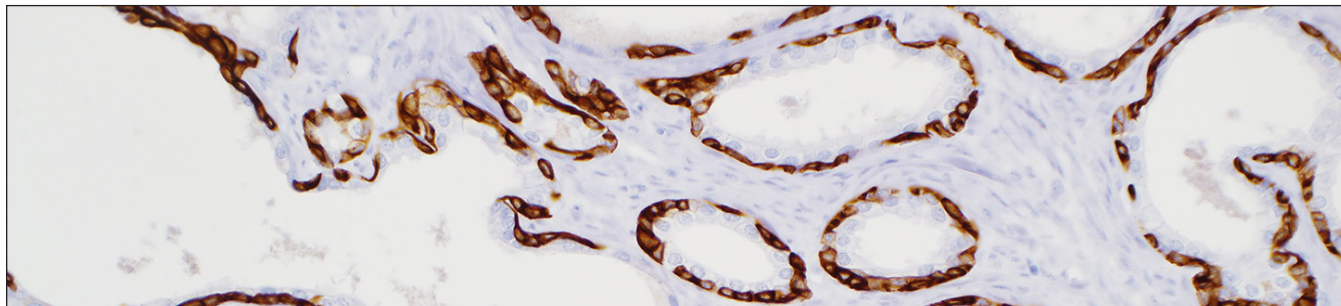


Cytokeratin (34betaE12)

Mouse Monoclonal Antibody



DOSTUPNOST PŘÍPRAVKU

Katalogové č.	Popis
334M-84	0,1 ml, koncentrát
334M-85	0,5ml, koncentrát
334M-86	1,0 ml, koncentrát
334M-87	1,0 ml, předředěný, připravený k použití
334M-88	7,0 ml, předředěný, připravený k použití
334M-80	25,0 ml, předředěný, připravený k použití
334S	Pozitivní kontrolní skříčka, 5 ks/balení

DEFINICE SYMBOLŮ

P	předředěný přípravek	E	sérum
C	koncentrát	DIL	rozsah ředění koncentráту
A	ascites	KEY-CODE	kód
S	supernatant		

URČENÉ POUŽITÍ

Tato protilátka je určena pro diagnostiku *in vitro* (IVD).

Protilátka Cell Marque Cytokeratin (34betaE12) je určena pro kvalifikované laboratoře ke kvalitativní identifikaci přítomnosti souvisejících antigenů pomocí světelného mikroskopu v tkáňových řezech fixovaných formalínem a zalitých v parafínu zkušebními metodami IHC (imunohistochemie). Použití této protilátky je indikováno, následně po klinické diferenciální diagnostice nemoci, jako pomůcka při identifikaci karcinomů v rámci panelů protilátek, klinické anamnézy pacienta a dalších diagnostických testů vyhodnocených kvalifikovaným patologem.

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Anti-Cytokeratin, 34betaE12 je protilátka proti vysokomolekulárnímu cytokeratinu reagující s veškerým dlaždicovým a duktálním epitelem a zabarvující karcinomy. Tato protilátka rozpoznává cytokeratiny 1, 5, 10 a 14, vyskytující se v mnohovrstevných epitelích. Anti-Cytokeratin, 34betaE12 je negativně reaktivní s hepatocyty, ancinnárními buňkami pankreatu, proximálními tubuly ledvin a endometriálními žlázami; nebyla také prokázána reaktivita s buňkami pocházejícími z jednovrstevných epitelů. Tato protilátka je také nereaktivní s několika výjimkami s mezenchymálními nádory, lymfomy, melanomy a nádory nervových buněk. Anti-Cytokeratin, 34betaE12 označuje myoepitelové buňky a bylo prokázáno, že dokáže odlišit adenokarcinom prostaty od hyperplazie prostaty. Tato protilátka se také používá k rozlišení nezhoubné a zhoubné intraduktální proliferace prsu.¹⁻⁶

PRINCIPY A POSTUPY

Uvedená primární protilátka (řada 334M) se používá jako primární protilátka při imunohistochemickém barvení tkáňových řezů fixovaných formalínem a zalitých v parafínu. Obecně umožňuje imunohistochemické barvení ve spojení s detekčním systémem se streptavidinem a biotinem vizualizaci antigenů prostřednictvím sekvenční aplikace konkrétní protilátky (primární protilátka) proti antigenu, sekundární protilátky (spojovací protilátka) proti primární protilátce, komplexu enzymů a chromogenního substrátu, která je proložena promývacími kroky. Alternativně lze použít polymerní detekční systém bez biotinu. Enzymatická aktivace chromogenu vede k viditelnému reakčnímu produktu v místě antigenu. Vzorek pak může být doplňkově obarven a zakryt krycím sklíčkem. Výsledky se interpretují pomocí světelné mikroskopie a pomáhají v diferenciální diagnostice patofyziologických procesů, které mohou a nemusejí souviset s konkrétním antigenem.

Přípravky s předředěnou protilátkou jsou optimálně zředěné pro použití s detekčními soupravami Cell Marque, přesto jsou běžné a úspěšně používány s širokou řadou detekčních souprav nabízených jinými výrobci.

MATERIÁLY A METODY

Štítek výrobku obsahuje následující informace o šarži:

1. Koncentraci imunoglobulinu v protilátce
2. Podrobnosti o zdroji

Dodávaná činidla

Předředěný přípravek uvedený primární protilátky (334M-87, 334M-88, 334M-80) obsahuje činidlo připravené k použití.

Rozsah koncentrace imunoglobulinu v tomto přípravku je 1 - 10 µg/ml.

Přípravek s koncentrovanou uvedenou primární protilátkou (334M-84, 334M-85, 334M-86) obsahuje koncentrované činidlo.

Předředěné i koncentrované formy této protilátky jsou zředěny v tlumivém roztoku Tris, pH 7,3 - 7,7, s 1% BSA a < 0,1% azidem sodným.

Rozsah koncentrace imunoglobulinu v tomto přípravku je 100 - 1000 µg/ml.

Doporučený rozsah pracovního zředění pro koncentrovaný produkt je **1:100 - 1:500** a je uvedeno na štítku produktu.

Izotyp: IgG₁/κ

Rekonstituce, smísení, ředění nebo titrace

Předředěná protilátka je připravena k použití a optimalizována k barvení. Není vyžadována rekonstituce, smísení, ředění nebo titrace. Koncentrovaná protilátka je optimalizována pro ředění v rozsahu ředění.

Uživatel musí pracovní roztok koncentrovaného přípravku ověřit. Rozdíly ve zpracování tkáně a technických postupech v laboratoři mohou způsobit výraznou variabilitu výsledků, a následně mohou vyžadovat pravidelné používání kontrolních vzorků. (Viz část Postupy kontroly kvality).

Potřebné nedodávané materiály a činidla

Následující činidla a materiály mohou být potřebné pro barvení, ale nejsou dodány současně s primární protilátkou:

- | | |
|---|---|
| 1. Pozitivní a negativní kontrolní vzorek tkáně | a chromogenen (například kat. číslo 957D-20) |
| 2. Mikroskopická sklíčka, s pozitivním nábojem | 11. Promývací roztoky (kat. číslo 935B-09) |
| 3. Sušicí pec schopná udržovat teplotu 58 - 60 °C ± 5°C | 12. Hematoxylin (kat. číslo 930B-05) nebo jiné doplňkové barvivo |
| 4. Barvicí misky nebo lázně | 13. Ředící roztoky na protilátky (například kat. číslo 938B-05) |
| 5. Stopky | 14. Peroxidový blok (kat. číslo 925B-05) pro použití s HRP |
| 6. Xylen nebo substituty xylenu | 15. Blok Avidin-Biotin (kat. číslo 928B-02 pro použití s detekcí streptavidin-biotin) |
| 7. Etanol nebo jiný alkohol
Poznámka: <i>Jednostupňové přípravné činidlo Cell Marque, Trilogy™ (kat. číslo 920P-06), může nahradit kroky 6 a 7 výše.</i> | 16. Negativní kontrolní činidlo (kat. číslo 932B-02 pro myši; kat. číslo 933B-02 pro králíci) |
| 8. Deionizovaná nebo destilovaná voda | 17. Nosné médium (katalogové č. číslo 931B-03) |
| 9. Elektrický tlakový hrnek (kat. číslo 976L) pro krok předúpravy tkáně | 18. Krycí sklíčko |
| 10. Detekční systém (například kat. číslo 954D-20) | 19. Světelný mikroskop (40-400x) |

Skladování a zacházení

Skladujte při 2 - 8 °C. Nezmrazujte.

Aby byl zajištěn správný výkon činidla a stabilita protilátky, musí se lahvička po každém použití uzavřít víčkem a okamžitě umístit ve vertikální poloze do chladničky.

Každé činidlo s protilátkou má stanovenou dobu expirace. Je-li řádně skladováno, je činidlo stabilní do data uvedeného na štítku. Nepoužívejte činidla po uplynutí expirační doby pro předepsanou metodu skladování.

Tento produkt nejeví žádné známky indikující nestabilitu, proto by se současně s testováním neznámých vzorků měly provádět testy s pozitivními i negativními kontrolními vzorky. V případě podezřelých známek nestability činidla se obraťte na zákaznický servis Cell Marque.

Sběr vzorků a příprava pro analýzu

Pro použití této primární protilátky s detekčními soupravami Cell Marque (viz Potřebné materiály a činidla, která se nedodávají) jsou vhodné tkáně zpracované běžným způsobem, fixované v neutrálním pufrovaném formalínu a zalité v parafínu. Poznámka: Společnost Cell Marque hodnotí výsledky pouze na lidských tkáních. Doporučené vhodné fixativum je 10% neutrální pufrovaný formalín. V důsledku delší fixace nebo speciálních procesů, jako např. dekalifikace preparátů kostní dřevě, mohou být získány variabilní výsledky.

Každý řez je třeba nařezat na správnou tloušťku (asi 3 µm) a umístit na pozitivně nabitě podložní sklíčko. Sklíčka obsahující řezy tkání je třeba sušit po dobu nejméně 2 hodin (avšak ne déle než 24 hodin) při teplotě 58 až 60 °C ± 5 °C.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ PŘEDPISY

1. Při zacházení s činidly buďte opatrní. Používejte jednorázové rukavice a laboratorní pláště při manipulaci s podezřelými karcinogenními nebo jedovatými materiály (například: xylen).
2. Vyvarujte se kontaktu činidel s očima nebo sliznicemi. Jestliže se činidla dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je vydatným množstvím vody.
3. Se vzorky pacientů a všemi materiály, které s nimi přišly do styku, je třeba zacházet jako s biologicky nebezpečnými materiály a zneškodňovat je podle správných opatření. Nikdy nepipetujte ústy.
4. Vyvarujte se mikrobiologické kontaminaci činidel, protože by to mohlo způsobit nesprávné výsledky.
5. Uživatel musí validovat inkubační doby a teploty.
6. Předředěná činidla připravená k použití jsou optimálně zředěna a další ředění může vést ke ztrátě barvení antigenu.
7. Koncentrovaná činidla mohou být optimálně zředěna po ověření uživatelem. Jakékoli použité ředící činidlo, které není výslovně doporučeno v tomto dokumentu, musí být uživatelem validováno, aby se ověřila jeho kompatibilita a vliv na stabilitu.

8. Při použití v souladu s pokyny není tento přípravek klasifikován jako nebezpečná látka. Konzervační látkou v činidle je azid sodný s koncentrací nižší než 0,1 %, který při uvedené koncentraci nenaplnuje kritéria OSHA (USA) pro nebezpečnou látku. Viz bezpečnostní list.
9. Uživatel musí ověřit jakékoli skladovací podmínky, které jsou jiné, než je uvedeno v příbalovém letáku.
10. Ředící roztok může obsahovat bovinní sérový albumin a supernatant může obsahovat bovinní sérum. Přípravky obsahující fetální bovinní sérum a přípravky obsahující bovinní sérový albumin jsou kupovány od komerčních dodavatelů. Certifikáty původu pro zvířecí zdroje použité v těchto přípravcích jsou uloženy ve společnosti Cell Marque. Tyto certifikáty dokládají, že zdroj bovinních přípravků je ze zemí se zanedbatelným rizikem BSE a uvádějí zdroje bovinních přípravků z USA a Kanady.
11. Stejně jako v případě jiných produktů odvozených z biologických zdrojů je třeba používat správné postupy zacházení.

NÁVOD K POUŽITÍ

Jednotlivé kroky postupu

Doporučené barvicí protokoly pro uvedenou primární protilátku (série 334M):

Sytém HiDef Detection™:

1. Odstraňte parafin, rehydratujte a získejte epitop; preferovanou metodou je tepelně indukované získání epitopu (HIER) při použití společně s Cell Marque's Trilogy™ ve spojení s tlakovým hrncem. Tato preferovaná metoda umožňuje současné odstranění parafinu, rehydratati a získání epitopu. Po dokončení opláchněte 5krát destilovanou nebo deionizovanou vodou.
2. Při použití detekčního systému HRP umístěte sklíčka do peroxidového bloku na 10 minut; opláchněte. Používáte-li detekční systém AP, tento krok vynechte.
3. Aplikujte protilátku a inkubujte 10-30 minut; opláchněte.
4. Naneste zesilovací činidlo králíčí/myší HiDef Detection™ na 10 minut, opláchněte.
5. Naneste polymerový detektor a inkubujte 10 minut; opláchněte.
6. Naneste velké množství chromogenu a inkubujte 1-10 minut; opláchněte.
7. Dehydratujte a zakryjte sklíčkem.

POSTUPY KONTROLY KVALITY

Pozitivní kontrolní vzorek tkáně

Při každém provedeném barvicím postupu je třeba použít i pozitivní kontrolní vzorek tkáně. Tkáň může obsahovat pozitivně i negativně zbarvené buňky nebo části tkáně a slouží jako pozitivní i negativní kontrolní vzorek tkáně. Kontrolní vzorky by měly být čerstvé vzorky z pitvy, biopsie nebo operace připravené nebo fixované co nejdříve a zalité stejným způsobem jako testované řezy. Použití tkáňového řezu fixovaného nebo zpracovaného jiným způsobem než testovaný

vzorek zajistí kontrolu pro všechna činidla a kroky metody kromě fixace a zpracování tkáně.

Tkáň se slabým pozitivním zbarvením je pro optimální kontrolu kvality a pro detekci i malé degradace činidla vhodnější. Pozitivní tkáňová kontrola pro uvedenou primární protilátku (série 334M) může zahrnovat následující:

Prostata	Cytoplasmatická
----------	-----------------

Známé pozitivní kontrolní vzorky tkání by měly být používány pouze ke sledování správné funkce zpracovaných tkání a testových činidel, nikoliv jako pomůcka k formulaci specifické diagnózy vzorků pacientů. Pokud se u pozitivních kontrolních vzorků tkání neprojeví odpovídající pozitivní zbarvení, je nutno považovat výsledky testovacích vzorků za neplatné.

Negativní kontrolní vzorek tkáně

Jako negativní kontrolní vzorek tkáně lze použít stejnou tkáň, která se používá jako pozitivní kontrolní vzorek. Rozmanitost různých typů buněk, které se nacházejí ve většině řezů tkání, nabízí oblasti pro negativní kontrolní vzorky, ale to by měl ověřit uživatel. Části, které se nebarví, by měly prokázat nepřítomnost specifického zbarvení a zajistit indikaci nespecifického zbarvení pozadí. Pokud se projeví specifické zbarvení v částech negativního kontrolního vzorku tkáně, je nutno považovat výsledky vzorků pacienta za neplatné.

Nevysvětlené rozdíly

Nevysvětlitelné rozpory u kontrolních vzorků by měly být ihned ohlášeny zákaznickému servisu společnosti Cell Marque. Pokud se výsledky kontrol neshodují se specifikacemi, výsledky pacienta jsou neplatné. Viz část Řešení problémů v tomto letáku. Zjistěte a napravte problém, a pak zopakujte celý postup se vzorky pacienta.

Negativní kontrolní činidlo

K usnadnění interpretace výsledků je třeba provést pro každý vzorek cyklus s negativní kontrolním činidlem. Negativní kontrolní činidlo se používá místo primární protilátky, aby se dalo vyhodnotit nespecifické zbarvení. Krycí sklíčko by mělo být ošetřeno negativním kontrolním činidlem, které odpovídá druhu hostitele primární protilátky a ideálně má stejnou IgG koncentraci. Inkubační doba negativního kontrolního činidla by měla odpovídat inkubační době primární protilátky.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Proces imunobarvení způsobuje zbarvený reakční produkt, který se vysráží v oblastech antigenu lokalizovaných primární protilátkou. V příbalovém letáku k příslušnému detekčnímu systému naleznete očekávané reakční barvy. Před interpretací výsledků musí pozitivní a negativní kontrolní vzorky vyhodnotit kvalifikovaný patolog se zkušeností s imunohistochemií.

Pozitivní kontrolní vzorek tkáně

Nejprve je nutné provést test zbarveného pozitivního kontrolního vzorku tkáně, a ověřit tak správnost funkce všech reagensů. Přítomnost správně zbarveného reakčního produktu uvnitř cílových buněk indikuje pozitivní reaktivitu. V příbalovém letáku k detekčnímu systému naleznete očekávané reakční barvy. V závislosti na délce inkubační

doby a potenci použitého hematoxylinu způsobí kontrastní barvení bleďedmodré až tmavomodré zbarvení buněčných jader. Přílišné nebo neúplné kontrastní zbarvení může ohrozit správnou interpretaci výsledků. Pokud se u pozitivních kontrolních tkání neprojeví příslušné pozitivní zbarvení, je nutno považovat výsledky testovaných vzorků za neplatné.

Negativní kontrolní vzorek tkáně

Negativní kontrolní vzorek tkáně je nutno testovat po pozitivním kontrolním vzorku, abychom ověřili specifickost značení cílového antigenu primární protilátkou. Nepřítomnost specifického zbarvení v negativním kontrolním vzorku potvrzuje nepřítomnost zkřížené reaktivity s buňkami nebo částmi buněk. Pokud se projeví specifické zbarvení v negativním kontrolním vzorku tkáně, je nutno považovat výsledky vzorků pacienta za neplatné. Pokud se vyskytuje nespecifické zbarvení, je většinou difúzní. Sporadické slabé zbarvení pojivové tkáně lze také pozorovat v řezech z tkání, které nejsou optimálně fixované. K interpretaci výsledků barvení používejte pouze intaktní buňky. Nekrotické nebo degenerované buňky vykazují nespecifické zbarvení.

Tkáň pacienta

Vzorky pacienta se vyšetřují jako poslední. Intenzitu pozitivního zbarvení je nutno posuzovat v kontextu jakéhokoli zbarvení pozadí negativního kontrolního činidla. Jako u každého imunohistochemického testu, negativní výsledek znamená, že antigen nebyl detekován, nikoli že antigen není v testovaných buňkách nebo tkáni přítomen. Při identifikaci falešných negativních reakcí může pomoci panel protilátek (viz část Souhrn očekávaných výsledků). Ke správné interpretaci každého imunohistochemického výsledku by měla být testována rovněž morfolgie každého vzorku tkáně s využitím řezů barvených hematoxylinem a ezinem. Morfologické nálezy pacientů a klinické údaje týkající se pacientů musí interpretovat kvalifikovaný patolog.

OMEZENÍ

1. Toto činidlo je určeno pouze pro „odborné použití“, protože imunohistochemie je několikakrokový proces, který vyžaduje speciální školení při výběru vhodných činidel, tkání, fixace a zpracování, přípravě imunohistochemického sklíčka a interpretaci výsledků barvení.
2. Pouze pro laboratorní užití.
3. Pro diagnostiku *in vitro*.
4. Barvení tkáně závisí na zacházení a zpracování tkáně před barvením. Nesprávná fixace, zmrazení, rozmrazení, umývání, sušení, zahřívání, řezání nebo kontaminace jinými tkáněmi nebo tekutinami může vést ke vzniku artefaktů, zachycení protilátek nebo falešně negativním výsledkům. Následkem odchylek při fixaci a metodách zalévání, ale i následkem stávajících nerovnoměrností ve tkáni může docházet k inkonzistentním výsledkům.
5. Přílišné nebo neúplné kontrastní zbarvení může ohrozit správnou interpretaci výsledků.
6. Klinická interpretace jakéhokoli pozitivního zbarvení nebo jeho nepřítomnosti musí být posouzena v kontextu klinické anamnézy, morfolgie, dalších histopatologických kritérií a rovněž dalších diagnostických testů. Tato protilátka je určena k použití v panelu

protilátek. Je odpovědností kvalifikovaného patologa, aby se seznámil s protilátkami, činidly a metodami používanými k barvení preparátů. Barvení se musí provádět v certifikované laboratoři s příslušným oprávněním a pod dohledem patologa zodpovědného za hodnocení barvených podložních skel a zaručení adekvátnosti pozitivních a negativních kontrolních vzorků.

7. Společnost Cell Marque poskytuje protilátky a činidla v optimálním ředění pro použití podle pokynů. Jakákoli odchylka od doporučených testovacích postupů může způsobit neočekávané výsledky. Je nutno používat a zdokumentovat příslušné kontrolní vzorky. Uživatelé musejí za všech okolností přijmout zodpovědnost za interpretaci výsledků pacienta.
8. Společnost Cell Marque poskytuje primární protilátky v koncentrované formě, takže je může uživatel následně optimálně zředit pro použití podle určení uživatele a při dodržení vhodných technik validace. Uživatelé musí provést validaci při použití jakýchkoli ředících roztoků jiných, než zde uvedených. Když je primární činidlo validováno jako vhodné, může jakákoli odchylka od doporučených testovacích postupů způsobit neočekávané výsledky. Je nutno používat a zdokumentovat příslušné kontrolní vzorky. Uživatelé musejí za všech okolností přijmout zodpovědnost za interpretaci výsledků pacienta.
9. Tento přípravek není určen pro průtokovou cytometrii.
10. Činidla mohou prokázat neočekávané reakce na dříve netestovaných tkání. V důsledku biologické variability exprese antigenu v novotvarech nebo jiných patologických tkáních nelze zcela vyloučit možnost neočekávaných reakcí i v testovaných skupinách tkání. S podezřelými zdokumentovanými neočekávanými reakcemi se obraťte na zákaznický servis společnosti Cell Marque.
11. Tkáně od osob infikovaných virem hepatitidy B a obsahující povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg) mohou vykazovat nespecifické barvení křenuvé peroxidázy.
12. Při použití v krocích blokování mohou normální séra ze stejného zvířecího zdroje jako sekundární protilátky způsobit falešně negativní nebo falešně pozitivní výsledky vzhledem k účinku autoimunitních protilátek nebo přirozených protilátek.
13. Je možné pozorovat falešně pozitivní výsledky v důsledku neimunologické vazby bílkovin nebo reakčních produktů substrátu. Mohou být také způsobeny aktivitou pseudoperoxidázy (erytrocyty) a endogenní peroxidázy (cytochrome C) nebo endogenním biotinem (příklad: játra, mozek, prs, ledvina), v závislosti na použitém typu imunobarvení.
14. Stejně jako u každého imunohistochemického testu, znamená negativní výsledek, že antigen nebyl zjištěn, nikoli, že antigen není přítomný ve vyšetřovaných buňkách nebo tkáni.

Specifická omezení

1. Předředěné přípravky s protilátkami jsou optimalizované jako připravené k použití. Vzhledem k možnosti různých způsobů fixace a zpracování tkání může být potřeba pro jednotlivé vzorky prodloužit nebo zkrátit inkubační dobu primární protilátky.
2. Protilátky, v kombinaci s detekčními systémy a příslušenstvím, detekují antigeny, které přecházejí běžnou fixací formalínem, zpracování a rozřezání tkáně. Uživatelé, kteří nedodrží doporučené postupy, musejí za těchto okolností přijmout zodpovědnost za interpretaci výsledků pacienta.

Souhrn očekávaných výsledků

Viz následující tabulky reaktivity:

Běžná studie			
Tkáň	Počet barvených	Celkem	Poznámky
Mozek	0	1	
Kůra nadledvin	0	1	
Vaječník	0	1	
Slinivka	1	1	
Příštítná tělíska	1	1	
Hypofýza	0	1	
Varle	0	1	
Štítná žláza	1	1	
Prso	1	1	
Slezina	0	1	
Mandle	0	1	Skvamózních +
Brzlík	1	1	Epitel +
Kostní dřev	0	1	
Plíce	1	1	
Srdce	0	1	
Jícen	1	1	
Břicho	1	1	
Tenké střevo	1	1	
Tlusté střevo	1	1	
Játra	1	1	
Slinná žláza	1	1	
Žlučník	1	1	
Ledviny	1	1	Kanáčky +
Močový měchýř	1	1	
Prostata	1	1	
Děloha	1	1	
Vejcovod	1	1	
Močovod	1	1	
Čípek	1	1	
Kosterní sval	0	1	
Hladký sval	0	1	
Kůže	1	1	
Periferní nerv	0	1	
Mesothelium	1	1	
Tuk	0	1	
Placenta	1	1	

Tato protilátka zabarvuje epitelální buňky v různých orgánech.

Studie postižené tkáně

Tkáň	Počet barvených	Celkem	Poznámky
Karcinom prostaty	7	7	
Adenokarcinom plic	2	2	
Karcinom plic ze skvamózních buněk	2	2	
Mezoteliom	2	2	
Kolorektální karcinom	1	1	
Renální karcinom	1	2	

Tato protilátka je pozitivně reaktivní s papilárním karcinomem štítné žlázy.

ŘEŠENÍ PROBLÉMŮ

- Pokud pozitivní kontrola ukáže slabší zbarvení, než očekávané, je třeba během stejného cyklu barvení zkontrolovat další pozitivní kontrolní vzorky, aby se dalo stanovit, zda je to způsobeno primární protilátkou nebo některým z běžných sekundárních antigenů.
- Jestliže je pozitivní kontrola negativní, je třeba zkontrolovat další pozitivní kontrolní vzorky použité ve stejném cyklu, aby se dalo stanovit, zda základní příčina souvisí s primární protilátkou nebo některým z běžných sekundárních antigenů. Sběr, fixace nebo odstraňování parafínů z tkání mohlo být provedeno nesprávným způsobem. Sběr tkáně, její fixace a skladování musí probíhat ve správném postupu.
- Dojde-li k nadměrnému zbarvení pozadí, mohou být přítomné vysoké hladiny endogenního biotinu. Měl by být zahrnut i krok blokování biotinu, pokud není používán detekční systém bez biotinu; v takovém případě by přítomný biotin nepříspěval k zbarvení pozadí.
- Pokud není veškerý parafin odstraněn, je třeba proces odstranění parafinu opakovat.
- Pokud se tkáňový řez spláchne ze sklíčka, je třeba sklíčka zkontrolovat zda jsou kladně nabitá. Mezi další možnosti, které by mohly nepříznivě ovlivňovat adhezi tkáně, patří nedostatečné vysušení tkáňového řezu na krycím sklíčku před barvením nebo fixace ve formalínu, který nebyl vhodně neutrálně pufovaný. Tloušťka tkáně může být rovněž přispívající faktor.

Nápravná opatření naleznete v části Jednotlivé kroky postupu, nebo se obraťte na zákaznický servis společnosti Cell Marque.

LITERATURA

1. Gown, AM et al. Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. Am J Pathol 1984; 114:309.
2. O'Malley, FP et al. Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland. Virch Arch A 1990; 417:191.
3. Amin, MB. Analysis of cribriform morphology in prostatic neoplasia using antibody to high-molecular-weight cytokeratins. Arch Pathol Lab Med March 1994; 118:260-264.
4. Wojno, KJ et al. The utility of basal cell-specific anti-cytokeratin antibody (34betaE12) in the diagnosis of prostate cancer. A review of 228 cases. Am J Surg Pathol 1995; 19:251-60.
5. Moinfar, F et al. Use of keratin 35betaE12 as an adjunct in the diagnosis of mammary intraepithelial neoplasia-ductal type--benign and malignant intraductal proliferations. Am J Surg Pathol 1999; 23:1048-58.
6. Yang, XJ et al. Rare expression of high-molecular-weight cytokeratin in adenocarcinoma of the prostate gland: a study of 100 cases of metastatic and locally advanced prostate cancer. Am J Surg Pathol 1999; 23:147-52.

ODMÍTNUTÍ ODPOVĚDNOSTIwww.cellmarque.com

EMERGO EUROPE

Molenstraat 15, 2513 BH, The Hague, NL.



CM Template #1.3 v.1