

FITC Anti-IgG Primary Antibody

Katalogové číslo 760-2680

INDIKACE A POUŽITÍ

Účel použití

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

FITC anti-IgG (immunoglobulin G) Primary Antibody od Ventana® Medical Systems (Ventana) je polyklonální protilátka odvozená z koz, značovaná fluoresceinem a specificky směřovaná proti lidskému IgG. Tato reagensie by se měla používat společně s panelem protilátek jako pomůcka pro identifikaci imunoglobulinu G v cílové tkáni IgG (např. při diagnóze ledvinových nebo kožních patologií). Protilátka FITC anti-IgG je určena k laboratornímu použití pro kvalitativní úseky zmrazené tkáně na automatu pro barvení sklíček Ventana.

Klinickou interpretaci jakéhokoliv zbarvení nebo jeho nepřítomnosti musí doplňovat morfologické studie a hodnocení vhodných kontrol. Hodnocení musí provádět kvalifikovaný patolog v kontextu anamnézy pacienta a jiných diagnostických testů. Pouze na lékařský předpis.

Souhrn a vysvětlení

K detekci specifických antigenů v buňkách nebo tkáních se již více než 40 let používají fluorescenční protilátky.¹ Informativní přehled o použití FITC konjugovaných protilátek jakožto efektivních a specifických imunofluorescenčních markerech pro buněčné antigeny lze nalézt v publikaci Faulka a Hijmanse.² Použití imunofluorescenční techniky vedlo ke zvýšenému celkovému chápání renálních³ a dermálních⁴ patologií.

FITC anti-IgG obsahuje kozi polyklonální protilátku vypěstovanou proti čistěnému lidskému IgG. Protilátka se získává čištěním frakce koziho gamaglobulinu, po níž následuje reakce s fluorescein isothiokyanátem. Nadbytečný fluorochrom se poté odstraní dialýzou a konjugovaný globulin se dále frakcionuje na celulóze DEAE, aby byl odstraněn nad a pod značkováním proteinem.⁵ Byla popsána imunofluorescenční detekce IgG v lidské ledvině^{6,7,8} a dermální^{9,4} tkáni. Anti-IgG se specificky váže na těžké díly řetězce lidského imunoglobulinu G.

Zásady a postupy

FITC anti-IgG může být použit jako primární protilátka pro imunohistochemické barvení zmrazených tkáňových řezů. Obecně imunohistochemické barvení umožňuje vizualizaci antigenů následnou aplikací specifické protilátky (primární protilátka) na antigen, sekundární protilátky (spojená protilátka) na primární protilátku, enzymového komplexu a chromogenního substrátu s vloženými promývacími kroky. Enzymatická aktivace chromogenu má za následek viditelný reakční produkt v místě antigenu. Pro protilátky přímo značkové FITC je fluorochrom napojen na primární protilátku, a proto se nevyžaduje žádná sekundární protilátka nebo chromogenní detekční krok. Primární protilátka se specificky váže na cílový antigen a lze jej poté vizualizovat. Výsledky se interpretují fluorescenčním mikroskopem s příslušnou sadou filtrů a za pomoci diferenciální diagnostiky patofyziologických procesů, které mohou, ale nemusí být spojeny s konkrétním antigenem.

FITC anti-IgG se optimálně naředí pro použití s automaty na barvení sklíček. Každý krok v protokolu barvení zahrnuje inkubaci po přesně stanovenou dobu při specifické teplotě. Na konci každého inkubačního kroku se části opláchnou automatizovaným zařízením na barvení sklíček Ventana, aby se reakce zastavila a odstranil nevážaný materiál, který by narušoval v následných krocích požadovanou reakci. Aby se minimalizovalo odpařování vodných reagensů ze sklíčka obsahujícího vzorky, zařízení pro barvení sklíček na něj nanáší zalévací roztok. Podrobnější informace o provozu přístroje naleznete v návodu k obsluze příslušného automatického zařízení na barvení sklíček Ventana.

MATERIÁLY A METODY

Dodávané reagensie

FITC anti-IgG obsahuje dostatek reagensie na 50 testů.

1- 5mL dávkovač FITC anti-IgG; obsahuje přibližně 817 µg (163,4 µg/mL) kozi polyklonální protilátky směřované proti lidskému IgG. Protilátka se rozředí v pufru založeném na tris, který obsahuje protein nosiče a konzervační látku.

Celková proteinová koncentrace reagensie je přibližně 600 µg/mL.

Rekonstituce, míchání, ředění, titrace

Tato protilátka je optimalizována k použití na automatu pro barvení sklíček Ventana. Není nutná žádná rekonstituce, míchání, ředění ani titrace.

Další ředění může způsobit ztrátu antigenu při barvení. Uživatel musí jakékoliv takové změny validovat. Rozdíly ve zpracování tkání a technických postupech v laboratořích mohou vést k významné variabilitě výsledků a vyžadují pravidelné používání kontrol (viz část Postupy kontroly kvality).

Potřebné materiály a reagensie, které nejsou součástí dodávky

Následující reagensie a materiály mohou být vyžadovány pro barvení, nejsou součástí dodávky:

1. Sklíčka mikroskopu, pozitivně nabitá
2. Kontroly pozitivních a negativních tkáňových vzorků
3. Sušicí pírka schopná udržovat teplotu 70°C ± 5°C
4. Štítky s čárovým kódem (vhodné pro negativní kontrolu a testovanou primární protilátku)
5. Aceton
6. Barvicí skleničky nebo lázně
7. Časový spínač
8. Deionizovaná nebo destilovaná voda
9. Automaty na barvení sklíček ES®, NexES® IHC, BenchMark® a BenchMark XT
10. Software specifický pro detekci (pouze automat na barvení sklíček ES)
11. Koncentrát promývacího roztoku Ventana APK (10x) (automaty na barvení sklíček ES a NexES IHC)
12. Ventana Low Temperature Liquid Coverslip™ Solution Pre-dilute (automaty na barvení sklíček ES a NexES IHC)
13. Ventana Reaction Buffer Solution Concentrate (10X) (automaty na barvení sklíček BenchMark a BenchMark XT)
14. Ventana High Temperature Liquid Coverslip Solution Pre-dilute (automaty na barvení BenchMark a BenchMark XT)
15. Vodné montážní médium, vhodné pro fluorescenci
16. Krycí sklo
17. Epifluorescenční mikroskop (20-80 x) vybavený filtrem FITC

* Dle potřeby specifických aplikací.

Uchovávání a nakládání s výrobkem

Uchovávejte při 2-8°C. Chraňte před mrazem. Uživatel musí validovat jakékoliv jiné podmínky uchovávání, než jsou podmínky uvedené v příbalové informaci.

Pro zajištění vhodné dodávky a stability protilátky po každém provedení testu se uzávěr musí vrátit na své místo a dávkovač se musí neprodleně uložit do ledničky ve svislé poloze.

Každý dávkovač protilátky má uvedené datum použitelnosti. Při správném uchovávání je reagensie stabilní do dne vyznačeného na štítku. Reagensii nepoužívejte po uplynutí dne použitelnosti pro předepsanou metodu uchovávání.

Neexistují žádné definitivní příznaky naznačující nestabilitu tohoto přípravku, proto je souběžně s neznámými vzorky zapotřebí provádět pozitivní a negativní kontroly. Jestliže se objeví známka nestability reagensie, obraťte se neprodleně na svoji místní kancelář Ventana.

Odběr vzorků a příprava k analýze

Pro použití s touto primární protilátkou jsou vhodné rutinně zpracované, zmrazené tkáně, pokud se používají automaty na barvení sklíček Ventana (viz část Potřebné materiály a reagensie, které nejsou součástí dodávky). Doporučený tkáňovým fixačním činidlem je 10 minut ve studeném acetonu. Může dojít k proměnlivým výsledkům v důsledku dlouhodobé fixace nebo speciálních procesů, jako je dekalifikace preparátů kostní dřeviny.

Každá část by měla být nařezána na vhodnou tloušťku a umístěna na pozitivně nabitou skleněnou destičku Superfrost Plus.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Při nakládání s reagensii uplatněte přiměřená bezpečnostní opatření. Používejte jednorázové rukavice při manipulaci s materiály podezřelými z karcinogenních nebo toxických účinků (příklad: xylem nebo formaldehyd).
2. V oblasti, kde pracujete se vzorky nebo reagensii, nekuřte, nejezte a nepijte.
3. Chraňte oči a sliznice před kontaktem s reagensii. Jestliže reagensie přijde do styku s citlivými plochami, omyjte je velkým množstvím vody.
4. Se všemi vzorky pacienta a všemi materiály, které s nimi přijdou do styku, je zapotřebí nakládat jako s biologickými nebo bezpečnými materiály a likvidovat je za použití vhodných bezpečnostních opatření. Nikdy nepipetujte ústy.

- Reagencie chraňte před mikrobiální kontaminací, protože by to mohlo způsobovat nesprávné výsledky.
- Jiné doby a teploty inkubace než ty, které jsou specifikovány, mohou vést k chybným výsledkům. Uživatel musí jakoukoliv takovou změnu validovat.
- Reagencie byly optimálně nařaděny a další ředění může způsobit ztrátu zbarvení antigenu. Uživatel musí jakoukoliv takovou změnu validovat.
- Při použití podle pokynů nebude tento přípravek klasifikován jako nebezpečná látka. Konzervační látka v reagentii je ProClin 300. Příznaky nadměrné expozice působení ProClin 300 zahrnují podráždění kůže a očí, podráždění sliznic a horních cest dýchacích. Koncentrace ProClin 300 v tomto přípravku je 0,05% a nesplňuje kritéria OSHA pro nebezpečnou látku. Systémové alergické reakce jsou možné u citlivých jednotlivců.
- Ohledně doporučené metody likvidace konzultujte místní nebo státní orgány.

NÁVOD K POUŽITÍ

Postupný proces

Primární protilátky Ventana byly vyvinuty pro použití na automatu pro barvení sklíček Ventana v kombinaci s detekčními sadami Ventana a příslušenstvím. Doporučené protokoly o barvení pro automaty na barvení sklíček jsou uvedeny v následující tabulce 1. Parametry pro automatizované postupy lze zobrazit, vytisknout a editovat podle postupu uvedeného v návodu k obsluze. Ostatní provozní parametry pro automaty barvení sklíček byly předem nastaveny ve výrobním závodu.

Tabulka 1. Doporučené protokoly o barvení pro FITC Anti-IgG

Typ postupu	Platforma/metoda	
	ES nebo NexES IHC	BenchMark nebo BenchMark XT
Výběr protokolu	Zmrazeno	Zmrazeno
Deparafinizace	Neuvedeno	Neuvedeno
Úprava buněk (Odmaskování antigenu)	Nepožaduje se	Nepožaduje se
Enzym (proteáza)	Nepožaduje se	Nepožaduje se
Protilátka (primární)	Anti-IgG FITC 8 minut	Anti-IgG FITC 8 minut
Kontrastní barvení	Neuvedeno	Neuvedeno

Postupy pro barvení na automatech na barvení sklíček Ventana jsou následující. Podrobnější pokyny a dodatečné možnosti protokolu naleznete v návodu k obsluze.

Pro všechny přístroje

- Nalepte štítek s čárovým kódem sklíčka, který odpovídá protokolu protilátky, která se má použít.
- Vložte primární protilátku na přihrádku s reagentii a vložte do automatu na barvení sklíček. Zkontrolujte objemné tekutiny a odpad.
- Vložte sklíčka do automatu na barvení sklíček.
- Spustíte proces barvení.
- Po dokončení procesu sklíčka z automatu na barvení vyjměte.
- U FITC chromogenu nedehydratujte a nečistěte. Proveďte montáž sklíček obarvených FITC primární protilátkou vodným montážním médiem. Efektivní odstranění Liquid Coverslip Solution ze sklíček po vyjmutí z přístroje značně sníží autofluorescenci pozadí. Toho dosáhnete důkladným propláchnutím sklíček ve APK wash nebo reakčním pufru. Sklíčka lze poté opláchnout v destilované vodě a pokrýt roztokem pro krytí sklíčka. Obarvená sklíčka je nutné odečíst v tentýž den, kdy se obarví, a měla by se uložit v temnu v chladném prostředí (-20°C). Sklíčka obarvená FITC primárními protilátkami nejsou stabilní, ale barvení lze zachovat, pokud budou sklíčka uchovávána při -20°C nebo -80°C v temnu. Sklíčka obarvená FITC primárními protilátkami lze kalit během doby nebo při dlouhodobé expozici světlu. Chraňte před působením světla.

Postupy kontroly kvality

Positivní tkáňová kontrola

S každým provedeným procesem barvení se musí provést kontrola pozitivního tkáňového vzorku. Příkladem pozitivní kontroly s přípravkem FITC anti-IgG je zmrazená hlasivka nebo lymfatická uzlina. Pozitivní obarvené tkáňové komponenty (barvení lymfocytů

v germinálních centrech) se používají jako potvrzení, že byla nasazena protilátka a že přístroj správně fungoval. Tato tkáň může obsahovat jak pozitivní, tak negativní obarvené buňky nebo tkáňové komponenty a slouží jednak jako pozitivní, ale i negativní kontrolní tkáň. Kontrolní tkáň by měla být čerstvé vzorky z pitvy, biopsie nebo získané chirurgicky a připravené či fixované co nejdříve, a to způsobem shodným jako testované řezy. Takové tkáň by měla monitorovat všechny kroky výkonu, od přípravy vzorků až do konce barvení. Použití tkáňových řezů fixovaných či zpracovaných odlišně od testovacích vzorků zajistí kontrolu pro všechny reagentie a kroky metody s výjimkou fixace a zpracování tkání.

Tkáň se slabým pozitivním zbarvením je vhodnější pro optimální kontrolu kvality a pro detekci malých úrovní degradace reagentie.

Znamé pozitivní tkáňové kontroly by se měly používat pouze pro sledování správného schování zpracovaných tkání a testovacích reagentii, ne jako pomůcka pro stanovení specifické diagnózy vzorků pacienta. Jestliže pozitivní tkáňové kontroly neprokáží pozitivní zbarvení, výsledky se zkušebními vzorky je nutno považovat za neplatné.

Negativní tkáňová kontrola

Stejná tkáň použitá pro pozitivní tkáňovou kontrolu může být i použita jako negativní tkáňová kontrola. Různorodost typů buněk přítomných ve většině tkáňových sekcí nabízí místa vnitřní negativní kontroly, ale to by si měl uživatel ověřit. Komponenty, které nebarví, by měly prokázat absenci specifického barvení a poskytnout indikaci nespecifického zbarvení pozadí. Jestliže dojde ke specifickému zbarvení v místech negativní tkáňové kontroly, výsledky se vzorky pacienta je nutno považovat za neplatné.

Nevysvětlené nesrovnalosti

Nevysvětlené nesrovnalosti v kontrolách ihned oznámte svému místnímu zastoupení Ventana. Jestliže výsledky kontroly kvality nesplňují technické parametry, výsledky pacienta jsou neplatné. Viz bod Odstraňování závad v této příbalové informaci. Problém identifikujte a odstraňte, poté postup opakujte se vzorky pacienta.

Ověření kvantitativní analýzy

Před prvním použitím protilátky nebo systému barvení v diagnostickém postupu je zapotřebí ověřit specifitu protilátky tím, že ji otestujete na řadě vzorků tkání se známými charakteristikami imunohistochemického chování, které reprezentuje známé pozitivní a negativní tkáň (viz Postupy kontroly kvality uvedené shora v této části příbalové informace, Doporučení kontroly kvality College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist [Akreditační program laboratoře Koleje amerických patologů, Dotazník anatomické patologie]¹⁰ a Směrnice schválené NCCLS¹¹). Tyto postupy kontroly kvality je zapotřebí opakovat pro každou novou šarži protilátek nebo pokaždé, kdy dojde ke změně v parametrech kvantitativní analýzy. Tkáň uvedené na seznamu v části Shrnutí očekávaných výsledků jsou vhodné pro ověření kvantitativní analýzy.

Interpretace výsledků

Automatizovaný postup imunobarvení Ventana způsobuje, že bude vizualizován cílový antigen s označenou primární protilátkou a spojeným fluorochromem. FITC značkováná protilátka dávají reakční produkt v barvě zeleného jablka. Pozitivní a negativní kontroly musí před interpretací výsledků vyhodnotit kvalifikovaný patolog, který má zkušenosti s imunohistochemickými postupy.

Positivní tkáňová kontrola

Obarvená pozitivní tkáňová kontrola by měla být prozkoumána jako první, aby se ověřilo, zda-li všechny reagentie řádně fungují. Přítomnost vhodného produktu barevné reakce v cílových buňkách je indikátorem pozitivní reaktivity. Jestliže pozitivní tkáňové kontroly neprokáží pozitivní zbarvení, všechny výsledky se zkušebními vzorky je nutno považovat za neplatné.

Negativní tkáňová kontrola

Negativní tkáňová kontrola by se měla prověřit po pozitivní tkáňové kontrole, aby se ověřilo specifické označení cílového antigenu primární protilátkou. Nepřítomnost specifického zbarvení u negativní tkáňové kontroly potvrzuje nedostatek zkřížené reaktivity protilátky s buňkami nebo buněčnými komponentami. Jestliže dojde ke specifickému zbarvení u negativní tkáňové kontrole, výsledky se vzorky pacienta je nutno považovat za neplatné.

Bude-li přítomno nespecifické zbarvení, bude mít světle žlutou až nazelenalou barvu. Může se pozorovat v řezech i sporadické lehké zbarvení pojivové tkáně od tkání nadměrně fixovaných. Ve vzorcích obarvené tkáň může být přítomna autofluorescence. K interpretaci výsledků barvení je zapotřebí používat nedotčené buňky. Nekrotické či degenerované buňky se často barví nespecificky.

Tkáň pacienta

Vzorky pacienta by se měly vyšetřovat poslední. Intenzita pozitivní zbarvení by se měla vyhodnocovat v kontextu jakéhokoliv zbarvení pozadí negativní kontroly reagentie. Negativní test, stejně jako jakýkoliv imunohistochemický test, znamená, že dotčený antigen nebyl detekován, a nikoliv že antigen v hodnocených buňkách či tkáních není přítomen. Bude-li to nezbytné, použijte panel protilátek jako pomůcku pro identifikaci falešně negativních reakcí (viz část Souhrn očekávaných výsledků). Při interpretaci jakéhokoliv imunohistochemického výsledku by se také měla prověřit morfolgie každého tkáňového vzorku pomocí hematoxylinu a řezu obarveného eozinem. Morfologické nálezy pacienta a příslušné klinické údaje musí interpretovat kvalifikovaný patolog.

OMEZENÍ

Všeobecná omezení

- Imunohistochemie je diagnostický proces o více krocích, který vyžaduje specializované školení ve výběru vhodných reagentií, přípravě vzorků, volbě tkání, fixaci, zpracování, přípravě sklíčka na imunohistochemii a interpretaci výsledků barvení.
- Barvení tkáně závisí na manipulaci s tkání a jejím zpracování před barvením. Nesprávná fixace, zmrazení, roztátí, omývání, sušení, ohřívání, dělení na části nebo kontaminace s ostatními tkáněmi nebo tekutinami může vytvářet artefakty, zachycení protilátek nebo falešně negativní výsledky. Nekonzistentní výsledky mohou být výsledkem odchylek v metodách fixace a zabudování nebo inherentních nepravidelností v rámci tkáně.
- Klinická interpretace jakéhokoliv pozitivního zbarvení nebo jeho nepřítomnosti se musí vyhodnotit v kontextu klinické historie, morfolgie a dalších histopatologických kritérií. Klinickou interpretaci jakéhokoliv zbarvení nebo jeho nepřítomnosti musí doplňovat morfolgické studie a hodnocení vhodných kontrol společně dalšími diagnostickými testy. Tato protilátka je určena k použití v panelu protilátek. Kvalifikovaný patolog odpovídá za to, že se seznámí s protilátkami a metodami použitými k vytvoření obarveného přípravku. Barvení musí provádět certifikovaná laboratoř s licencí pod dohledem patologa, který odpovídá za kontrolu obarvených sklíček a zajištění adekvátnosti pozitivních a negativních kontrol.
- Ventana dodává protilátky a reagentie pro optimální ředění pro použití za předpokladu, že jsou dodrženy příložené pokyny. Jakákoliv odchylka od doporučených zkušebních postupů může zneplatnit očekávané výsledky. Musí se používat a dokumentovat vhodné kontroly. Uživatelé, kteří se odchýlí od doporučených zkušebních postupů, musí přijmout odpovědnost za interpretaci výsledků pacientů.
- Tento přípravek není určen k použití v průtokové cytometrii, jeho charakteristiky chování nebyly stanoveny.
- Reagentie mohou vykázat neočekávané reakce v dřívě nezkoušených tkáních. Možnost neočekávaných reakcí i v testovaných tkáňových skupinách nelze zcela vyloučit kvůli biologické proměnlivosti exprese antigenu v neoplazmatech nebo jiných patologických tkáních.¹² S dokumentovanými neočekávanými reakcemi se obračejte na své místní zastoupení Ventana.
- Falešně pozitivní výsledky lze pozorovat kvůli neimunologické vazbě proteinů.
- Negativní test, stejně jako jakýkoliv imunohistochemický test, znamená, že antigen nebyl detekován, a nikoliv že antigen v hodnocených buňkách či tkáních nebyl přítomen.

Specifická omezení

- Protilátka byla optimalizována pro 8minutovou inkubační dobu v kombinaci s automaty na barvení sklíček Ventana. Kvůli odchylce v tkáňové fixaci může být nezbytné zvýšit nebo snížit primární inkubační dobu protilátky u individuálních vzorků. Další informace o proměnných parametrech fixace viz „Zásady a výhody imunohistochemie“.¹³
- Protilátka detekuje antigen, který přežije běžně prováděnou fixaci a dělení na řezy. Uživatelé, kteří se odchýlí od doporučených zkušebních postupů, musí přijmout odpovědnost za interpretaci a validaci výsledků pacientů.

SOUHRN OČEKÁVANÝCH VÝSLEDKŮ

- Specifita FITC anti-IgG byla stanovena studií, která ukázala vhodné zbarvení normálních a nemocných tkání. Pomocí FITC Anti-IgG bylo zkoumáno šestnáct typů normální tkáně. Těchto 16 typů normální tkáně zahrnovalo: ledvinu, hlasivky, játra, slezinu, plíce, lymfatickou uzlinu, srdce, kůži, žaludek, mozek, dělohu, prostatu, tenké střevo, nerv, mezotel a štítnou žlázu. Negativní zbarvení bylo pozorováno na játrech, slezině, plicích, srdci, kůži, žaludku, mozku, děloze, prostatě, tenkém střevu, nervu, mezotelu a štítné žláze. Určitá nespecifická autofluorescence byla pozorována na ledvinách, játrech, plicích a žaludku. Určité slabé pozitivní zbarvení

- nezralých B buněk bylo pozorováno v hlasivkách a lymfatických uzlinách. Deset biopsií nemocné kůže a 3 biopsie nemocných ledvin bylo obarveno FITC Anti-IgG. 13 klinických vzorků poskytlo očekávané klinicky pozitivní výsledky.
- Citlivost je závislá na uchování antigenu. Jakákoliv nesprávná manipulace s tkání během fixace, přípravy řezu, zabudování nebo ukládání, které mění antigenicitu, oslabuje detekci IgG pomocí FITC anti-IgG a může vytvářet falešně negativní výsledky.
- Reprodukovatelnost barvení pomocí FITC anti-IgG v rámci běhu byla stanovena barvením 5 sklíček obsahujících tutéž tkáň na témže běhu přístroje. Pět z pěti sklíček bylo pozitivně zbarveno. Všechna sklíčka byla obarvena stejnou intenzitou barvení. Uživatelé by měli ověřit reprodukovatelnost výsledků v rámci běhu obarvením několika sad sériových řezů s nízkou, střední a vysokou hustotou antigenu v jediném běhu.
- Reprodukovatelnost barvení pomocí FITC anti-IgG mezi běhy byla stanovena barvením sklíček obsahujících tutéž tkáň na 5 různých běžích přístroje. Pět z pěti sklíček bylo pozitivně zbarveno. Všechna sklíčka byla obarvena podobnou intenzitou barvení. Uživatelé by měli ověřit reprodukovatelnost výsledků mezi běhy obarvením několika sad sériových řezů s nízkou, střední a vysokou hustotou antigenu v různých dnech.

ODSTRAŇOVÁNÍ ZÁVAD

- Jestliže pozitivní kontrola vykazuje slabší než očekávané zbarvení, je zapotřebí zkontrolovat další proběhlé pozitivní kontroly obarvené v témže běhu přístroje, aby se určilo, zdali je selhání způsobeno primární protilátkou nebo jednou ze společných sekundárních reagentií.
- Jestliže je pozitivní kontrola negativní, je jí nutno zkontrolovat a zajistit, aby sklíčko mělo štítek se správným čárovým kódem. Jestliže je sklíčko řádně označeno, je zapotřebí zkontrolovat další proběhlé pozitivní kontroly obarvené v témže běhu přístroje, aby se určilo, zdali je selhání způsobeno primární protilátkou nebo jednou ze společných sekundárních reagentií. Tkáně mohou být nesprávně odebrány, fixovány nebo deparafinizovány. Při odběru, uchování a fixaci je nutné dodržovat správný postup.
- Jestliže je obarvení specifickou protilátkou příliš intenzivní, běh by se měl zopakovat s inkubační dobou zkrácenou ve 4minutových intervalech, dokud není dosaženo požadované intenzity intenzity skvrn.
- Jestliže se řezy tkáně smyjí ze sklíčka, sklíčka by se měla zkontrolovat, aby se zajistilo, že mají pozitivní náboj.
- Při nápravných krocích postupujte podle bodu Postupný proces v návodu k obsluze automatu na barvení sklíček nebo se obraťte na svoji místní kancelář Ventana.

SEZNAM LITERATURY

- Coons AH, Leduc EH, Kaplan MH. Localization of antigen in tissue cells. VI. The fate of injected foreign proteins in the mouse. *J Exp Med.* Feb;93(2):173-88, 1951.
- Faulk WP, Hijmans W. Recent developments in immunofluorescence. *Prog Allergy.*;16:9-39, 1972.
- McCluskey RT, Collins AB. The value of immunofluorescence in the study of renal disease. *Ann N Y Acad Sci.*;420:302-8, 1983.
- Wick MR, Ritter JH, Humphrey PA, Swanson PE. Immunopathology of nonneoplastic skin disease: a brief review. *Am J Clin Pathol.* Apr;105(4):417-29, 1996.
- Wood BT, Thompson SH, Goldstein G. Fluorescent antibody staining. 3. Preparation of fluorescein-isothiocyanate-labeled antibodies. *J Immunol.* Aug;95(2):225-9, 1965.
- Tomino Y, Sakai H, Miura M, Endoh M, Nomoto Y. Detection of polymeric IgA in glomeruli from patients with IgA nephropathy. *Clin Exp Immunol.* Aug;49(2):419-25, 1982.
- Inoue W, Tomino Y, Miura M, Yagame M, Nomoto Y, Sakai H. Detection of immunoglobulins and other serum proteins in the dermal and glomerular capillary walls from patients with diabetes mellitus. *Acta Pathol Jpn.* Aug;36(8):1181-9, 1986.
- Tokuda M, Shimizu J, Sugiyama N, Kiryu T, Matsuoka K, Sakaki O, Fukuda K, Hatase O, Monden H. Direct evidence of the production of IgA by tonsillar lymphocytes and the binding of IgA to the glomerular mesangium of IgA nephropathy patients. *Acta Otolaryngol Suppl.*523:182-4, 1996.
- Chan LS, Traczyk T, Taylor TB, Eramo LR, Woodley DT, Zone JJ. Linear IgA bullous dermatosis. Characterization of a subset of patients with concurrent IgA and IgG anti-basement membrane autoantibodies. *Arch Dermatol.* 1995 Dec;131(12):1432-7.
- College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2001.

11. NCCLS. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. NCCLS document MM4-A- (ISBN 1-56238-396-5). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
12. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. *Biotech Histochem* 66(4): 194-199, 1991.
13. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

CONFIRM™, EZ Prep™, VIEWS™ a Liquid Coverslip™ jsou ochrannými známkami společnosti Ventana Medical Systems, Inc.; BenchMark®, ES®, Gen II®, NexES® a Ventana® jsou ochrannými známkami společnosti Ventana Medical Systems, Inc.

Pokryto následujícími patenty: Patenty USA č. 6045 759, 6192 945 B1, 6416 713 B1 a jejich zahraniční protějšky.

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.ventanamed.com



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany