

FITC Anti-Kappa Primary Antibody

REF

760-2683

05267943001

IVD


50

URČENÉ POUŽITÍ

Protilátka FITC anti-Kappa Primary Antibody je polyklonální protilátka značená fluoresceinem. Je určena pro laboratorní použití při kvalitativní imunofluorescenční detekci lehkých řetězců imunoglobulinu kappa pomocí fluorescenční mikroskopie v řezech zmrazené tkáně obarvených na přístroji BenchMark IHC/ISH.

Tento produkt musí být interpretován kvalifikovaným patologem v kombinaci s histologickým vyšetřením, relevantními klinickými informacemi a správnými kontrolami. Tato protilátka je určena pro diagnostické použití in vitro (IVD).

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Imunitní komplexy (immune complexe, IC) jsou makromolekuly sestávající z protilátek navázaných na různé antigeny.^{1,2} Komplexy IC vznikají jako součást normální imunitní odpovědi, a pokud nejsou účinně odstraňovány běžnými buněčnými mechanismy, mohou se hromadit.² Přebytké komplexu IC mohou cirkulovat v tělesných tekutinách nebo se ukládat v různých tkáních, což vede k zánětu a poškození tkání na místní nebo systémové úrovni.^{1,2} Ledviny odstraňují toxické metabolické odpadní produkty z krve a některá onemocnění ledvin jsou charakterizována ukládáním komplexů IC, které mohou obsahovat imunoglobuliny (Ig).²

Imunoglobuliny Ig se rovněž skládají ze dvou identických těžkých a lehkých řetězců.^{3,4} Dva typy lehkých řetězců, Kappa a Lambda, se vzájemně vylučují a jejich variabilní domény umožňují rozpoznat jeden z 10¹¹ možných antigenů.⁴⁻⁶

Imunoglobuliny Ig mohou tvořit komplexy IC s antigeny, které vytvářejí depozita v tkáních různých orgánů.² Abnormální množství komplexů IC a depozit komplexů IC v tkáních a orgánech lze detekovat u některých onemocnění.² Renální stavy, včetně mimo jiné glomerulonefritidy, mohou být charakterizovány depozity komplexů IC tvořenými různými Ig a proteiny komplementu.⁷ Imunitně zprostředkovaná onemocnění ledvin, včetně glomerulonefritidy, jsou souhrnně širokou skupinou stavů, u nichž dysregulovaný autoimunitní proces představuje dominantní hnací sílu vzniku zánětu a poškození ledvin.⁷⁻⁹ Tato onemocnění mohou být charakterizována depozity komplexů IC složenými z jedné nebo více následujících složek: Ig (např. IgG, IgM, IgA), lehké řetězce kappa a lambda, fibrinogen, C3 a/nebo C1q.⁷⁻⁹

Primární protilátka FITC anti-Kappa Primary Antibody lze použít jako pomůcku pro patologa při identifikaci depozit imunitních komplexů spojených s různými patologiemi ledvin.

PRINCIP POSTUPU

Protilátka FITC Anti-Kappa Primary Antibody se váže na lidské lehké řetězce imunoglobulinu kappa ve zmrazených tkáňových řezech. Imunohistochemické barvení obecně umožňuje vizualizaci antigenů prostřednictvím postupné aplikace specifické protilátky a různých detekčních složek, přičemž enzymatická aktivace chromogenu vede k viditelnému reakčnímu produktu v místě antigenu. U protilátek značených FITC je fluorochrom navázán přímo na primární protilátku, a proto není nutná žádná další detekční kaskáda. Primární protilátka se specificky váže na cílový antigen a může být vizualizována. Výsledky se interpretují pomocí fluorescenčního mikroskopu s příslušnou sadou filtrů.

DODÁVANÝ MATERIÁL

Protilátka FITC Anti-Kappa Primary Antibody obsahuje dostatečné množství reagentie pro 50 testů.

Jeden 5mL dávkovač protilátky FITC Anti-Kappa Primary Antibody obsahuje přibližně 1.5 µg koží polyklonální protilátky značené FITC.

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

Konzentrace specifické protilátky je přibližně 0.3 µg/mL.

POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY

Barvicí reagentie, například pomocné složky, včetně sklíček pro negativní a pozitivní kontrolu tkáně, nejsou součástí dodávky.

Všechny produkty uvedené v metodickém listu nemusejí být dostupné ve všech zeměpisných oblastech. Obrátte se na místní servisní zastoupení.

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

1. Doporučená kontrolní tkáň
2. Mikroskopická sklička, kladně nabitá
3. EZ Prep Concentrate (10X) (kat. č. 950-102 / 05279771001)
4. Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat. č. 950-300 / 05353955001)
5. LCS (Predilute) (kat. č. 650-010 / 05264839001)
6. LCS (ULTRA Predilute) (kat. č. 650-210 / 05424534001)
7. Obecné laboratorní vybavení
8. Přístroj BenchMark IHC/ISH
9. Vodná fixační média, vhodná pro fluorescenci
10. Krycí sklo
11. Epifluorescenční mikroskop (20–80×), vybavený filtrem FITC

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Po přijetí a mezi použitími uchovávejte při teplotě 2–8 °C. Nezmrazujte.

Aby byla zajištěna správná funkčnost reagentie a stabilita protilátky, musí se dávkovač po každém použití uzavřít víčkem a okamžitě umístit ve svislé poloze do chladničky.

Každý dávkovač protilátky má stanovenou dobu expirace. Při řádném skladování zůstane reagentie stabilní do data uvedeného na štítku. Po uplynutí data expirace reagentii nepoužívejte.

PŘÍPRAVA VZORKŮ

Pro použití s touto primární protilátkou jsou vhodné běžně zpracované, zmrazené tkáně, pokud jsou použity s přístroji BenchMark IHC/ISH. Doporučené fixativum na tkáň je 10 minut ve studeném acetonu. Mohou se vyskytnout rozdílné výsledky jako důsledek prodloužené fixace nebo speciálních procesů, například odvápnění preparátů kostní dřeně.

Skladování zmrazených tkání při teplotě –80 °C po delší dobu, až 5 let, zachovává kvalitu proteinů.¹⁰

Jednotlivé řezy musejí být nařezány na tloušťku přibližně 4 µm a namontovány na kladně nabitě skličko.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Určeno k diagnostickému použití in vitro (IVD).
2. Pouze k odbornému použití.
3. **UPOZORNĚNÍ:** Federální zákony USA omezují prodej tohoto prostředku pouze lékařům nebo na jejich objednávku. (Rx Only).
4. Nepoužívejte nad rámec specifikovaného počtu testů.
5. Roztok ProClin 300 se používá v této reagentii jako konzervační prostředek. Je klasifikován jako dráždivý a při styku s kůží může způsobit senzibilizaci. Při manipulaci dodržujte příslušná bezpečnostní opatření. Zamezte kontaktu reagentii s očima, kůží a sliznicemi. Používejte ochranný oděv a rukavice.
6. Kladně nabitá sklička mohou být citlivá na zátěž prostředí, což má za následek nevhodné zbarvení. Požádejte zástupce společnosti Roche o další informace o tom, jak používat tyto typy sklíček.
7. S materiálem lidského nebo živočišného původu je třeba nakládat jako s biologicky nebezpečným materiálem a likvidovat jej v souladu s platnými bezpečnostními opatřeními. V případě expozice je potřeba se řídit zdravotnickými směrnici odpovědných orgánů.^{11,12}
8. Zabraňte kontaktu reagentii s očima a sliznicemi. Jestliže se reagentie dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte zasažené oblasti vydatným množstvím vody.
9. Zabraňte mikrobiální kontaminaci reagentii, mohla by způsobit nepresnost výsledků.
10. Další informace o používání tohoto prostředku obsahuje uživatelská příručka přístroje BenchMark IHC/ISH a návody k použití všech nezbytných součástí, které naleznete na internetových stránkách dialog.roche.com.
11. Doporučené metody likvidace jsou uvedeny v celostátních a/nebo místních předpisech.

12. Označení produktu bezpečnostními štítky se řídí hlavně pokyny GHS EU. Pro profesionální uživatele je na vyžádání k dispozici bezpečnostní list.
13. Pro nahlášení podezřelých závažných incidentů týkajících se tohoto prostředku se obraťte na místního zástupce společnosti Roche a kompetentní orgány členského státu nebo země, ve které uživatel provozuje činnost.

Tento produkt obsahuje součásti klasifikované následovně podle směrnice (ES) č. 1272/2008:

Tab. 1. Informace o rizicích.

Riziko	Kód	Věta
	H317	Může vyvolat alergickou kožní reakci.
	H412	Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky.
	P261	Zamezte vdechování mlhy a par.
	P273	Zabraňte uvolnění do životního prostředí.
	P280	Používejte ochranné rukavice.
	P333 + P313	Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
	P362 + P364	Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte.
	P501	Odstraňte obsah/obal předáním do schváleného zařízení k likvidaci odpadu.

Tento produkt obsahuje látku s č. CAS 55965-84-9, reakční směs 5-chlor-2-methyl-2H-isothiazolin-3-onu a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu (3 : 1).

POSTUP BARVENÍ

Primární protilátky VENTANA značené FITC byly vyvinuty pro použití na přístrojích BenchMark IHC/ISH společně s příslušenstvím VENTANA. Doporučené barvicí protokoly uvádí Tab. 2 níže.

Tato protilátka byla optimalizována pro specifické inkubační doby, uživatel však musí výsledky získané pomocí této reagentie validovat.

Parametry automatických procesů lze zobrazit, vytisknout a upravovat podle postupů uvedených v uživatelské příručce přístroje.

Další podrobnosti o správném používání tohoto prostředku najdete v metodickém listu ke vkládacím dávkovačům (P/N 760-2683).

Tab. 2. Doporučené barvicí protokoly pro protilátku FITC Anti-Kappa Primary Antibody na přístrojích BenchMark IHC/ISH.

Typ postupu	Metoda	
	XT	ULTRA nebo ULTRA PLUS ^a
Fluorescenční protilátka	Zvoleno, 8 minut	Zvoleno, 8 minut

^a Shoda mezi přístroji BenchMark ULTRA a BenchMark ULTRA PLUS byla prokázána pomocí reprezentativních testů.

Vzhledem k různým způsobům fixace a zpracování tkání, jakož i obecnému stavu přístroje a podmínkám laboratorního prostředí může být potřeba prodloužit nebo zkrátit dobu inkubace s primární protilátkou v závislosti na jednotlivých použitých vzorcích a preferenci hodnotitele. Další informace o různých fixacích naleznete v příručce „Imunohistochemistry Principles and Advances“ (Zásady a postupy imunohistochemie).¹³

Po dokončení cyklu odstraňte sklička z přístroje BenchMark IHC/ISH. Pro chromogen FITC nedehydratujte a nečistěte. Sklička obarvená primární protilátkou FITC zafixujte pomocí vodního fixačního média. Účinné odstranění roztoku Liquid Coverslip Solution ze sklíček po vyjmutí z přístroje výrazně sníží autofluorescenci pozadí. Za tím účelem sklička důkladně opláchněte v pufru Reaction Buffer. Sklička lze poté opláchnout v destilované vodě a lze na ně nanést krycí skličko. Obarvená sklička by se měla odečítat ještě týž den,

kdy byla obarvena, a měla by se uchovávat v temnu v chladném prostředí (–20° C nebo –80° C). Sklička obarvená primárními protilátkami FITC se mohou časem nebo při delším působení světla zakalit. Nevystavujte je působení světla.

POZITIVNÍ KONTROLNÍ TKÁŇ

Kontrolní tkáň musí být testována při každém barvicím cyklu. Nejvhodnějším laboratorním postupem je uložit řez pro pozitivní kontrolu na stejné skličko jako testovanou tkáň. Při nanášení reagentie na skličko pak lze snáze zjistit případné závady. Pro kontrolu kvality je nejvhodnější tkáň se slabým pozitivním zbarvením. Kontrolní tkáň může obsahovat pozitivně i negativně zbarvené prvky a sloužit pro pozitivní i negativní kontrolu. Kontrolní tkání by měl být čerstvý vzorek z pitvy, biopsie nebo operace, připravený a fixovaný co nejdříve stejným způsobem jako testované řezy.

Známé pozitivní kontroly tkání je nutno používat pouze ke sledování správné funkce reagentie a přístrojů, nikoli jako pomůcku ke stanovení konkrétní diagnózy testovaných vzorků. Pokud pozitivní kontroly tkání pozitivní zbarvení nevykazují, je třeba považovat výsledky testovaných vzorků za neplatné.

Příklady tkáně pro pozitivní kontrolu protilátky FITC Anti-Kappa jsou zmrazená mandle či lymfatická uzlina.

INTERPRETACE BARVENÍ / OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY

Imunologický postup automatizovaného barvení Ventana způsobí vizualizaci cílového antigenu pomocí označené primární protilátky a navázaného fluorochromu. Nespecifické zbarvení, pokud je přítomno, má jasně žlutou až nazelenalou barvu. V tkáních, které jsou nadměrně fixovány, lze rovněž pozorovat sporadické lehké zbarvení pojivové tkáně. V obarvených vzorcích tkání může být přítomna autofluorescence.

Kvalifikovaný patolog se zkušeností s imunofluorescenčními postupy musí před interpretací výsledků nejprve vyhodnotit pozitivní a negativní kontroly.

SPECIFICKÁ OMEZENÍ

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

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

ANALYTICKÁ VÝKONNOST

Níže jsou uvedeny výsledky provedených testů barvení týkajících se senzitivity, specifity a preciznosti.

Senzitivita a specifita

Níže uvedené tabulky ukazují reaktivitu výrobku na různé běžné a neoplastické zmrazené tkáně, jakož i na patologické tkáně ledvin (ledvinový lupus). Pozitivní stav kappa v tkáni ledvin naznačuje, ale nepotvrzuje přítomnost depozit komplexu IC.

Tab. 3. Senzitivita/specifita protilátky FITC Anti-Kappa Primary Antibody byla stanovena testováním zmrazené běžné tkáně a indikační patologické tkáně.

Tkáň	Počet pozitivních případů / celkový počet případů	Tkáň	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Velký mozek (mozek)	0/4	Brzlík	3/3
Mozeček	0/3	Myeloidní tkáň (kostní dřeň)	0/3
Nadledvinka	0/3	Plíce	0/4
Vaječník	0/4	Srdce	0/3
Slinivka	1/4	Jícen	3/3
Placenta	0/3	Žaludek	3/4
Hypofýza	0/3	Tenké střevo	0/1
Varle	0/3	Tlusté střevo	3/4
Štítná žláza	0/3	Játra	0/4

Tkáň	Počet pozitivních případů / celkový počet případů	Tkáň	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Prs	0/4	Močovod	0/3
Slezina	0/3	Ledvina	0/4
Mandle	1/1	Ledvina (lupus)	5/5
Děloha	0/4	Prostata	0/4
Příčně pruhovaný sval	0/3	Děložní hrdlo	0/3
Svaly	0/1	Kůže	0/4
Mícha	0/3	Lymfatické uzliny	3/3
Krevní céva (arterie)	0/3	Vejcovod	0/3

Tab. 4. Senzitivita/specifita protilátky FITC Anti-Kappa Primary Antibody byla stanovena testováním řady zmrazených neoplastických tkání.

Patologie	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Glioblastom (mozek)	0/1
Adenokarcinom (vaječník)	1/1
Adenokarcinom (slinivka)	0/1
Invasivní duktální karcinom (prs)	0/1
Adenokarcinom (plicе)	0/1
Adenokarcinom (žaludek)	1/1
Non-Hodgkinův lymfom (tenké střevo)	0/1
Adenokarcinom (kolorektální)	0/1
Adenokarcinom (játra)	1/1
Karcinom z jasných buněk (ledvina)	0/1
Adenokarcinom (prostata)	0/1
Adenokarcinom (děloha)	0/1
Melanom (kůže)	0/1
Leiomyosarkom (hladký sval)	0/1

Preciznost

Studie preciznosti pro protilátku FITC Anti-Kappa Primary Antibody byly provedeny za účelem prokázání:

- Preciznosti výsledků protilátky mezi šaržemi.
- Preciznosti během jednoho cyklu a mezi různými dny na přístrojích BenchMark ULTRA.
- Preciznosti mezi přístroji na přístrojích BenchMark XT a BenchMark ULTRA.
- Preciznosti mezi platformami mezi přístroji BenchMark XT a BenchMark ULTRA.

Všechny studie splnily kritéria přijatelnosti.

Preciznost na přístroji BenchMark ULTRA PLUS byla prokázána pomocí reprezentativních testů. Studie zahrnovaly opakovatelnost v rámci cyklu, mezilehlou preciznost mezi dny a mezi cykly. Všechny studie splnily kritéria přijatelnosti.

LITERATURA

- Theofilopoulos AN, Dixon FJ. Immune Complexes in Human Diseases: A Review. Am J Pathol. 1980; 100(2): 529–594.
- Aibara N, Ohya K. Revisiting Immune Complexes: Key to Understanding Immune-Related Diseases. Adv Clin Chem. 2020; 96: 1–17.
- Melchers F. Checkpoints That Control B Cell Development. J Clin Invest. 2015; 125(6): 2203–221.
- Pieper K, Grimbacher B, Eibel H. B-Cell Biology and Development. J Allergy Clin Immunol. 2013; 131(4): 959–97.
- Grattendick K, Pross S. Immunoglobulins. V: Xpharm: The Comprehensive Pharmacology Reference. 2007: 1–6.
- Lucas JS, Murre C, Feeney AJ, et al. The Structure and Regulation of the Immunoglobulin Loci. V: Molecular Biology of B Cells. 2015:1–11.
- 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.
- Glasscock RJ, Cohen AH. The Primary Glomerulopathies. Dis Mon. 1996; 42(6): 329–38.
- Kdigo Clinical Practice Guideline for Glomerulonephritis. 2012.
- 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.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/54/ES ze dne 18. září 2000 o ochraně zaměstnanců před riziky spojenými s expozicí biologickým činitelům při práci.
- Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

POZNÁMKA: V tomto dokumentu se jako symbol pro oddělování celého čísla a desetinných míst používá vždy tečka. Oddělovače pro tisíce se nepoužívají.

Symbody

Společnost Ventana používá následující symbody a znaky nad rámec uvedený v normě ISO 15223-1 (pro USA: definici použitých symbolů naleznete na internetových stránkách dialog.roche.com):



Globální číslo obchodní položky



Jedinečná identifikace prostředku



Označuje subjekt dovážející zdravotnický prostředek do Evropské unie

HISTORIE REVIZÍ

Rev.	Aktualizace
C	Aktualizovány oddíly Určené použití, Souhrn a vysvětlení, Princip postupu, Dodávaný materiál, Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky, Skladování a stabilita, Příprava vzorků, Upozornění a bezpečnostní opatření, Postup barvení, Pozitivní kontrola tkáně, Interpretace barvení / Očekávané výsledky, Specifická omezení, Analytická výkonnost, Literatura, Symbody, Duševní vlastnictví a Kontaktní informace. Doplňen přístroj BenchMark ULTRA PLUS.

DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

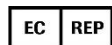
VENTANA, BENCHMARK a logo VENTANA jsou ochranné známky společnosti Roche. Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

KONTAKTNÍ INFORMACE

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

www.ventanamedical.com



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

