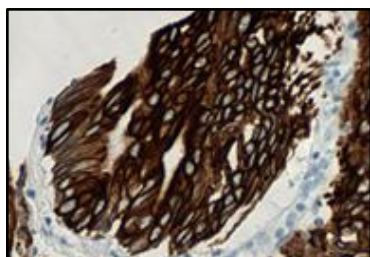


CONFIRM anti-Cytokeratin 20 (SP33) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

REF 790-4431

05587760001

IVD  50



Obr. 1. Cytoplazmatické zbarvení adenokarcinomu tlustého střeva protilátkou CONFIRM anti-Cytokeratin 20 (SP33) Rabbit Monoclonal Primary Antibody.

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

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Protilátka CONFIRM anti-Cytokeratin 20 (SP33) Rabbit Monoclonal Primary Antibody (protilátka CONFIRM anti-Cytokeratin 20 (SP33)) detekuje CK20, (kyselý) cytotkeratin typu I, kódovaný genem *KRT20*.^{1,2} Detekce CK20 pomocí IHC je typicky omezena na gastrointestinální epitelové, uroteliální a Merkelovy buňky; exprese CK20 je tedy detekována v karcinomu z Merkelových buněk, ve většině případů uroteliálního karcinomu a kolorektálního adenokarcinomu a v podskupině adenokarcinomů žaludku.^{1,2,3,4,5} Kromě toho je exprese CK20 pozorována u většiny mucinózních neoplasmů vaječníků a u některých adenokarcinomů slinivky a žlučového. ^{1,2,3} Je třeba poznamenat, že diagnostická využitelnost CK20 se zvyšuje při použití ve spojení s cytotkeratinem 7 (CK7).^{1,2,3,4,6}

Detekce CK20 pomocí imunohistochemie (IHC) s protilátkou CONFIRM anti-Cytokeratin 20 (SP33) může být použita jako pomůcka při identifikaci kolorektálního adenokarcinomu. Tato protilátka může být použita jako součást panelu studií IHC. Vzor barvení je cytoplazmatický.

PRINCIP POSTUPU

Protilátka CONFIRM anti-Cytokeratin 20 (SP33) je králičí monoklonální protilátka namířená proti karboxylovému konci lidského proteinu CK20. Tuto protilátku je možné zobrazit pomocí detekční soupravy *ultraView* Universal DAB Detection Kit (kat. č. 760-500 / 05269806001). Další informace najdete v metodickém listu k detekční soupravě *ultraView* Universal DAB Detection Kit.

DODÁVANÝ MATERIÁL

Protilátka CONFIRM anti-Cytokeratin 20 (SP33) obsahuje dostatek reagentie pro 50 testů.

Jeden 5mL dávkovač protilátky CONFIRM anti-Cytokeratin 20 (SP33) obsahuje přibližně 9.5 µg králičí monoklonální protilátky.

Protilátka je naředěna ve fyziologickém roztoku s fosforečnanovým pufrům s obsahem nosičového proteinu a 0.10 % konzervačního prostředku ProClin 300.

Koncentrace specifické protilátky je přibližně 1.9 µg/mL. Pro tento produkt není známa žádná nespecifická reaktivita protilátky.

Protilátka CONFIRM anti-Cytokeratin 20 (SP33) obsahuje rekombinantní králičí monoklonální protilátku jako purifikovaný supernatant buněčné kultury.

Podrobné popisy následujících položek naleznete v příslušném metodickém listu v detekční soupravě VENTANA: Princip postupu, Materiál a metody, Odběr vzorků a příprava pro analýzu, Postupy kontroly kvality, Řešení problémů, Interpretace výsledků a Omezení.

POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY

Barvicí reagentie, například detekční soupravy VENTANA a pomocné materiály, včetně sklíček pro negativní a pozitivní kontrolu tkáně, nejsou součástí dodávky.

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

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

1. Doporučená kontrolní tkáň
2. Mikroskopická sklíčka, pozitivně nabitá
3. Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (kat. č. 790-4795 / 06683380001)
4. *ultraView* Universal DAB Detection Kit (kat. č. 760-500 / 05269806001)
5. EZ Prep Concentrate (10X) (kat. č. 950-102 / 05279771001)
6. Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat. č. 950-300 / 05353955001)
7. LCS (Predilute) (kat. č. 650-010 / 05264839001)
8. ULTRA LCS (Predilute) (kat. č. 650-210 / 05424534001)
9. Cell Conditioning Solution (CC1) (kat. č. 950-124 / 05279801001)
10. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (kat. č. 950-224 / 05424569001)
11. Hematoxylin II (kat. č. 790-2208 / 05277965001)
12. Bluing Reagent (kat. č. 760-2037 / 05266769001)
13. Trvalé fixační médium
14. Krycí sklo
15. Automatizovaný podavač krycích sklíček
16. Obecné laboratorní vybavení
17. Přístroj BenchMark IHC/ISH

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

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

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

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

PŘÍPRAVA VZORKŮ

Pro použití této primární protilátky s detekčními soupravami VENTANA a přístroji BenchMark IHC/ISH jsou vhodné tkáně zpracované běžným způsobem, fixované formalinem, zalité parafinem (FFPE). Doporučeným fixativem na tkáň je 10% neutrální pufovaný formalin.⁷ Sklíčka je třeba obarvit neprodleně, neboť antigenost připravených tkáňových řezů se může postupem času snižovat.

Vyšetření neznámých vzorků doporučujeme provádět souběžně s pozitivními a negativními kontrolními vzorky.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Určeno k diagnostickému použití in vitro (IVD).
2. Pouze k odbornému použití.
3. **UPOZORNĚNÍ:** Federální zákony USA 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 reagentie s očima, kůží a sliznicemi. Používejte ochranný oděv a rukavice.
6. Pozitivně nabitá sklíčka 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 nebezpečným biologickým materiálem a likvidovat jej v souladu s platnými bezpečnostními opatřeními. V případě expozice je potřeba se řídit zdravotnickými směrnici odpovědných orgánů.^{8,9}

8. Tento výrobek obsahuje 1 % nebo méně hovězího séra, které se používá při výrobě protilátky.
9. Zabraňte kontaktu reagensů s očima a sliznicemi. Jestliže se reagenzie dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte zasažené oblasti vydatným množstvím vody.
10. Zabraňte mikrobiální kontaminaci reagensů, mohla by způsobit nepřesnost výsledků.
11. 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.
12. Doporučené metody likvidace jsou uvedeny v celostátních a/nebo místních předpisech.
13. Označení produktu bezpečnostními štítky se řídí hlavně pokyny GHS EU. Pro profesionální uživatele je na vyžádání k dispozici bezpečnostní list.
14. Pro nahlášení podezřelých závažných incidentů týkajících se tohoto prostředku se obraťte na místního zástupce společnosti Roche a kompetentní orgány členského státu nebo země, ve které uživatel provozuje činnost.

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

Tab. 1. Informace o rizicích.

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

Tento produkt obsahuje látku s č. CAS 55965-84-9, směs: 5-chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-onu a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu (3 : 1).

POSTUP BARVENÍ

Primární protilátky VENTANA byly vyvinuty pro použití v přístrojích BenchMark IHC/ISH společně s detekčními soupravami a příslušenstvím VENTANA. Doporučené barvicí protokoly naleznete v Tab. 2.

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

Parametry automatických procesů lze zobrazit, vytisknout a upravovat podle postupů uvedených v uživatelské příručce přístroje. Další podrobné informace o postupech imunohistochemického barvení naleznete v metodickém listu k příslušné detekční soupravě VENTANA.

Další podrobnosti o správném používání tohoto prostředku najdete v metodickém listu ke vkládacímu dávkovači (P/N 790-4431).

Tab. 2. Doporučený barvicí protokol pro protilátku CONFIRM anti-Cytokeratin 20 (SP33) s detekční soupravou *ultra*View Universal DAB Detection Kit na přístrojích BenchMark IHC/ISH.

Typ postupu	Metoda	
	XT	ULTRA
Odparafinování	Zvoleno	Zvoleno
Úprava buněk (odmaskování antigenu)	CC1, standardní	ULTRA CC1 64 minut, 95 °C

Typ postupu	Metoda	
	XT	ULTRA
Protilátka (primární)	16 minut, 37 °C	16 minut, 36 °C
Kontrastní barvivo	Hematoxylin II, 4 minuty	
Po kontrastním barvení	Bluing, 4 minuty	

Vzhledem k různým způsobům fixace a zpracování tkání, jakož i obecnému stavu přístroje a podmínkám laboratorního prostředí může být potřeba prodloužit nebo zkrátit dobu inkubace s primární protilátkou, dobu úpravy buněk nebo dobu předběžného zpracování proteázou v závislosti na jednotlivých vzorcích, použité metodě detekce a vlastní preferenci. Další informace o různých fixacích naleznete v příručce „Immunohistochemistry Principles and Advances“ (Zásady a postupy imunohistochemie).¹⁰

NEGATIVNÍ REAGENČNÍ KONTROLA

Kromě obarvení protilátkou CONFIRM anti-Cytokeratin 20 (SP33) by mělo být provedeno obarvení druhého sklíčka s odpovídající reagenzií negativní kontroly.

POZITIVNÍ KONTROLA TKÁNĚ

Nejvhodnějším laboratorním postupem je uložit řez pro pozitivní kontrolu na stejné sklíčko jako testovanou tkáň. Při nanášení reagenzie na sklíčko pak lze snáze zjistit případné závady. Pro kontrolu kvality je nejvhodnější tkáň se slabým pozitivním zbarvením. Kontrolní tkáň může obsahovat pozitivně i negativně zbarvené prvky a sloužit pro pozitivní i negativní kontrolu. Kontrolní tkáni by měl být čerstvý vzorek z pitvy, biopsie nebo operace, připravený a fixovaný co nejdříve stejným způsobem jako testované řezy. Známé pozitivní kontroly tkání je nutno používat pouze ke sledování správné funkce reagenzií 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 této protilátky jsou normální epitel tlustého střeva a adenokarcinom tlustého střeva.

INTERPRETACE BARVENÍ / OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY

Vzor barvení buněk pro protilátku CONFIRM anti-Cytokeratin 20 (SP33) je cytoplazmatický.

SPECIFICKÁ OMEZENÍ

Několik tkání vykazovalo rozptýlené barvení pozadí makrofágů, avšak vzor získaný u makrofágů není podobný specifickému vzoru barvení Cytokeratinu 20 v pozitivních tkáních.

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

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

ANALYTICKÁ VÝKONNOST

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

Senzitivita a specifita

Tab. 3. Senzitivita/specifita protilátky CONFIRM anti-Cytokeratin 20 (SP33) byla stanovena testováním běžných tkání FFPE.

Tkáň	Počet pozitivních případů / celkový počet případů	Tkáň	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Velký mozek	0/3	Žaludek	3/3
Mozeček	0/3	Tenké střevo	3/3
Vaječník	0/3	Tlusté střevo ^a	36/36

Tkáň	Počet pozitivních případů / celkový počet případů	Tkáň	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Slinivka	0/3	Játra	0/3
Příštitné tělísko	0/3	Slinná žláza	0/3
Hypofýza	0/3	Ledvina	0/3
Varle	0/3	Prostata	0/3
Štitná žláza	0/3	Endometrium	0/3
Prs	0/3	Děložní hrdlo	0/3
Slezina	0/3	Kosterní sval	0/3
Mandle	0/3	Kůže	1/3
Brzlík	0/3	Nerv	0/3
Kostní dřev	0/3	Plíce	0/3
Srdce	0/3	Mezotel	0/3
Jícen	0/3	Močový měchýř	3/3

^a Kategorie tkáně zahrnuje nenádorové zánětlivé nebo chorobné případy.

Tab. 4. Senzitivita/specifita protilátky CONFIRM anti-Cytokeratin 20 (SP33) byla stanovena testováním řady neoplastických tkání FFPE.

Patologie	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Glioblastom (mozek)	0/1
Meningiom (mozek)	0/1
Ependymom (mozek)	0/1
Oligodendrogliom (mozek)	0/1
Serózní karcinom (vaječník)	0/1
Mucinózní karcinom (vaječník)	0/1
Neuroendokrinní novotvar (slinivka)	0/1
Adenokarcinom (slinivka)	0/1
Seminom (varle)	0/1
Embryonální karcinom (varle)	0/1
Medulární karcinom (štítná žláza)	0/1
Papilární karcinom (štítná žláza)	0/1
Duktální karcinom in situ (prs)	0/1
Invazivní duktální karcinom (prs)	0/1
Lobulární karcinom in situ (prs)	1/1
Karcinom ze skvamózních buněk (plíce)	0/1
Adenokarcinom (plíce)	0/1

Patologie	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Malobuněčný karcinom (plíce) ^a	1/1
Karcinom ze skvamózních buněk (jícen)	0/1
Adenokarcinom (jícen)	0/1
Adenokarcinom (tlusté střevo)	54/65
Mucinózní adenokarcinom (tlusté střevo)	13/13
Karcinom z prstenčitých buněk (tlusté střevo)	2/2
Adenom (tlusté střevo)	8/8
Karcinom ze skvamózních buněk (tlusté střevo)	1/5
Mucinózní adenokarcinom (žaludek)	0/1
Adenokarcinom (tenké střevo)	1/1
Gastrointestinální stromální tumor (GIST)	0/3
Adenokarcinom (konečník)	0/1
Hepatocelulární karcinom (játra)	0/1
Hepatoblastom (játra)	0/1
Karcinom z jasných buněk (ledvina)	0/1
Adenokarcinom (prostata)	0/1
Uroteliální karcinom (prostatická močová trubice)	1/1
Leiomyom (děloha)	0/1
Adenokarcinom (děloha)	0/1
Karcinom z jasných buněk (děloha)	0/1
Karcinom ze skvamózních buněk (čípek)	0/2
Embryonální rhabdomyosarkom (příčné pruhořvaný sval)	0/1
Melanom (řít)	0/1
Karcinom z bazálních buněk (kůže)	0/1
Karcinom ze skvamózních buněk (kůže)	0/1
Neurofibrom (mediastinum)	0/1
Neuroblastom (retroperitoneum)	0/1
Epitelioidní mezoteliom (peritoneum)	0/1
Lymfom, NOS	0/4
Uroteliální karcinom (močový měchýř)	1/1
Leiomyosarkom	0/2
Osteosarkom (kost)	0/1
Rabdomyosarkom z vřetenovitých buněk (retroperitoneum)	0/1
Adenokarcinom tlustého střeva (metastatický)	11/14
Mucinózní adenokarcinom tlustého střeva (metastatický)	9/13

Patologie	Počet pozitivních případů / celkový počet případů
Karcinomy buněk typu pečetního prstenu v tlustém střevu (metastatické)	2/2

^a Některé případy malobuněčného karcinomu jsou v literatuře uváděny jako imunoreaktivní s anti-cytokeratinem 20.¹¹

Preciznost

Studie preciznosti pro protilátku CONFIRM anti-Cytokeratin 20 (SP33) byly provedeny za účelem prokázání:

- preciznosti výsledků protilátky mezi šaržemi,
- preciznosti během jednoho cyklu a mezi dny na přístroji BenchMark XT,
- preciznost mezi přístroji na přístrojích BenchMark XT a BenchMark ULTRA,
- preciznosti mezi platformami mezi přístroji BenchMark XT a BenchMark ULTRA.

Všechny studie splnily kritéria přijatelnosti.

KLINICKÁ VÝKONNOST

Údaje o klinické výkonnosti relevantní pro zamýšlený účel protilátky CONFIRM anti-Cytokeratin 20 (SP33) byly hodnoceny systematickou literární rešerší. Shromážděné údaje podporují použití prostředku v souladu s jeho zamýšleným účelem.

LITERATURA

1. Dabbs DJ. Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Applications, 5th Edition. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2018.
2. Chu PG, Weiss LM. Keratin Expression in Human Tissues and Neoplasms. *Histopathology*. 2002;40(5):403-439.
3. Moll R, Divo M, Langbein L. The Human Keratins: Biology and Pathology. *Histochem Cell Biol*. 2008;129(6):705-733.
4. Karantza V. Keratins in Health and Cancer: More Than Mere Epithelial Cell Markers. *Oncogene*. 2011;30(2):127-138.
5. Kumar A, Jagannathan N. Cytokeratin: A Review on Current Concepts. *International Journal of Orofacial Biology*. 2018;2(1).
6. Bahrami A, Truong LD, Ro JY. Undifferentiated Tumor: True Identity by Immunohistochemistry. *Arch Pathol Lab Med*. 2008;132(3):326-348.
7. Carson F, Hladik C. *Histotechnology: A Self Instructional Text*, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
8. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
9. 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.
10. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
11. Chan J, Suster S, et al. Cytokeratin 20 Immunoreactivity Distinguishes Merkel Cell (Primary Cutaneous Neuroendocrine) Carcinomas and Salivary Gland Small Cell Carcinomas from Small Cell Carcinomas of Various Sites. *American Journal of Surgical Pathology*. Feb 1997;21(2): pp226-234.

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

Souhrn bezpečnosti a funkčnosti naleznete zde:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Symboly

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



Číslo položky Global Trade

DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

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

Přidání, odstranění nebo změny jsou označeny pruhem změn na okraji.

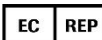
© 2021 Ventana Medical Systems, Inc.

KONTAKTNÍ INFORMACE



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

www.roche.com



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

