

**FLEX
Polyclonal Rabbit
Anti-S100
Ready-to-Use
(Dako Omnis)**

Kód GA504

Použití	Pro diagnostiku in vitro. FLEX Polyclonal Rabbit Anti-S100, Ready-to-Use (Dako Omnis) je určen pro použití v imunohistochemii (IHC) společně s přístrojem Dako Omnis. Tato protilátka značí buňky exprimující S100, též je vhodná ke klasifikaci S100 pozitivních neoplazmatů, například maligní melanom (1, 2), Langerhansovy histiocytózy (3), chondroblastom (4) a schwanom (5). Diferenční klasifikaci napomáhají výsledky z panelu protilátek. Klinickou interpretaci zbarvení nebo jeho nepřítomnosti je třeba doplnit morfologickým vyšetřením s využitím patřičných kontrol a vyhodnotit s přihlednutím k pacientově klinické anamnéze a k dalším diagnostickým testům provedeným kvalifikovaným patologem. Tato protilátka je určena k použití pro primární diagnózu tumoru provedené konvenční histopatologií za použití neimunologických histochemických zbarvení.																																	
Souhrn a výklad	S100 je multigenní rodina s nízkou molekulovou hmotností (Mr mezi 9 000 a 13 000) spojující Ca ²⁺ proteiny. Rodina obsahuje 19 členů, které jsou diferenciatně exprimovány ve velkém počtu typů buněk. Proto je S100B (dříve S100β) nejčastější v gliových buňkách centrálního a periferního nervového systému, v melanocytech, chondrocytech a adipocytech, zatímco S100A1 (dříve S100A/S100α) je nejčastější v kardiomyocytech, v pomalých buňkách kosterních svalů, slinných epitelových buňkách a v ledvinových buňkách. Dodatečně byl S100B nalezen v nádorových buňkách a v subpopulaci neuronů zatímco S100A1 byl též zjištěn u hipokampálních neuronů. S100A6 je exprimován fibroblasty a buňkami hladkého a srdečního svalu (5) Členy rodiny S100 byly implikovány v Ca ²⁺ -dependentních regulacích při rozličných intracelulárních činnostech, např. proteinová fosforylace, buňková proliferace (včetně neoplastické transformace) a diferenciace (7). Panel protilátek včetně Dako Polyclonal Anti-S100 byl aplikován prostřednictvím skupiny International Lymphoma Study Group pro klasifikaci nádorů u podezřelých histiocytových/dendritických buněk (6). 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.																																	
Dodávaná reagensie	Polyklonální králičí protilátka připravená k použití se dodává v kapalné podobě v pufru s obsahem stabilizujícího proteinu a 0,015 mol/l azidu sodného.																																	
Imunogen	S100 izolovaný z mozku krávy.																																	
Specifická	Protilátka je absorbována v pevné fázi s lidskou plazmou a proteiny kravského séra. Ve Western blotu purifikovaných lidských rekombinantních S100 proteinů, značila protilátka silně S100B, slabě S100A1 a velmi slabě S100A6. U ostatních testovaných S100 proteinů, S100A2, S100A3 a S100A4, nebyla zaznamenána žádná reakce (8). V nepřímém ELISE neprokázala protilátka žádnou reakci s lidskou plazmou a kravským sérem. Pomocí IHC bylo prokázáno, že na tkáních fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu protilátka zkříženě nereaguje s S100 ekvivalentem lidského proteinu.																																	
Bezpečnostní opatření	<ol style="list-style-type: none"> Pro diagnostiku in vitro. Určeno pro profesionální uživatele. 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. Jako u každého výrobku biologického původu je nutno dodržovat řádná bezpečnostní opatření. Používejte odpovídající osobní ochranné prostředky, aby nedošlo k zasažení očí nebo pokožky. Nespotřebované roztoky je nutno likvidovat v souladu s místními a celostátními předpisy. 																																	
Uchovávání	Skladujte při teplotě 2–8 °C. Během skladování musí být víčko uzavřené. Nepoužívejte po datu expirace uvedeném na lahvičce. Aplikační stabilita je 375 hodin. Aplikační stabilitu sleduje software Dako Omnis. Pokud se reagensie skladují za jakýchkoli jiných než uvedených podmínek, musí uživatel tyto podmínky ověřit. Případná nestabilita výrobku se neprojeví žádnými známkami. Proto je nutno provádět současně s testováním vzorků pacienta pozitivní a negativní kontroly. Pokud pozorujete 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.																																	
Šablona protokolu barvení*	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Krok</th> <th>Fixováno ve formalínu, zalito v parafínu</th> <th>Komentáře</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Fixace/zaliti</td> <td>Fixováno ve formalínu, zalito v parafínu</td> <td>Odstranění parafínu v přístroji</td> </tr> <tr> <td>Předběžné zpracování</td> <td>EnVision FLEX, FLEX, High pH (kód GV804)</td> <td>30 min HIER</td> </tr> <tr> <td>Protilátka</td> <td>Ready-to-use</td> <td>17,5minutová inkubace</td> </tr> <tr> <td>Negativní kontrola</td> <td>FLEX Negative Control, Rabbit (kód GA600)</td> <td>17,5minutová inkubace</td> </tr> <tr> <td>Vizualizace</td> <td>EnVision FLEX (kód GV800)</td> <td>Blok: 3 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min</td> </tr> <tr> <td>Kontrastní barvivo</td> <td>Hematoxylin (kód GC808)</td> <td>3minutová inkubace</td> </tr> <tr> <td>Kontrolní tkáň</td> <td>Tlusté střevo</td> <td>Nukleární a cytoplazmatické zbarvení</td> </tr> <tr> <td>Sklička</td> <td>FLEX IHC Microscope Slides (kód K8020)</td> <td>Doporučeno kvůli lepší přilnavosti řezů tkání k podložním sklům.</td> </tr> <tr> <td>Montáž</td> <td>Je vyžadována bezvodá permanentní montáž</td> <td>Po barvení je třeba řezy dehydratovat, vyčistit a montovat za použití permanentní montážní metody</td> </tr> <tr> <td>Vybavení</td> <td>Dako Omnis</td> <td>Činidla se dodávají v ampulkách určených pro příslušný přístroj</td> </tr> </tbody> </table> <p>*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.</p>	Krok	Fixováno ve formalínu, zalito v parafínu	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	Protilátka	Ready-to-use	17,5minutová inkubace	Negativní kontrola	FLEX Negative Control, Rabbit (kód GA600)	17,5minutová inkubace	Vizualizace	EnVision FLEX (kód GV800)	Blok: 3 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min	Kontrastní barvivo	Hematoxylin (kód GC808)	3minutová inkubace	Kontrolní tkáň	Tlusté střevo	Nukleární a cytoplazmatické 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
Krok	Fixováno ve formalínu, zalito v parafínu	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																																
Protilátka	Ready-to-use	17,5minutová inkubace																																
Negativní kontrola	FLEX Negative Control, Rabbit (kód GA600)	17,5minutová inkubace																																
Vizualizace	EnVision FLEX (kód GV800)	Blok: 3 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min																																
Kontrastní barvivo	Hematoxylin (kód GC808)	3minutová inkubace																																
Kontrolní tkáň	Tlusté střevo	Nukleární a cytoplazmatické 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																																
Příprava vzorku	Parafínové řezy: Protilátku lze používat k 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 Dako Omnis. Viz Základní uživatelská příručka Dako Omnis. Přístroj Dako Omnis zajistí, aby tkáňové řezy během předběžného zpracování a následného imunohistochemického barvení nevyschly. 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 GV80w0. 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 s použitím stejného protokolu jako vzorek pacienta. Tkáň pro pozitivní kontrolu musí obsahovat buňky tračnicku 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 Negative Control, Rabbit (Dako Omnis), kód GA600.

Interpretace zbarvení

Buňky značené protilátkou zobrazují cytoplazmatické a nukleární zbarvení.

Charakteristiky účinnosti









Normální tkáň: Pozitivní značení protilátkou se prokázalo při některých Langerhansových buňkách a melanocytech pokožky, při interdigitujících retikulárních buňkách v lymfatických uzlinách, při dřeňových epitelových retikulárních buňkách v tymusu, při chondrocytech v chrupavkách, při adipocytech, v některých, ale ne při jiných biopsiích myoepitelových buňkách v slinných žlázách a prsech, folikulostelátových buňkách hypofýzy a při Schwannových a gliových buňkách nervové tkáně. Slabé značení bylo prokázáno u epitelových buněk prsních a potních žláz. Negativní reakce s protilátkou byla prokázána v normálních hepatocytech, v epitelu žlučových, v epitelu žlučníku, jícnu, žaludku a v epitelu tenkého a tlustého střeva, v ledvinovém epitelu a v urotelových a endotelových buňkách (9). Satelitní buňky periferních nervů plexus Auerbachii tlustého střeva vykazují středně silnou až silnou jádrovou a cytoplazmatickou reakci zbarvení, zatímco adipocyty a gangliové buňky v plexus Auerbachii vykazují slabou až středně silnou jádrovou a cytoplazmatickou reakci zbarvení.

Abnormální tkáň: U maligních melanomů protilátka značila 31/31 (100 %) konvenčních kožních melanomů, 23/24 (96 %) metastatických melanomů, včetně 10 amelanotických, 6/6 dezplastických a 1/1 myxoidního maligního melanomu. Ve všech případech 30 benigních a 15 dysplastických név bylo prokázáno univerzální homogenní značení (1). V jiné studii primárních maligních kožních melanomů (2), bylo 67/67 (100 %) případů označených s protilátkou, včetně 5/5 včetněvitých buněk a dezplastických nádorů V 27 případech Langerhansových histiocytóz bylo protilátkou označených 88,5 %, včetně lokalizovaných a dislokovaných onemocnění (3). U 30 prozkoumaných chondroblastomů se u všech prokázalo silné značení chondroblastů protilátkou (4). S protilátkou bylo označených 12/12 typicky benigních schwanomů a též 2/4 maligních schwanomů. 6/6 neurofibromů prokázalo slabou expresi S100, s výjimkou některých izolovaných buněk a několika procesech v úhořovitých buňkách, které byly zřetelně označeny (5). S100 byl exprimován 15 ze 133 non-melanocytových primárních kožních neoplazem, např. 7/16 ekkrinních karcinomech, 2/8 metastatických viscerálních karcinomů, 2/2 maligních schwanomů a 4/5 leiomyosarkomů (2). Protilátka označila 24/25 (84 %) adenokarcinomů vaječníků, 12/15 (80 %) adenokarcinomů slinných žláz, 28/36 (78 %) adenokarcinomů endometria, 15/23 (65 %) adenokarcinomů ledvin, 12/20 (60%) adenokarcinomů prsů, 7/28 (25 %) adenokarcinomů tlustého střeva/konečnicku, 2/10 (20 %) adenokarcinomů žaludku a 2/27 (7 %) adenokarcinomů plic. V této studii nebyly adenokarcinomy jícnu, žlučníku, pankreasu a prostaty označeny. Většina primárních neoplazem, které exprimovaly S100, byly taktéž označeny na tento protein v metastatickém ohnisku (10). 7/60 (12 %) rhabdomyosarkomů bylo označených protilátkou. Nádory označené látkou S100 byly též pozitivní na vimentin a dezmin (11).

Literatura

1. Orchard GE. Comparison of immunohistochemical labelling of melanocyte differentiation antibodies melan-A, tyrosinase and HMB 45 with NKIC3 and S100 protein in the evaluation of benign naevi and malignant melanoma. *Histochem J* 2000; 32:475-81.
2. Wick MR, Swanson PE, Rocamora A. Recognition of malignant melanoma by monoclonal antibody HMB-45. An immunohistochemical study of 200 paraffin-embedded cutaneous tumors. *J Cutan Pathol* 1988; 15:201-7.
3. Ye F, Huang S-W, Dong H-J. Histiocytosis X. S-100 protein, peanut agglutinin, and transmission electron microscopy study. *Am J Clin Pathol* 1990; 94:627-31.
4. Edel G, Ueda Y, Nakanishi J, Brinker KH, Roessner A, Blasius S, et al. Chondroblastoma in bone. A clinical, radiological, light and immunohistochemical study. *Virchows Arch A Pathol Anat* 1992; 421:355-66.
5. Gould VE, Moll R, Moll I, Lee I, Schwechheimer K, Franke WW. The intermediate filament complement of the spectrum of nerve sheath neoplasms. *Lab Invest* 1986; 55:463-74.
6. Pileri SA, Grogan TM, Harris NL, Banks P, Campo E, Chan JKC, et al. (review). Tumours of histiocytes and accessory dendritic cells: an immunohistochemical approach to classification from the International Lymphoma Study Group based on 61 cases. *Histopathology* 2002; 41:1-29.
7. Donato R. Functional roles of S100 proteins, calcium-binding proteins of the EF-hand type (review). *Biochim Biophys Acta* 1999; 1450:191-231.
8. Ilg EC, Schäfer BW, Heizmann CW. Expression pattern of S100 calcium-binding proteins in human tumors. *Int J Cancer* 1996; 68:325-32.
9. Vanstapel M-J, Gatter KC, de Wolf-Peeters C, Mason DY, Desmet VD. New sites of human S-100 immunoreactivity detected with monoclonal antibodies. *Am J Clin Pathol* 1986; 85:160-8.
10. Herrera GA, Turbat-Herrera EA, Lott RL. S-100 protein expression by primary and metastatic adenocarcinomas. *Am J Clin Pathol* 1988; 89:168-76.
11. Coindre J-M, de Mascarel A, Trojani M, de Mascarel I, Pages A. Immunohistochemical study of rhabdo-myosarcoma. Unexpected staining with S100 protein and cytokeratin. *J Pathol* 1988; 155:127-32.

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 2020.11