

FLEX
Polyclonal Rabbit
Anti-Helicobacter Pylori
Ready-to-Use
(Dako Omnis)

Kód GA523

Použití

K diagnostice in vitro.

FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Helicobacter Pylori, Ready-to-Use (Dako Omnis) je určen pro použití v imunohistochemii společně s přístroji řady Dako Omnis. Tato protilátka je užitečná při identifikaci infekce *H. pylori* v gastritidě a gastrické rakovině (1-4). Klinickou interpretaci zbarvení nebo jeho nepřítomnosti je třeba doplnit morfoloickým vyšetřením s využitím patřičných kontrol a vyhodnotit s přihlédnutím k pacientově klinické anamnéze a k dalším diagnostickým testům provedeným kvalifikovaným patologem.

**Souhrn
a vysvětlení**

H. pylori (dříve známá jako *Campylobacter pylori*) je spirálovitá mikroerofilní, gramnegativní bakterie s unipolárně zapouzdřenými bičíky. Žije ve slizniční vrstvě gastrického epitelu. Většina kolonizujících bakterií žije ve sliznici žaludku, menší část (~1%) na připojena k epitelialním buňkám žaludku (5). Třebaže se všeobecně předpokládá, že *H. pylori* je výhradně extracelulární, některé studie ukazují, že velmi malá část bakterií může pronikat do epitelialních buněk (2, 5). *H. pylori* způsobuje jednu z nejběžnějších patogenních infekcí, objevující se odhadem u poloviny lidské populace, s větším výskytem v rozvojových než industriálních zemích. Kolonizace se obvykle objevuje v raném stádiu života a, pokud není léčena antibiotiky, přetrvává po celou délku života. U podskupiny jedinců vede infekce k vážným gastroduodenálním onemocněním, například peptické vředy nebo gastrické adenokarcinomy (5). Důkazy podporující souvislost mezi *H. pylori* a chronickou atrofickou gastritidou a rakovinou žaludku byly nalezeny ekologických, případových a prospektivních studiích a v 1994 klasifikovala mezinárodní organizace pro výzkum rakoviny (International Agency for Research on Cancer) *H. pylori* jako pro lidi karcinogenní (5, 6).

V příručce *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Obecné pokyny pro imunohistochemické barvení) společnosti Dako nebo v návodu k systému detekce pro IHC metody naleznete informace týkající se těchto témat.

Dodávané činidlo

Polyklonální králíčí protilátka připravená k použití se dodává v kapalně podobě v pufru s obsahem stabilizujícího proteinu, 0,1 mol/L NaCl a 0,015 mol/L azidu sodného.

Imunogen

Antigen pro imunizaci byl připraven z tepelně zpracovaného kmene *H. pylori* CH-20426 (1, 2).

Specifita

Protilátka označila tepelně stabilní, somatické antigeny celého organismu *H. pylori*. Stopy kontaminujících protilátek byly odstraněny absorpcí v pevné fázi s proteiny lidské plazmy.

Při testování v křížové imunoelktroforéze 12,5 µL koncentrované protilátky na cm² gelu proti 2 µL lidské plazmy nebyla zpozorována žádná precipitace. Barvení: Coomassie Brilliant Blue.

**Bezpečnostní
opatření**

1. Určeno pro profesionální uživatele.
2. Tento výrobek obsahuje azid sodný (NaN₃), který je v čisté formě vysoce toxický. Koncentrace azidu sodného v produktu není sice klasifikována jako nebezpečná, nicméně sloučenina může reagovat s olovem a mědí v odpadním potrubí a vytvářet vysoce explozivní azidy těchto kovů. Při likvidaci splachujte dostatečným množstvím vody, aby nedocházelo k usazování azidů kovů v potrubí.
3. Jako u každého výrobku biologického původu je nutno dodržovat řádná bezpečnostní opatření.
4. Používejte odpovídající osobní ochranné prostředky, aby nedošlo k zasažení očí nebo pokožky.
5. Nespotřebované roztoky je nutno likvidovat v souladu s místními a celostátními předpisy.

Uchovávání

Skladujte při 2-8 °C. Během skladování musí být víčko uzavřené. Nepoužívejte po datu expirace uvedeném na lahvičce. Aplikační stabilita je 80 hodin. Zbývající aplikační stabilitu sleduje software Dako Omnis. Pokud se činidla skladují za jakýchkoli jiných než uvedených podmínek, musí uživatel tyto podmínky ověřit. Případná nestabilita výrobku by se neprojevila žádnými známkami. Proto je nutno provádět současně s testováním vzorků pacienta pozitivní a negativní kontroly. Pokud zpozorujete neočekávané zbarvení, které nelze vysvětlit změnami laboratorních postupů a máte podezření, že se jedná o problém s protilátkou, obraťte se na technickou podporu společnosti Dako.

Stručný návod*

Krok		Komentáře
Fixace/zalítí	Fixováno ve formalínu, zalito v parafínu	Odstranění parafínu v přístroji
Předběžné zpracování	EnVision FLEX, High pH (kód GV804)	30 min HIER
Protilátka	Ready-to-use	20minutová inkubace
Negative Control	FLEX Negative Control, Rabbit (kód GA600)	20minutová inkubace
Vizualizace	EnVision FLEX (kód GV800)	Blok: 3 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min
Kontrastní barvivo	Hematoxylin (kód GC808)	3minutová inkubace
Kontrolní tkáň	Žaludeční sliznice infikovaná <i>H. Pylori</i>	Apikální zbarvení všech buněčných membrán
Podložní sklíčka	FLEX IHC Microscope Slides (kód K8020)	Doporučeno kvůli lepší přilnavosti řezů tkání k podložním sklům
Montáž	Je vyžadována bezvodá permanentní montáž	Po provedení barvení se řezy musí dehydratovat, vyčistit a namontovat pomocí permanentního montážního média
Vybavení	Přístroje řady Dako Omnis	Činidla se dodávají v ampulkách určených pro příslušný přístroj

*Uživatel se musí vždy seznámit s podrobnými pokyny k barvicímu postupu a s pokyny týkajícími se zacházení s produktem, které jsou uvedené v příbalové informaci.

Příprava vzorku

Parafinové řezy: Protilátku lze používat ke značení řezů tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu. Vzorky tkání je nutno rozřezat na řezy o tloušťce 4 µm.

Předběžné zpracování: Je vyžadováno předběžné zpracování tkáňových řezů fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu tepelně indukovaným vyhledáváním epitopu (HIER). Doporučuje se předběžné zpracování tkání HIER pomocí naředěného roztoku EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Dako Omnis), kód GV804. Odstranění parafínu, rehydratace a vyhledání cíle se provádějí v přístroji. Viz Základní uživatelská příručka Dako Omnis.

Tkáňové řezy nesmějí během předběžného zpracování a následného imunohistochemického barvení vyschnout. Z důvodu vyšší přilnavosti řezů tkání k podložním sklům se doporučuje používat podložní skla FLEX IHC Microscope Slides, kód K8020.

Postup barvení

Program: V softwaru přístroje Dako Omnis jsou předem naprogramovány kroky barvení a inkubační doby. Podrobné pokyny ke vkládání podložních skl a reagentů naleznete v Základní uživatelské příručce Dako Omnis. Pokud není v systému Dako Omnis připraven protokol, kontaktujte technické služby výrobce Dako. Všechny kroky inkubace se provádějí v přístroji při teplotě 32 °C.

Vizualizace: Doporučený vizualizační systém je EnVision FLEX, High pH (Dako Omnis), kód GV800. Vizualizace se provádí v přístroji.

Kontrastní barvení: Doporučené kontrastní barvivo je Hematoxylin (Dako Omnis), kód GC808. Kontrastní barvení se provádí v přístroji.

Montáž: Po provedení barvení v přístroji se řezy musí dehydratovat, vyčistit a namontovat pomocí permanentního montážního média.

Kontroly: Pozitivní a negativní kontroly je nutno provádět vždy současně použitím stejného protokolu jako vzorky pacienta. Tkáň pro pozitivní kontrolu musí obsahovat *H. Pylori* infikovanou žaludeční sliznici a buňky/struktury musí ve všech pozitivních vzorcích zobrazovat vzor reakce, jak je stanoveno pro tuto tkáň v části „Charakteristiky účinnosti“. Doporučené činidlo pro negativní kontrolu je FLEX Universal Negative Control, Rabbit (Dako Omnis), kód GA600.

Interpretace zbarvení

H. pylori infikovaný gastrický epitel zobrazuje apikální zbarvení buněk membrány.

Upozorňujeme na důležité informace týkající se tohoto produktu:

Během procesu barvení IHC se v tkáni mohou tvořit precipitáty, které se v některých případech mohou podobat zbarvení *Helicobacter Pylori*. Je proto nezbytné vždy používat normální tkáň, o které je známo, že je negativní na *Helicobacter Pylori*, aby bylo možno identifikovat neočekávané precipitáty.

Jestliže se zbarvení objeví u tkáně pro negativní kontrolu, musí být výsledky pacientových vzorků považovány za neplatné.

Charakteristiky účinnosti

Charakteristiky výkonnosti zavedeny u Dako Omnis (GI10030) a jsou platné pro všechny přístroje řady Dako Omnis, které jsou v současnosti dostupné na trhu.

Normální tkáň: Žaludeční epitel infikovaný *H. pylori* označený touto protilátkou zobrazuje apikální zbarvení buněčných membrán a zbarvení v gastrickém lumen nad epitelem. Ve studii 40 gastrických biopsií byla citlivost na *H. pylori* u 83,8 ± 11,1 % případů a specifita byla u 90,0 ± 0,0 % případů (4).

Abnormální tkáň: U 52 pacientů s primárním gastrickým lymfomem byla prokázána výrazně vyšší denzita *H. pylori* v celé sliznici u pacientů s velkobuněčným lymfomem (n=35) v porovnání s pacienty s malobuněčným lymfomem (n=17) (3). Řezy z 19 Barrettových adenokarcinomů souvisejících s jícnem byly na přítomnost *H. pylori* negativní. (7)

Literatura

1. Anderson LP, Holck S, Povlsen CO. Campylobacter pylori detected by indirect immunohistochemical technique. Ampis 1988;96:559-64.
2. Anderson LP, Holck S. Possible evidence of invasiveness of Helicobacter (Campylobacter) pylori. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1990;9:135-8.
3. Jonkers D, Gisbertz I, de Bruine A, Bot F, Arends JW, Stobberingh E, et al. Helicobacter pylori and non-Helicobacter pylori bacterial flora in gastric mucosal and tumor specimens of patients with primary gastric lymphoma. Eur J Clin Invest 1997;27:885-92.
4. Jonkers D, Stobberingh E, de Bruine A, Arends JW, Stockbrügger R. Evaluation of Immunohistochemistry for the detection of Helicobacter pylori in gastric mucosal biopsies. J Infect 1997;35:149-54.
5. Björkholm B, Falk P, Engstrand L, Nyrén O. Helicobacter pylori: resurrection of the cancer link. J Intern Med 2003;253:102-19.
6. Kelly JR, Duggan JM. Gastric cancer epidemiology and the risk factors. J Clin Epidemiol 2003;56:1-9.
7. Quddus MR, Henley JD, Sulaiman RA, Palumbo TC, Gnepp DR. Helicobacter pylori infection and adenocarcinoma arising in Barrett's esophagus. Hum Pathol 1997;28:1007-9.

Vysvětlivky k symbolům

 REF	Katalogové číslo	 2 °C - 8 °C	Teplotní rozmezí od do		Použitelné do
 IVD	In vitro diagnostický zdravotnický prostředek	 LOT	Číslo šarže		Výrobce
	Viz návod k použití	 EC REP	Autorizovaný zástupce v Evropské unii		



Agilent Technologies Singapore (International) Pte Ltd.
No. 1 Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
Tel. +44 161 492 7050
www.agilent.com

Revize 2025.04