

h-Caldesmon (hHCD) Mouse Monoclonal Antibody

Do Stosowania w Diagnostyce In Vitro (IVD)

Identyfikacja Produktu

REF	Opis
451M-14	0,1 ml koncentrat
451M-15	0,5 ml koncentrat
451M-16	1,0 ml koncentrat
451M-17	1,0 ml rozrzedzony gotowy do użycia
451M-18	7,0 ml rozrzedzony, gotowy do użycia

Definicje Symboli

KEY-CODE	kod klucza
P	rozrzedzony
C	koncentrat
A	wodobrzusze
E	surowica krwi
S	supernatant
DIL	zakres rozcieńczenia koncentratu

Przeznaczenie

To przeciwciało jest przeznaczone do stosowania w diagnostyce *in vitro* (IVD).

h-Caldesmon (hHCD) Mouse Monoclonal Antibody jest przeciwciałem przeznaczonym do stosowania laboratoryjnego w wykrywaniu białka h-kaldesmonu w utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie tkankach barwionych w immunohistochemicznych (IHC) badaniach jakościowych.

Wyniki użycia tego produktu powinny być interpretowane przez wykwalifikowanego patologa z uwzględnieniem historii klinicznej pacjenta, innych testów diagnostycznych i stosownych mechanizmów kontrolnych.

Podsumowanie i Objaśnienia

Kaldesmon jest białkiem, które ułatwia regulację skurczu komórkowego poprzez kompleksowanie z kalmoduliną, tropomiozyną i aktyną. Stwierdzono, że jego izoforma o dużej masie cząsteczkowej (h-kaldesmon) ulega ograniczonej ekspresji w komórkach mięśni gładkich trzewiowych i naczyniowych. W szczególności zaobserwowano silną ekspresję h-kaldesmonu w nienowotworowej mięśniówce macicy przy całkowitym braku

jego obecności w warstwie śluzówki macicy.¹ W patologii typu nowotwory komórek wrzecionowatych, nakładanie się immunohistochemicznych profili barwienia pomiędzy komórkami mięśni gładkich a komórkami miofibroblastów nie pozwoliło na wiarygodną identyfikację prawdziwych guzów mięśni gładkich. Wykazano, że immunohistochemiczne wykrywanie h-kaldesmonu pomaga w odróżnieniu guzów mięśni gładkich, takich jak mięśniaki gładkokomórkowe i mięśniakomięsaki gładkokomórkowe od zmian miofibroblastycznych, takich jak guzy zapalne miofibroblastyczne i rozrosty tkanki włóknistej.²

Zasady i Procedury

Podane przeciwciało pierwszorzędowe może być używane jako przeciwciało pierwszorzędowe do barwienia immunohistochemicznego wycinków tkanek utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie. Ogólnie, barwienie immunohistochemiczne, w połączeniu z systemem detekcji powiązany z HRP lub Alk Phos umożliwia wizualizację antygenów poprzez sekwencyjną aplikację specyficznego (pierwszorzędowego) przeciwciała na antygen, przeciwciała drugorzędowego (połączonego) na przeciwciało pierwszorzędowe, kompleks enzymów oraz substrat chromogeniczny z pośrednimi czynnościami płukania. Aktywacja chromogenu przez enzym wywołuje reakcję, której produkt jest widoczny w miejscu występowania antygeny. Następnie próbkę można poddać barwieniu kontrastowemu i nałożyć na szkiełko nakrywkowe. Wyniki interpretuje się za pomocą mikroskopu optycznego.

Materiały i Metody

Dostarczane Odczynniki

Skład Produktów	
Rozrzedzony: rozcieńczenie w	Buforze Tris, pH 7,3–7,7, z 1% BSA i <0,1% azydku sodowego.
Koncentrat: rozcieńczenie w	Buforze Tris, pH 7,3–7,7, z 1% BSA i <0,1% azydku sodowego.
Gospodarz	mysz
Izotyp	IgG1
Zalecany zakres roboczy rozcieńczenia	1:50–1:100
Źródło	wodobrzusze

Etykieta produktu zawiera następujące informacje dotyczące danej serii:

1. Stężenie immunoglobulin przeciwciała
2. Szczegółowe informacje dotyczące źródła

Odtwarzanie, Mieszanie, Rozcieńczanie, Miareczkowanie

Rozrzedzone przeciwciało jest gotowe do użycia i zoptymalizowane do barwienia. Nie jest wymagane odtwarzanie, mieszanie, rozcieńczanie ani miareczkowanie. Przeciwciało stężone jest zoptymalizowane do rozcieńczenia do zakresu rozcieńczenia przy pomocy Cell Marque Diamond: Antibody Diluent.

Materiały i Odczynniki Potrzebne, ale Niedostarczane

Następujące odczynniki i materiały mogą być wymagane do barwienia, lecz nie są dostarczane wraz z przeciwciałem pierwszorzędowym:

1. Dodatnia i ujemna tkanka kontrolna
2. Szkiełka mikroskopowe, dodatkowo naładowane
3. Suszarka umożliwiająca utrzymanie temperatury 53–65°C
4. Stoje lub łaźnie barwiące
5. Zegar
6. Ksylen lub jego substytut
7. Etanol lub alkohol odczynnikowy

Uwaga: Jednoetapowa obróbka wstępna firmy Cell Marque, Trilogy™ (nr kat. 920P-06) może zastąpić powyższe kroki 6 i 7.

8. Woda dejonizowana lub destylowana
9. Urządzenie ogrzewające, takie jak elektryczny szybkozwar ciśnieniowy do wstępnej obróbki tkanki
10. System detekcji, taki jak HiDef Detection™ HRP Polymer System (nr kat. 954D-20) lub HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (nr kat. 62D-20)
11. Chromogen, taki jak DAB Substrate Kit (nr kat. 957D-20) lub Permanent Red Chromogen Kit (nr kat. 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween®* 20 (nr kat. 935B-09)
13. Hematoxylin lub inne
14. Rozcieńczalniki do przeciwciał, takie jak Diamond: Antibody Diluent (nr kat. 938B-05) lub Emerald: Antibody Diluent (nr kat. 36B-08)
15. Peroxide Block (nr kat. 925B-05) do użycia z HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents do użycia z detekcją kompleksu streptawidyna-biotyna
17. Odczynnik Kontroli Negatywnej (nr kat. 939B-02 do zastosowań uniwersalnych)
18. Mounting Medium
19. Szkiełko nakrywkowe
20. Mikroskop optyczny (40–400x)

Przechowywanie i Sposób Postępowania

Przechowywać w temperaturze 2–8°C. Nie zamrażać.

W celu zapewnienia właściwego dostarczenia odczynnika i stabilności przeciwciała po każdym użyciu, należy założyć zatyczkę i niezwłocznie umieścić dozownik w lodówce w pozycji pionowej.

Na każdym dozowniku odczynnika przeciwciała podana jest data ważności. Prawidłowo przechowywany odczynnik pozostaje stabilny do daty określonej na etykiecie. Nie należy używać odczynnika po upływie terminu ważności dla danego sposobu przechowywania.

Nie istnieją wyraźne oznaki wskazujące na niestabilność produktu, dlatego jednocześnie z nieznanymi próbkami należy prowadzić oznaczenie kontroli pozytywnych i negatywnych. W przypadku wystąpienia podejrzenia stwierdzenia niestabilności odczynnika należy skontaktować się z działem pomocy technicznej Cell Marque.

Pobieranie Próbek i Przygotowanie ich do Analizy

Przetwarzane rutynowo tkanki, utrwalone w obojętnie zbuforowanej formalinie, zatopione w parafinie, są odpowiednie do stosowania z tym przeciwciałem pierwszorzędowym wraz z systemami detekcji Cell Marque (patrz rozdział Materiały i odczynniki potrzebne, ale niedostarczane). Uwaga: Cell Marque ocenia skuteczność tylko na tkankach ludzkich. Zalecany środkiem do utrwalania tkanek jest 10% obojętnie zbuforowana formalina. W przypadku zastosowania przedłużonego utrwalania lub specjalnych procesów, jak np. odwapniania preparatów szpiku kostnego, można uzyskać zmienne wyniki.

Tkanki należy pociąć na skrawki o odpowiedniej grubości (około 3 mikrometry) i umieścić na dodatkowo naładowanych szkiełkach. Preparaty zawierające skrawki tkankowe można suszyć/ogrzewać przez co najmniej 2 godziny (ale nie dłużej niż 24 godziny) w suszarce w temperaturze 53–65°C.

Ostrzeżenia i Środki Ostrożności

1. Podczas pracy z odczynnikiem należy zachować uzasadnione środki ostrożności. Podczas pracy z materiałami o domniemanym działaniu rakotwórczym lub toksycznym należy używać rękawiczek jednorazowych (przykład: ksylenu).
2. Unikać kontaktu odczynników z oczami i błonami śluzowymi. W przypadku kontaktu z wrażliwymi miejscami, spłukiwać obfitą ilością wody.
3. Próbkę pochodzącą od pacjentów i wszelkie substancje wchodzące w kontakt z nimi należy traktować jak materiały potencjalnie zakaźne i likwidować z zachowaniem należytych środków ostrożności. Nigdy nie pipetować ustami.
4. Unikać skażenia mikrobiologicznego odczynników, ponieważ mogłoby to doprowadzić do uzyskania błędnych wyników.
5. Użytkownik musi poddać walidacji czasy i temperatury.
6. Wstępnie rozrzedzone i gotowe do użycia odczynniki zostały optymalnie rozcieńczone, dalsze rozcieńczanie może powodować utratę wybarwienia antygeny.
7. Odczynniki stężone mogą być rozcieńczane optymalnie w oparciu o walidację użytkownika. Każdy odczynnik rozrzedzony, który nie jest tutaj wyraźnie zalecany, musi również być poddany walidacji przez użytkownika tak pod względem kompatybilności, jak i wpływu na stabilność.
8. Produkt ten, gdy używany jest zgodnie z instrukcją, nie jest sklasyfikowany jako substancja niebezpieczna. Konserwant w odczynniku wynosi poniżej 0,1% azydku sodowego i nie spełnia kryteriów OSHA (USA) dla substancji niebezpiecznej dla tak określonego stężenia. Patrz SDS.
9. Użytkownik musi poddać walidacji wszelkie warunki przechowywania, które są inne od określonych w niniejszej ulotce.
10. Rozcieńczalnik może zawierać albuminę surowicy bydlęcej, zaś supernatant może zawierać surowicę bydlęcą. Produkty zawierające bydlęcą surowicę płodową oraz te, które zawierają albuminę surowicy bydlęcej, są nabywane u dostawców komercyjnych. Świadczenia pochodzenia dla źródeł zwierzęcych stosowanych w tych produktach są przechowywane przez Cell Marque. Świadczenia dokumentują to, że źródła bydlęce są w krajach o znikomym ryzyku BSE oraz, że źródłami tymi są USA i Kanada.
11. Tak, jak w przypadku każdego produktu pochodzenia biologicznego, należy stosować właściwe procedury podczas manipulacji.

Instrukcje Stosowania

Protokoły wybarwienia zalecane dla podanego przeciwciała pierwszorzędowego:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (nr kat. 954D-20)

1. Technika odmaskowania epitopu: HIER, Odczynnik do odmaskowania epitopu: Trilogy
2. Czas inkubacji Przeciwciała (minuty): 10
3. Czas inkubacji HiDef Detection Amplifier (minuty): 10
4. Czas inkubacji HiDef Detection Polymer Detector (minuty): 10
5. Czas inkubacji DAB (minuty): 1-10
6. Odwodnić i nałożyć szkiełko nakrywkowe.

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (nr kat. 962D-20)

1. Technika odmaskowania epitopu: HIER, Odczynnik do odmaskowania epitopu: Trilogy
2. Czas inkubacji Przeciwciała (minuty): 10
3. Czas inkubacji HiDef Detection Amplifier (minuty): 10
4. Czas inkubacji HiDef Detection Polymer Detector (minuty): 10
5. Czas inkubacji Permanent Red (minuty): 15-30
6. Odwodnić i nałożyć szkiełko nakrywkowe.

Procedury Kontroli Jakości

Pozytywna Kontrola Tkankowa

Pozytywna kontrola tkankowa musi być wykonana dla każdej przeprowadzanej procedury barwienia. Tkanka taka może zawierać komórki lub fragmenty tkankowe barwiące się dodatnio i ujemnie; służy ona zarówno jako dodatnia, jak i ujemna kontrola tkankowa. Tkanki kontrolne powinny być świeżo pobrane z autopsji, biopsji lub chirurgicznie i utrwalone jak najszybciej w identyczny sposób, jak skrawki badane. Zastosowanie skrawków tkankowych utrwalonych lub obrabianych w inny sposób, niż preparaty badane, zapewnia kontrolę działania wszystkich odczynników i kroków procedury, z wyjątkiem utrwalania i obróbki tkanek.

Tkanka o słabym wybarwieniu dodatnim jest bardziej odpowiednia dla optymalnej kontroli jakości oraz wykrywania niskich poziomów degradacji odczynnika. Pozytywna kontrola tkankowa dla podanego przeciwciała pierwszorzędowego może obejmować następujące:

Pozytywna Kontrola Tkankowa	
Tkankowa	Wizualizacja
Żółądek	Cytoplazmatyczna
Mięsień gładki	Cytoplazmatyczna
Pęcherz	Cytoplazmatyczna
określony	Cytoplazmatyczna
Mięśniak gładki	Cytoplazmatyczna

Znane pozytywne kontrole tkankowe powinny być stosowane wyłącznie w celu monitorowania jakości badanych tkanek i odczynników testowych, a nie do diagnozowania próbek pochodzących od pacjentów. Jeżeli nie udaje się potwierdzić dodatniego wybarwienia w preparatach pozytywnych kontroli tkankowych, należy uznać, że wyniki preparatów testowych są nieważne.

Negatywna Kontrola Tkankowa

Ta sama tkanka stosowana jako pozytywna kontrola tkankowa może być również wykorzystywana jako kontrola negatywna. Wiele typów komórek obecnych w większości skrawków tkankowych posiada miejsca, mogące stanowić wewnętrzną kontrolę negatywną, lecz powinno to zostać potwierdzone przez użytkownika. Elementy niebarwiące się powinny wykazywać brak specyficznego barwienia i prezentować wskazanie niespecyficznego barwienia tła. Jeżeli w miejscach stanowiących negatywną kontrolę tkankową występuje specyficzne barwienie, należy uznać, że wyniki próbek od pacjenta są nieważne.

Niewyjaśnione Rozbieżności

Niewyjaśnione rozbieżności w kontroli należy niezwłocznie zgłosić do działu pomocy technicznej Cell Marque. Jeśli jakość wyników kontrolnych nie jest zgodna ze specyfikacją, wyniki uzyskane dla preparatów z próbek pochodzących od pacjentów są nieważne. Zob. sekcja Rozwiązywanie problemów w niniejszej ulotce. Należy zidentyfikować i wyeliminować problem, a następnie powtórzyć badanie próbek pochodzących od pacjenta.

Odczynnik do Kontroli Negatywnej

Odczynnik do kontroli negatywnej musi być oznaczony dla każdej próbki, będąc pomocą w interpretacji wyników. Odczynnik do kontroli negatywnej jest stosowany zamiast przeciwciała pierwszorzędowego, w celu oceny niespecyficznego barwienia. Preparat powinien być traktowany odczynnikiem kontroli negatywnej, odpowiedni do gatunków gospodarza przeciwciała pierwszorzędowego, a najlepiej mający to samo stężenie IgG. Czas inkubacji odczynnika do kontroli negatywnej powinien być równy czasowi inkubacji przeciwciała pierwszorzędowego.

Interpretacja Wyników

Zestaw detekcyjny powoduje zabarwienie na czarno produkt osadzania się w miejscach zlokalizowanych przez sondę i przeciwciała pierwszorzędowe. Patrz ulotka odpowiedniego systemu detekcji po oczekiwane reakcje barwne. Przed interpretacją wyników wykwalifikowany patolog z doświadczeniem z zakresu procedur IHC musi ocenić kontrole pozytywne i negatywne.

Pozytywna Kontrola Tkankowa

Barwione pozytywne kontrole tkankowe należy oceniać w pierwszej kolejności, w celu upewnienia się, że wszystkie odczynniki działają prawidłowo. Obecność odpowiednio zabarwionego produktu reakcji w obrębie docelowych komórek wskazuje na reaktywność dodatnią. Patrz ulotka odpowiedniego, użytego systemu detekcji po oczekiwane reakcje barwne. W zależności od czasu inkubacji i siły używanej hematoksyliny, barwienie kontrastowe spowoduje od błonniebieskiego po granatowe zabarwienie jąder komórkowych. Nadmierne lub niecałkowite barwienie kontrastowe może utrudniać prawidłową interpretację wyników. Jeżeli nie udaje się potwierdzić dodatniego wybarwienia w preparatach dodatnich kontroli tkankowych, należy uznać, że wszystkie wyniki badanych próbek są nieważne.

Negatywna Kontrola Tkankowa

Negatywna kontrola tkankowa powinna być badana po pozytywnej kontroli tkankowej, w celu weryfikacji swojego znakowania docelowego antygenu przez pierwszorzędowe

przeciwciała. Brak swoistego barwienia w negatywnej kontroli tkankowej potwierdza brak reaktywności krzyżowej przeciwciała z komórkami lub elementami komórkowymi. Jeżeli w obrębie negatywnej kontroli tkankowej występuje specyficzne barwienie, należy uznać że wyniki próbek od pacjenta są nieważne. Barwienie nieswoiste, jeżeli występuje, ma wygląd rozlany. Sporadyczne, jasne barwienie tkanki łącznej można również zaobserwować w skrawkach z tkanek zbyt silnie utrwalonych w formalinie. Do interpretacji wyników barwienia należy użyć nieuszkodzonych komórek. Komórki nekrotyczne lub zdegenerowane wykazują barwienie niespecyficzne.

Tkanka Pacjenta

Próbki od pacjenta należy zbadać w pierwszej kolejności. Nasilenie pozytywnego barwienia należy ocenić w kontekście wszelkiego, nieswoistego barwienia tła odczynnika kontroli ujemnej. Podobnie jak we wszystkich testach immunohistochemicznych, wynik negatywny oznacza, że badany antygen nie został wykryty, a nie że antygen ten nie występuje w badanych komórkach lub tkankach. Panel przeciwciał może pomóc w identyfikacji fałszywych reakcji ujemnych (patrz rozdział Podsumowanie oczekiwanych wyników). W czasie interpretacji dowolnego wyniku testu immunohistochemicznego należy także ocenić morfologię każdej próbki tkanki, stosując barwienie hematoksyliną i eozyną. Dane morfologiczne pacjenta i odpowiednie dane kliniczne powinien interpretować doświadczony patolog.

Ograniczenia

1. Kolor Antyciała nie oddziałuje na wykonanie.
2. Niniejszy odczynnik przeznaczony jest „wyłącznie do zastosowań profesjonalnych”, ponieważ wykonywanie barwień immunohistochemicznych jest wieloetapowym procesem diagnostycznym, wymagającym specjalistycznego przeszkolenia w doborze odpowiednich odczynników, wyborze tkanek, utrwalaniu i obróbce, przygotowaniu preparatu immunohistochemicznego i interpretacji wyników barwienia.
3. Tylko do użytku laboratoryjnego.
4. Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.
5. Wybarwienie tkanek jest uzależnione od obróbki i przetworzenia tkanki przed wykonaniem odczynu. Nieprawidłowe utrwalanie, zamrażanie, rozmrażanie, przemywanie, suszenie, ogrzewanie, wykonywanie skrawków lub ich zanieczyszczenie domieszką innych tkanek lub płynów, może powodować artefakty, pułapki barwienia przeciwciał lub wyniki fałszywie ujemne. Niespójne wyniki mogą być konsekwencją zmienności metod utrwalania i zatapiania albo wynikać z nieprawidłowości samej tkanki.
6. Nadmierne lub niecałkowite barwienie kontrastowe może utrudniać prawidłową interpretację wyników.
7. Interpretacja kliniczna dodatniego lub ujemnego wyniku musi być prowadzona w kontekście historii klinicznej, morfologii i innych kryteriów histopatologicznych. To przeciwciała jest przewidziane do użycia w panelu przeciwciał, o ile ma to zastosowanie. Odpowiedzialność związana ze stosowaniem przeciwciał, odczynników, paneli diagnostycznych i metod przygotowania barwionych preparatów spoczywa na wykwalifikowanym histopatologu. Barwienie należy wykonać w akredytowanej pracowni histopatologicznej, pod nadzorem histopatologa odpowiedzialnego za przeglądanie i ocenę wybarwionych preparatów i właściwe wykonanie dodatnich i negatywnych prób kontrolnych.
8. Cell Marque dostarcza przeciwciała i odczynniki w optymalnym rozcieńczeniu do użycia zgodnie z instrukcją. Wszelkie odstępstwa od zalecanych procedur wykonywania testów mogą spowodować, że deklaracje dotyczące oczekiwanych wyników staną się nieważne.

Należy oznaczyć odpowiednie kontrole i to udokumentować. W każdym przypadku użytkownicy muszą przyjąć odpowiedzialność za interpretację wyników u pacjenta.

9. Cell Marque dostarcza przeciwciała pierwszorzędowe w formacie sześcym tak, by użytkownik miał następnie możliwość optymalnego rozcieńczenia do użycia przy założeniu, że użytkownik opracuje i przestrzega odpowiednie techniki walidacji. Użytkownicy muszą poddawać walidacji wszelkie inne odczynniki rozrzedzone, inne niż tutaj zalecane. Gdy przeciwciała pierwszorzędowe zostało w wyniku walidacji uznane za odpowiednie do użycia, wszelkie odchylenia od zalecanych procedur testowych mogą uniemożliwiać oczekiwane wyniki. Należy oznaczyć odpowiednie kontrole i to udokumentować. W każdym przypadku użytkownicy muszą przyjąć odpowiedzialność za interpretację wyników u pacjenta.
10. Ten produkt nie jest przeznaczony do użycia w cytometrii przepływową.
11. W tkankach, które nie zostały uprzednio przetestowane, odczynniki mogą wykazywać nieoczekiwane reakcje. Nie można wykluczyć wystąpienia nieoczekiwanych reakcji w przetestowanych tkankach, z uwagi na zmienność biologiczną ekspresji antygenów w nowotworach lub innych tkankach patologicznych. Prosimy o kontakt z działem pomocy technicznej Cell Marque w razie jakichkolwiek udokumentowanych nieoczekiwanych reakcji.
12. Tkanki uzyskane od osób zakażonych wirusem zapalenia wątroby typu B i posiadające antygen powierzchniowy zapalenia wątroby typu B (HBsAg), mogą wykazywać nieswoiste barwienie z peroksydazą chrzastą.
13. W razie użycia na etapach blokowania, normalne surowice z tego samego źródła zwierzęcego, użyte jako drugorzędowe przeciwsurowice, mogą być powodem wyników fałszywie ujemnych lub fałszywie dodatnich, ze względu na występowanie autoprzeciwciał lub naturalnych przeciwciał.
14. Wyniki fałszywie dodatnie mogą pojawiać się z powodu nieimmunologicznego wiązania białek lub produktów reakcji substratu. Mogą one być również spowodowane aktywnością pseudoperoxydazy (erytrocyty), endogennej peroksydazy lub endogennej biotyny (na przykład: wątroba, mózg, sutek, nerka) zależnie od typu zastosowanej techniki barwienia immunologicznego.
15. Podobnie jak we wszystkich testach immunohistochemicznych, wynik negatywny oznacza, że antygen nie został wykryty, a nie że antygen ten nie występuje w badanych komórkach lub tkankach.
16. Wstępnie rozrzedzone produkty przeciwciała są zoptymalizowane jako produkt gotowy do użycia. Ze względu na zmienność utrwalania tkanek i przetwarzania może być konieczne wydłużenie lub skrócenie czasu inkubacji przeciwciała pierwszorzędowego w niektórych próbkach.
17. Przeciwciała użyte w połączeniu z systemami detekcji i akcesoriami, wykrywają antygen(y), które mogą przetrwać rutynowe utrwalanie w formalinie, przetwarzanie tkanki i sporządzanie wycinków. Użytkownicy stosujący procedury odbiegające od zalecanych procedur testowych, tak jak we wszystkich innych okolicznościach są odpowiedzialni za interpretację i weryfikację wyników pacjenta.

Zestawienie Oczekiwanych Wyników

Patrz kolejne tabele po reaktywność:

Badanie Normalne			
Tkanka	Liczba barwionych (+)	Razem	Uwagi
Mózg Mózg właściwy	0	3	
Mózg Móżdżek	0	3	
Nadnercze	1	3	
Jajnik	3	3	
Trzustka	0	3	
Przystalica	0	3	
Przysadka mózgowa	0	3	
Jądro	0	3	
Tarczycza	0	3	
Pierś	3	3	
Śledziona	0	3	
Migdałek	0	3	
Grasica	0	3	
Szypik kostny	0	3	
Płuco	0	3	
Serce	0	3	
Przełyk	0	3	
Żołądek	4	5	
Jelito cienkie	3	3	
okrężnicy	5	5	
Wątroba	0	3	
Gruczoł ślinowy	3	3	
Pęcherzyk żółciowy	0	3	
Nerka	0	3	
Pęcherz	10	10	
Prostata	3	3	
Macica	0	8	
Jajowód	3	3	
Szyjka macicy	3	3	
Mięsień szkieletowy	0	3	
Mięsień gładki	8	8	

Badanie Normalne			
Tkanka	Liczba barwionych (+)	Razem	Uwagi
Skóra	0	3	
Nerw obwodowy	0	3	
Wyściółka mezotelialna	0	3	
Łożysko	0	3	

Badanie Tkanki Chorobowej			
Tkanka	Liczba barwionych (+)	Razem	Uwagi
Mięśniak gładki	21	21	
Mięsak gładkokomórkowy	1	1	
Włóknakiomiesak guzowaty skóry	0	1	
Włóknakowatość	0	7	
Zapalny guz miofibroblastyczny	0	4	
Mięśniakiomiesak prążkowany	0	1	
Mięsak zrębowy macicy	0	1	

Rozwiązywanie Problemów

- Jeżeli kontrola pozytywna charakteryzuje się słabszym barwieniem niż oczekiwano, należy sprawdzić inne kontrole pozytywne barwione w trakcie tego samego barwienia, aby określić, czy błąd jest związany z pierwszorzędowym przeciwciałem, czy jednym z powszechnie stosowanych odczynników drugorzędowych.
- Jeżeli kontrola pozytywna jest negatywna, należy sprawdzić inne kontrole pozytywne użyte w tym samym cyklu w celu ustalenia, czy podstawowa przyczyna nie odnosi się do przeciwciała pierwszorzędowego lub jednego z powszechnie stosowanych odczynników drugorzędowych. Tkanki mogły być niewłaściwie pobrane, utrwalone lub odparafinowane. Należy postępować zgodnie z odpowiednimi procedurami pobierania, przechowywania i utrwalania.
- W razie wystąpienia nadmiernego barwienia tła, powodem może być wysoki poziom endogennej biotyny. Krok blokowania biotyny powinien być włączony, o ile nie jest używany system detekcji wolny od biotyny, w którym to przypadku jej obecność nie przyczynia się do barwienia tła.
- Jeżeli cała parafina nie zostanie usunięta, należy powtórzyć procedurę odparafinowania.
- Jeżeli skrawki tkanek zostały zmyte ze szkiełka, należy sprawdzić, czy szkiełka są dodatnio naładowane. Innymi możliwościami, które wpływają niekorzystnie na adhezję tkanki, jest niedostateczne suszenie wycinka na szkiełku poprzedzające barwienie lub utrwalenie w

parafinie, które nie było właściwie zbuforowane obojętnie. Czynnikiem znaczącym może być także grubość wycinka tkanki.

W celu przeprowadzenia działań naprawczych należy zapoznać się z sekcją dotyczącą wskazówek użytkowania lub skontaktować się z działem pomocy technicznej Cell Marque pod adresem techsupport@cellmarque.com.

Piśmiennictwo

1. Nucci, MR, et al. h-Caldesmon expression effectively distinguishes endometrial stromal tumors from uterine smooth muscle tumors. *Am J Surg Pathol.* 2001; 25(4):455-463.
2. Ceballos, KM, et al. Is anti-h-caldesmon useful for distinguishing smooth muscle and myofibroblastic tumors? An immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol.* 2000; 114(5):746-753.

Zastrzeżenia Prawne

*TWEEN jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Croda International PLC.

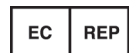
©2019 Sigma-Aldrich Co. LLC. Wszelkie prawa zastrzeżone. SIGMA-ALDRICH jest znakiem towarowym firmy Sigma-Aldrich Co. LLC, zastrzeżonym w USA i innych krajach. Cell Marque, Trilogy, Declere i HiDef Detection są znakami towarowymi firmy Sigma-Aldrich Co. LLC lub jej podmiotów stowarzyszonych.



www.cellmarque.com



6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900



EMERGO EUROPE
Prinsessegracht 20, 2514 AP The Hague, The Netherlands



CM Template #2.4

Implementation date 27 Sep 2019