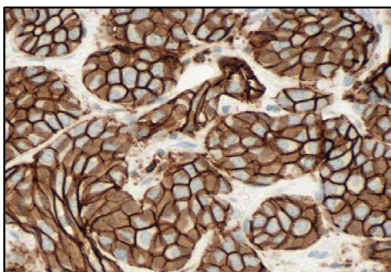


VENTANA anti-E-cadherin (36) Mouse Monoclonal Primary Antibody

REF 790-4497
05905290001

IVD  50



Obrázek 1. VENTANA anti-E-cadherin (36) Barvení ductálního karcinomu

použit jako pomůcka při odlišení lobulárního karcinomu in-situ či invazivního lobulárního karcinomu od ductálního karcinomu prsu in situ nebo od invazivního ductálního karcinomu prsu. Tato protilátka je určena ke kvalitativnímu barvení tkáňových řezů fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu.

Výsledky testu musí být interpretovány kvalifikovaným patologem ve spojení s histologickým vyšetřením, relevantními klinickými informacemi a správnými kontrolami.

Tato protilátka je určena k diagnostice *in vitro* (IVD).

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

E-cadherin je intercelulární adhezivní protein o 120 kd spojený s cytoplasmatickou membránou epitelálních buněk, který působí jako tumorový supresor.¹ E-cadherin spolu s cateniny působí jako kalcium dependentní regulátor pevné adheze buňka-buňka u epitelálních buněk.² U tumorů mají aberace E-cadherin za následek ztrátu cytoplasmatické lokalizace proteinu a odpovídají ztrátě adhezivních vlastností a vzestupu invazivního a metastatického potenciálu.³ Protilátky proti E-cadherin byly použity u řady neoplasmat, přičemž nejčastěji bylo publikováno použití u nádorů prsu a plic.

Normální ductální buňky v prsu výrazně exprimují E-cadherin v cytoplasmatické membráně. U nádorů ductálního původu přetrvává barvicí vzorec membrány s E-cadherin, avšak nádory lobulárního původu často vykazují výskyt aberantního E-cadherin, přičemž velmi často vykazují cytoplasmatickou nebo žádnou reaktivitu E-cadherin.^{4,5} Některé studie ukázaly, že lobulární karcinom prsu je E-cadherin negativní, ale ductální karcinom prsu je pozitivní, přičemž se pravděpodobně liší podle hodnocené kohorty vzorků a použitého klonu E-cadherin.⁶⁻⁸ Četné lobulární karcinomy prsu se nebarví s klonem 36 E-cadherin, ale cytoplasmatické barvení je pozorováno často, spolu se slabým, částečným a tečkovaným barvením membrány. Jiné barvicí vzorce E-cadherin, než je intenzivní barvení membrány po celém obvodu, musí být považovány za aberantní a je nutno je dále vyšetřovat.

V plicích je E-cadherin považován za užitečný při odlišení mesotheliomu od adenokarcinomu, protože adenokarcinom je pozitivní a mnohé mesotheliomy jsou negativní. Mesotheliomy s vřetenovými buňkami jsou primárně negativní na E-cadherin, avšak epiteloidní mesotheliomy vykazují reaktivitu na E-cadherin ve 48 %.⁹

DODÁVANÁ ČINIDLA

VENTANA anti-E-cadherin (36) obsahuje dostatek činidla pro 50 testů.

Jeden 5 mL dávkovač protilátky VENTANA anti-E-cadherin (36) obsahuje přibližně 1,57 µg myší monoklonální protilátky.

Protilátka je naředěna v 0,1 M fosfátovém pufru s obsahem 0,3 % proteinového nosiče a 0,10 % konzervační látky ProClin 300.

Celková proteinová koncentrace činidla je asi 3 mg/mL. Koncentrace specifické protilátky je asi 0,314 µg/mL. V tomto produktu není známa žádná nespecifická protilátková reaktivita.

VENTANA anti-E-cadherin (36) je monoklonální protilátka vyrobená ze supernatantu buněčné kultury.

Podrobné popisy nalezete v příbalovém letáku k příslušné detekční soupravě Ventana: (1) Principy metody, (2) Potřebné materiály a činidla, které však nejsou součástí dodávky, (3) Odběr vzorků a příprava pro analýzu, (4) Postupy kontroly kvality, (5) Řešení problémů, (6) Interpretace výsledků a (7) Obecná omezení.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ SE NEDODÁVÁ

Barvicí činidla, například detekční soupravy Ventana (detekční soupravy *ultraView* Universal DAB Detection Kits) a pomocné materiály, včetně kontrolních sklíček pro negativní a pozitivní tkáň, nejsou součástí dodávky.

SKLADOVÁNÍ

Uchovávejte při teplotě 2–8 °C. Chraňte před mrazem.

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

Každý dávkovač s protilátkou má stanovenou dobu expirace. Je-li řádně skladováno, je činidlo stabilní do data uvedeného na štítku. Nepoužívejte činidla po vypršení data expirace.

PŘÍPRAVA VZORKŮ

Pro použití této primární protilátky s detekčními soupravami Ventana na barvicích automatech Ventana BenchMark Series jsou vhodné tkáně, zpracované běžným způsobem, fixované ve formalínu a zalité v parafínu. Doporučené tkáňové fixativum je 10% neutrální pufovaný formalín.¹⁰ V zájmu zachování antigenosti nařezaných tkáňových řezů se musí řezy tkání barvit okamžitě.

Doporučuje se vyšetřovat souběžně s neznámými vzorky též pozitivní a negativní kontroly.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ PŘEDPISY

1. K diagnostice *in vitro* (IVD).
2. S materiály lidského nebo zvířecího původu je nutno zacházet jako s biologicky nebezpečnými materiály a likvidovat je s příslušnou opatrností.
3. Zabraňte kontaktu činidel s očima a sliznicemi. Jestliže se činidla dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je vydatným množstvím vody.
4. Zabraňte mikrobiální kontaminaci činidel, protože by mohla způsobit nepřesné výsledky.
5. Doporučené metody likvidace jsou uvedeny v celostátních a místních předpisech.

POSTUP BARVENÍ

Primární protilátky Ventana byly vyvinuty za účelem použití v barvicím automatu Ventana BenchMark Series ve spojení s detekčními soupravami a příslušenstvím výrobce Ventana. Doporučený barvicí protokol pro přístroje BenchMark XT a BenchMark ULTRA s detekční soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit je uveden v tabulce 1. Doporučený barvicí protokol pro přístroj BenchMark XT s detekční soupravou *View* DAB Detection Kit je uveden v tabulce 2.

Parametry automatických procedur lze zobrazit, vytisknout a upravovat podle postupů uvedených v Návodu k obsluze přístroje. Další podrobné informace o postupech imunohistochemického barvení naleznete v příbalovém letáku k příslušné detekční soupravě výrobce Ventana.

Tabulka 1. Doporučené barvicí protokoly pro VENTANA anti-E-cadherin (36) s detekční soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit na přístroji BenchMark XT a BenchMark ULTRA.

Typ postupu	Způsob
Odstraňování parafínu	Zvoleno
Úprava buněk (odmaskování antigenu)	Standard Cell Conditioning 1
Enzym (proteáza)	Není vyžadován
Protilátka (primární)	Přístroj BenchMark XT asi 16 minut, 37 °C Přístroj BenchMark ULTRA asi 24 minut, 36 °C
Volitelný postup (např. promytí, amplifikace apod.)	Žádný
Kontrastní barvivo	Hematoxylin II, 4 minuty
Po kontrastním barvení	Bluing, 4 minuty

Tabulka 2. Doporučené barvicí protokoly pro VENTANA anti-E-cadherin (36) s detekční soupravou *View* DAB Detection Kit na přístroji BenchMark XT.

Typ postupu	Způsob
Odstraňování parafínu	Zvoleno
Úprava buněk (odmaskování antigenu)	Standard Cell Conditioning 1
Enzym (proteáza)	Není vyžadován
Protilátka (primární)	Přístroj BenchMark XT asi 16 minut, 37 °C
Volitelný postup (např. promytí, amplifikace apod.)	Žádný
Kontrastní barvivo	Hematoxylin II, 4 minuty
Po kontrastním barvení	Bluing, 4 minuty

Vzhledem k různým způsobům fixace a zpracování tkání může být potřeba zvýšit nebo snížit inkubační doby primární protilátky, úpravy buněk nebo předběžného zpracování proteázou na jednotlivých vzorcích v závislosti na použité metodě detekce. Další informace o různých fixacích naleznete v příručce „Immunohistochemistry Principles and Advances“.¹¹

TKÁŇ PRO POZITIVNÍ KONTROLU

Příkladem tkáně pro pozitivní kontrolu pro tuto protilátku je duktální karcinom prsu. Pozitivní barvení v nádorových buňkách by mělo být podobné normálnímu stupni exprese pozorovanému v prsních dukttech.

INTERPRETACE ZABARVENÍ

Buněčný barvicí vzor pro VENTANA anti-E-cadherin (36) je membránový.

SPECIFICKÁ OMEZENÍ

Protilátka je optimalizovaná pro inkubační dobu 16 minut při použití na přístroji BenchMark XT a pro inkubační dobu 24 minut na přístroji BenchMark ULTRA ve spojení s detekční soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit, uživatel však musí výsledky získané použitím tohoto činidla ověřit.

CHARAKTERISTIKY ÚČINNOSTI

Barvicí testy specifity, senzitivity a reprodukovatelnosti byly provedeny s použitím VENTANA anti-E-cadherin (36) s detekční soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit na přístrojích BenchMark XT a BenchMark ULTRA.

Specifická

Tabulka 3. Specifická VENTANA anti-E-cadherin (36) byla stanovena testováním normálních tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu.

Tkáň	Počet pozitivních/celkový počet tkání	Tkáň	Počet pozitivních/celkový počet tkání
Mozek	0/3	Brzlík	0/3
Mozeček	0/3	Myeloidní tkáň (kostní dřeň)	0/3
Nadledvinka	0/3	Plíce	0/3
Ovarium	0/3	Srdce	0/3
Slinivka břišní	3/3	Jícen	3/3
Příštítná žláza	3/3	Žaludek	3/3
Hypofýza	3/3	Tenké střevo	3/3
Varle	0/3	Tlusté střevo	2/3
Štítná žláza	3/3	Játra	3/3
Prs	3/3	Slinná žláza	3/3
Slezina	3/3	Ledvina	3/3
Tonsila	3/3	Prostata	3/3
Endometrium	3/3	Cervix	2/2
Kosterní sval	0/3	Kůže	3/3
Nerv (periferní)	0/3	Mesotel a plíce	0/3

Senzitivita

Tabulka 4. Specifická VENTANA anti-E-cadherin (36) byla stanovena testováním různých neoplastických tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu.

Počet pozitivních/celkový počet tkání	Patologie
0/1	Glioblastom
1/1	Atypický meningeom
0/1	Maligní ependymom
0/1	Maligní oligodendrogliom
1/1	Serosní papilární adenokarcinom
1/1	Mucinosní papilární adenokarcinom
0/1	Karcinom ostrůvkových buněk
1/1	Adenokarcinom pankreatu
1/1	Seminom
0/1	Embryonální karcinom
1/1	Medulární karcinom
1/1	Papilární karcinom
25/28	Intraduktální karcinom prsu
1/1	Lobulární karcinom prsu <i>in situ</i>

Počet pozitivních/celkový počet tkání	Patologie
165/192	Invazivní ductální karcinom prsu
41/57*	Invazivní lobulární karcinom prsu
0/1	Difuzní lymfom z B-buněk
1/17	Malobuněčný nediferencovaný karcinom plic
49/54	Karcinom plic z dlaždicových buněk
38/43	Adenokarcinom plic
1/1	Karcinom jícnu z dlaždicových buněk
1/1	Adenokarcinom jícnu
0/1	Mucinosní adenokarcinom žaludku
1/1	Gastrointestinální adenokarcinom
0/1	GIST
1/1	Hepatocelulární karcinom
0/1	Hepatoblastom
0/1	Karcinom ledviny z jasných buněk
1/1	Adenokarcinom prostaty
1/1	Karcinom prostaty z přechodných buněk
0/1	Leiomyom
1/1	Adenokarcinom endometria
1/1	Karcinom endometria z jasných buněk
2/2	Karcinom dělohy z dlaždicových buněk
0/1	Embryonální rhabdomyosarkom
1/1*	Karcinom z bazálních buněk
1/1	Karcinom z dlaždicových buněk
0/1	Neurofibrom
0/1	Retroperitoneální neuroblastom
1/1	Epiteliální maligní mesoteliom
0/1	Difuzní maligní lymfom
0/1	Hodgkinův lymfom
0/1	Difuzní maligní lymfom
1/1	Karcinom močového měchýře z přechodných buněk
0/1	Leiomyosarkom nízkého stupně
0/1	Osteosarkom
0/1	Rhabdomyosarkom z vřetenových buněk
1/1*	Leiomyosarkom středního stupně
0/1	Maligní melanom

*Cytoplasmatické barvení nebo fokální membránové barvení

Reprodukovatelnost mezi šaržemi

Stanovuje se testováním 3 šarží na 1 bloku více tkání (3 tkáně v jednom bloku) na přístroji BenchMark XT. Všechny tři šarže měly ekvivalentní skóre.

Reprodukovatelnost mezi cykly

Byla stanovena barvením 2 bloků více tkání (3 tkáně v jednom bloku, celkem 6 tkání) na 50 sklech na přístroji BenchMark XT po dobu 5 dnů, které nenásledují po sobě. 150 ze 150 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.

Reprodukovatelnost uvnitř cyklu

Byla stanovena barvením 2 bloků více tkání (3 tkáně v jednom bloku, celkem 6 tkání) na 28 sklech na přístroji BenchMark XT. 84 ze 84 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.

Reprodukovatelnost uvnitř platformy

Byla stanovena barvením 2 bloků více tkání (3 tkáně v jednom bloku, celkem 6 tkání) na 10 sklech na 3 přístrojích BenchMark XT. 90 z 90 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.

Byla stanovena na základě barvení 1 bloku různých druhů tkání (3 tkáně v jednom bloku) na 5 sklech na 3 přístrojích BenchMark ULTRA. 45 ze 45 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.

Reprodukovatelnost mezi platformami

Byla stanovena na základě barvení 1 bloku různých druhů tkání (3 tkáně v jednom bloku) na 5 sklech na 3 přístrojích BenchMark ULTRA a na 3 přístrojích BenchMark XT. 45 ze 45 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.

Výsledky kompatibility

VENTANA anti-E-cadherin (36) vykazoval kompatibilitu s přístroji Ventana BenchMark XT, a BenchMark ULTRA a s detekčními soupravami View DAB Detection Kit a *ultraView* Universal DAB Detection Kit.

LITERATURA

- Berx G, Van Roy F. The E-cadherin/catenin complex: an important gatekeeper in breast cancer tumorigenesis and malignant progression. *Breast Cancer Res.* 2001;3:289-293.
- Van Roy F, Berx G. The cell-cell adhesion molecule E-cadherin. *Cell Mol. Life Sci.* 2008;65:3756-3788.
- Beavon, IRG. The E-cadherin-catenin complex in tumour metastasis: structure, function, and regulation. *European Journal of Cancer.* 2000;36:1607-1620.
- Sitonen SM, et al. Reduced E-cadherin expression is associated with invasiveness and unfavorable prognosis in breast cancer. *Am J Clin Pathol.* 1996;105: 394-402.
- Geza A, et al. Differential expression of E-cadherin in lobular and ductal neoplasms of the breast and its biologic and diagnostic implications. *Am J Clin Pathol.* 2001;115:85-98.
- Choi YJ, et al. Interobserver variability and aberrant E-cadherin immunostaining of lobular neoplasia and infiltrating lobular carcinoma. *Mod Pathol.* 2008;21:1224-1237.
- Qureshi HS, et al. E-cadherin status in breast cancer correlates with histologic type but does not correlate with established prognostic parameters. *Am J Clin Path.* 2006;125:377-385.
- Kowalski PJ, et al. E-cadherin expression in primary carcinomas of the breast and its distant metastases. *Breast Cancer Res.* 2003;5:R217-R222.
- Abutaily AS, et al. Cadherins, catenins and APC in pleural malignant mesothelioma. *J Pathol.* 2003;201:355-362.
- Sheehan DC, Hrapchak BB. *Theory and Practice of Histotechnology*, 2nd edition. St. Louis, MO: The C.V. Mosby Company; 1980.
- Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.

DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

BENCHMARK, *ultraView*, VENTANA a logo Ventana jsou ochranné známky společnosti Roche.

Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků.

Konečnému uživateli je poskytována společností Ventana jednorázová licence v souladu s patenty USA, čísla 6045759, 6192945, 6416713, 6945128 a 7378058 a všemi zahraničními stejnopisy.

KONTAKTNÍ ÚDAJE

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