGENTUM

VENTANA, BENCHMARK, und das VENTANA Logo sind Warenzeichen von Roche. Alle sonstigen Marken sind Eigentum der jeweiligen Inhaber.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

KONTAKTDATEN

Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.roche.com



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

