

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
E-Cadherin
Klon NCH-38
Ready-to-Use
(Dako Omnis)

Kód GA059

Použití	<p>Pro diagnostiku in vitro.</p> <p>FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human E-Cadherin, klon NCH-38, připravená k použití (Dako Omnis), je určena pro použití v imunohistochemii (IHC) společně s přístrojem Dako Omnis. Protilátka je užitečnou pomůckou při identifikaci buněk exprimujících E-cadherin v normálních a neoplastických tkáních. Výsledky přispívají ke klasifikaci ductálního prsního karcinomu (1). Diferenční klasifikaci napomáhají výsledky z panelu protilátek. Klinickou interpretaci zbarvení nebo jeho nepřítomnosti je třeba doplnit morfoloogickým vyšetřením s využitím patřičných kontrol a vyhodnotit s přihlédnutím k pacientově klinické anamnéze a k dalším diagnostickým testům provedeným kvalifikovaným patologem. Tato protilátka je určena k použití po primární diagnóze tumoru provedené konvenční histopatologií za použití neimunologických histochemických zbarvení.</p>
Synonyma antigenu	E-CD, uvomorulin, L-CAM, Arc-1 nebo buňka CAM 120/180 (2-4)
Souhrn a výklad	<p>E-cadherin je adhézní molekula transmembránové buňky o hmotnosti 120 kD. Gen byl lokalizován na chromozómu 16q22.1. Svou extracelulární doménou se E-cadherin podílí na mezibuňkovém spojení prostřednictvím vápníkem regulované homofilní interakce, zatímco ve své intracelulární doméně se E-cadherin spojuje cytoskeletem aktinu prostřednictvím kateninů. E-cadherin má výraznou funkci v intercelulární adhezi epiteliálních buněk, ve stanovení epiteliální polarizaci, glandulární diferenciaci a rozvrstvení. Je většinou lokalizován v adherentních spojích a koncentruje urokinázový plazminogenní aktivátor a epidermální receptor růstového faktoru na místa kontaktu buněk (5,6).</p> <p>V příručce <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining (Obecné pokyny pro imunohistochemické barvení)</i> společnosti Dako nebo v návodu k systému detekce pro IHC metody naleznete informace týkající se těchto témat: Princip metody, Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky, Skladování, Příprava vzorku, Postup barvení, Kontrola kvality, Řešení problémů, Interpretace zbarvení, Obecná omezení.</p>
Dodávaná reagencie	<p>Monoklonální myší protilátka připravená k použití se dodává v kapalné podobě v pufru s obsahem stabilizujícího proteinu a 0,015 mol/l azidu sodného.</p> <p><u>Klon:</u> NCH-38 <u>Izotyp:</u> IgG1, kappa.</p>
Imunogen	E-cadherin (uvomorulin) (9).
Specifita	Anti-E-cadherin, NCH-38 rozpoznává zralou formu E-cadherinu o hmotnosti 120 kD a fragment o hmotnosti 82 kD v testech Western blot buněčných lysátů A431 (9).
Bezpečnostní opatření	<ol style="list-style-type: none">1. K diagnostice in vitro2. Určeno pro profesionální uživatele.3. 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.4. Jako u každého výrobku biologického původu je nutno dodržovat správné postupy zacházení.5. Používejte odpovídající osobní ochranné prostředky, aby nedošlo k zasažení očí nebo pokožky.6. Nespotřebované roztoky je nutno likvidovat v souladu s místními a celostátními předpisy.
Uchovávání	<p>Skladujte při teplotě 2-8 °C. Během skladování musí být víčko uzavřené. Nepoužívejte po datu expirace uvedeném na lahvičce. Aplikační stabilita je 280 hodin. Aplikační stabilitu sleduje software Dako Omnis. Pokud se reagencie skladují za jakýchkoli jiných než uvedených podmínek, musí uživatel tyto podmínky ověřit. Případná nestabilita výrobku se neprojevuje 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.</p>

Šablona protokolu barvení*

Krok		Komentáře
Fixace/zaliti	Fixováno ve formalínu, zalito v parafínu	Odstranění parafínu v přístroji
Předběžné zpracování	EnVision FLEX, FLEX, High pH (kód GV804)	30 min HIER
Protílátka	Ready-to-use	25minutová inkubace
Negativní kontrola	FLEX Negative Control, Mouse (kód GA750)	25minutová inkubace
Vizualizace	EnVision FLEX (kód GV800) + EnVision FLEX+ Mouse LINKER (kód GV821)	Blok: 3 min; Link: 10 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min
Kontrastní barvivo	Hematoxylin (kód GC808)	3minutová inkubace
Kontrolní tkáň	Tračník a játra	Cytoplazmatické/membránové zbarvení
Sklička	FLEX IHC Microscope Slides (kód K8020)	Doporučeno kvůli lepší přilnavosti řezů tkání k podložním sklům.
Montáž	Je vyžadována bezvodá permanentní montáž	Po barvení je třeba řezy dehydratovat, vyčistit a montovat za použití permanentní montážní metody
Vybavení	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: Protílátku 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 odmaskováním (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 Dako Omnis. Viz Základní uživatelská příručka Dako Omnis.

Přístroj Dako Omnis zajistí, aby tkáňové řezy během předběžného zpracování a následného imunohistochemického barvení nevyšly. 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 skel a plnění činidel naleznete v Základní uživatelské příručce Dako Omnis. Pokud není v systému Dako Omnis připraven protokol, kontaktujte technickou podporu výrobce Dako. Všechny kroky inkubace se provádějí při teplotě 32 °C v přístroji Dako Omnis.

Vizualizace: Doporučený vizualizační systém je EnVision FLEX, High pH (Dako Omnis), kód GV800 v kombinaci s EnVision FLEX+ Mouse LINKER (Dako Omnis), kód GV821. Vizualizace se provádí v přístroji Dako Omnis.

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

Montáž: Po provedení barvení v přístroji Dako Omnis se řezy musí dehydratovat, vyčistit a namontovat pomocí permanentní montážní metody.

Kontrola kvality: Tkáň pro pozitivní a negativní kontroly a také činidlo pro negativní kontrolu je nutno testovat vždy současně použitím stejného protokolu jako vzorky pacienta. Tkáň pro pozitivní kontrolu musí obsahovat buňky tračnicku a jater a tyto buňky/struktury musí zobrazovat vzor reakce, jak je stanoveno pro tuto tkáň v části „Charakteristiky účinnosti“. Doporučené činidlo pro negativní kontrolu je FLEX Universal Negative Control, Mouse (Dako Omnis), kód GA750.

Interpretace zbarvení

Buněčný barvicí vzor je cytoplazmatický a membránový.

Charakteristiky účinnosti

Normální tkáň: V tračnicku vykazaly provazce epitelálních buněk středně silnou až silnou reakci barvení. V játrech vykazují hepatocyty a ductální buňky středně silnou až silnou reakci.

Souhrn reaktivity normální tkáně

Typ tkáně (počet testovaných)	Označené prvky tkáně	Typ tkáně (počet testovaných)	Označené prvky tkáně
Brzlík (3)	Hassalova tělíska - cortico reticular (100 %), membrána a cytoplazma	Plíce (3)	3/3 alveolární bronchiální epitelální buňky (100%), membrána a cytoplazma
Děloha (3)	3/3 epitel (100 %), membrána a cytoplazma	Prostata (3)	3/3 epitel (100 %), membrána a cytoplazma
Děložní hrdlo (1)	1/1 epitel (100 %), membrána a cytoplazma	Prs (3)	3/3 epitelální buňky (100 %), membrána a cytoplazma
Hypofýza (3)	0/3	Příštitná tělíska (3)	3/3 epitel (100 %), membrána a cytoplazma










Játra (3)	3/3 hepatocyty, membrána a cytoplazma 3/3 žlučovody, membrána a cytoplazma	Slezina (3)	3/3 endotel cévek (50 %), membrána a cytoplazma
Jícen (3)	3/3 epitel (100 %), membrána a cytoplazma	Slinná žláza (3)	3/3 epitel (100 %), membrána a cytoplazma
Kostní dřevina (1)	0/1	Sval srdeční (3)	0/3
Kůže (3)	3/3 epitel (100 %), membrána a cytoplazma	Sval, kosterní (3)	0/3
Ledvina (3)	3/3 tubulární epitel (80 %), membrána a cytoplazma	Štítná žláza (3)	3/3 epitel (100 %), membrána a cytoplazma
Malý mozek (3)	0/3	Tenké střevo (3)	3/3 epitel (100 %), membrána a cytoplazma
Mandle (3)	3/3 epitel (100 %), membrána a cytoplazma	Tračník (3)	3/3 epitelální buňky (100 %), membrána a cytoplazma
Mozek (3)	0/3	Vaječník (3)	2/3 epitel v primárních folikulech (<1-100%), membrána a cytoplazma
Nadledvina (3)	3/3 epitel (50-80 %), membrána a cytoplazma	Varlata (3)	0/0
Nervy, periferní (2)	2/2 nerv (60 %), cytoplazma	Žaludek (3)	3/3 epitel (100 %), membrána a cytoplazma
Pankreas (3)	3/3 epitelální buňky (100 %), membrána a cytoplazma		

Abnormální tkáň: Protilátka s označením 203/204 invazivní duktální karcinom prsu, 5/49 invazivní lobulární karcinom prsu, 3/10 pleomorfní lobulární karcinom; 4/4 případy tubulolobulárních karcinomů prsu a 5/9 invazivní karcinomy prsu s neurčitým zařazením mezi lobulární a duktální typ (1).

Literatura

1. Singhai R, Patil V, Jaiswal S, Patil S, Tayade M, Patil A. E-Cadherin as a diagnostic biomarker in breast cancer. North Am J Med Sci 2011; 3:227-33.
2. Shiozaki H, Tahara H, Oka H, Miyata M, Kobayashi K, Tamura S, et al. Expression of Immunoreactive E-cadherin adhesion molecules in human cancers. Am J Pathol 1991;139:17.
3. Gabbert HE, Mueller W, Schneider A, Meier S, Moll R, Birchmeier W, et al. Prognostic value of E-cadherin expression in 413 gastric carcinomas. Int J Cancer 1996;69:184.
4. Umbas R, Schalken JA, Aalders TW, Carter BS, Karthaus HFM, Schaafsma HE, et al. Expression of the cellular adhesion molecule E-cadherin is reduced or absent in high-grade prostate cancer. Canc Res 1992; 52:5104.
5. Silye R, Karayiannakis AJ, Syrigos KN, Poole S, Van Noorden S, Batchelor W, et al. E-cadherin/catenin complex in benign and malignant melanocytic lesions. J Pathol 1998;186:350.
6. Heimann R, Lan F, McBride R, Hellman S. Separating favorable from unfavorable prognostic markers in breast cancer: the role of E-cadherin. Canc Res 2000; 60:298.
7. Bracke ME, Van Roy FM, Mareel MM. The E-cadherin/catenin complex in invasion and metastasis. Cur Top Microbiol Immunol 1996; 213 (Pt 1):123-61.
8. Garcia del Muro X, Torregrosa A, Munoz J, Castellsague X, Condom E, Vignes F, et al. Prognostic value of the expression of E-cadherin and β -catenin in bladder cancer. Eur J Cancer 2000; 36:357.
9. Antibody Certification 6/8/99. On file at Dako.

Vysvětlivky k symbolům

 REF	Katalogové číslo		Teplotní rozmezí od do	 IVD	In vitro diagnostický zdravotnický prostředek
	Výrobce	 LOT	Číslo šarže		Obsah postačující pro <n> testů
	Použitelné do		Viz návod k použití	 EC REP	Autorizovaný zástupce v Evropské unii



Agilent Technologies, Inc.
5301 Stevens Creek Blvd.
Santa Clara, CA 95051
United States

Tel. +44 161 492 7050
www.agilent.com

TX02438/01

Revize 2020.06