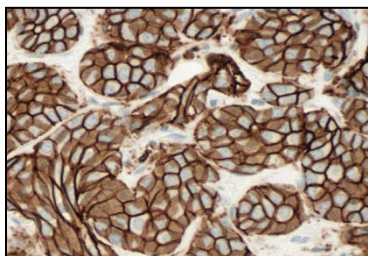


VENTANA anti-E-cadherin (36) Mouse Monoclonal Primary Antibody

REF 790-4497

05905290001

IVD  50



Obr. 1. VENTANA anti-E-cadherin (36) Barvení duktálního karcinomu

URČENÉ POUŽITÍ

VENTANA anti-E-cadherin (36) Mouse Monoclonal Primary Antibody (VENTANA anti-E-cadherin (36)) je nasměrována proti cytoplasmatické doméne lidského transmembránového proteinu E-cadherinu exprimovanému jako součást adhezivního komplexu buňka-buňka v epitelálních tkáních. Snížení nebo ztráta exprese je spojena s invazivním karcinomem a snad i s metastázami u různých druhů karcinomů. Tuto protilátku je možno

použít jako pomůcku při odlišení lobulárního karcinomu *in situ* či invazivního lobulárního karcinomu od duktálního karcinomu prsu *in situ* nebo od invazivního duktálního karcinomu prsu. Tato protilátka je určena ke kvalitativnímu barvení tkáňových řezů fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu.

Výsledky testu musejí 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 mezibuněčné adheze u epitelálních buněk.² U tumorů mají aberace E-cadherinu za následek ztrátu cytoplasmatické lokalizace proteinu a odpovídají ztrátě adhezivních vlastností a vzestupu invazivního a metastatického potenciálu.³ Protilátky proti E-cadherinu byly použity u řady neoplasmů, přičemž nejčastěji bylo publikováno použití u nádorů prsu a plic.

Normální duktální buňky v prsu výrazně exprimují E-cadherin v cytoplasmatické membráně. U nádorů duktálního původu přetrvává barvicí vzorec membrány s E-cadherinem, avšak nádory lobulárního původu často vykazují výskyt aberantního E-cadherinu, přičemž velmi často vykazují cytoplasmatickou nebo žádnou reaktivitu E-cadherinu.^{4,5} Některé studie ukázaly, že lobulární karcinom prsu je E-cadherin negativní, ale duktální karcinom prsu je pozitivní, přičemž se pravděpodobně liší podle hodnocené kohorty vzorků a použitého klonu E-cadherinu.⁶⁻⁸ Četné lobulární karcinomy prsu se nebarví s klonem 36 E-cadherinu, ale cytoplasmatické barvení je pozorováno často, spolu se slabým, částečným a tečkovaným barvením membrány. Navíc se v literatuře ukázalo, že klon 36 E-cadherinu vykazuje vzor barvení jádra u různých typů tumorů.⁹ Vzhledem k tomu, že klinický význam nukleárního barvení E-cadherinu není plně znám, patolog si musí povšimnout přítomnosti tohoto barvicího vzoru a při interpretaci obarvených sklíček s E-cadherinem postupovat opatrně. Pro účely klinických informací lze nyní spoléhat pouze na vzor membránového zbarvení, všechny ostatní barvicí vzory musejí být považovány za aberantní.

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 %.¹⁰

DODÁVANÉ REAGENCIE

Protilátka VENTANA anti-E-cadherin (36) obsahuje reagencie postačující pro 50 testů.

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

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

Celková proteinová koncentrace reagencie je asi 3 mg/ml. Koncentrace specifické protilátky je asi 0,314 µg/ml. Pro tento produkt není známa žádná nespecifická reakce protilátky.

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

Podrobné popisy naleznete v příbalové informaci k příslušné detekční soupravě VENTANA: (1) Princip metody, (2) Potřebný materiál a reagencie nedodávané se soupravou, (3) Odběr vzorků a příprava pro analýzu, (4) Postup řízení jakostí, (5) Řešení problémů, (6) Interpretace výsledků a (7) Obecná omezení.

POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY

Součástí dodávky nejsou barvicí reagencie, například detekční soupravy VENTANA (*ultraView* Universal DAB Detection Kit), ani pomocné materiály, včetně negativních a pozitivních tkáňových kontrolních preparátů.

Ve všech zeměpisných oblastech nemusejí být všechny produkty uvedené v příbalové informaci dostupné. Obráťte se na své místní servisní zastoupení.

UCHOVÁVÁNÍ

Po dodání a nepoužívá-li se, uchovávejte při teplotě 2 až 8 °C. Chraňte před mrazem.

Aby byl zajištěn správný účinek reagencie a stabilita protilátky, musí se dávkovač po každém použití uzavřít víčkem a okamžitě uložit ve vsíslé poloze do chladničky.

Každý dávkovač s protilátkou má stanovenou dobu expirace. Při řádném skladování zůstane reagencie stabilní do data uvedeného na štítku. Po uplynutí data expirace reagencii nepoužívejte.

PŘÍPRAVA VZORKŮ

Pro použití této primární protilátky s detekčními soupravami VENTANA v barvicích automatech VENTANA BenchMark XT a BenchMark ULTRA jsou vhodné tkáně zpracované běžným způsobem, fixované ve formalínu a zalité v parafínu. Doporučeným vhodným fixativem je 10% neutrální pufovaný formalín.¹¹ Preparáty je třeba barvit okamžitě, protože antigenost čerstvých tkáňových řezů s časem klesá.

Souběžně s neznámými vzorky se doporučuje vyšetřovat také pozitivní a negativní kontroly.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. K diagnostice *in vitro* (IVD).
2. Pouze pro odborné použití.
3. S materiály lidského nebo zvířecího původu je nutno zacházet jako s biologicky nebezpečnými materiály a likvidovat je v rámci příslušných bezpečnostních opatření.
4. Dbejte na to, aby se reagencie nedostaly do styku s očima a sliznicemi. Jestliže se reagencie dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je vydatným množstvím vody.
5. Zabraňte mikrobiální kontaminaci reagencii, protože by mohla způsobit nepřesnost výsledků.
6. Doporučené metody likvidace jsou uvedeny v celostátních nebo místních předpisech.
7. Další informace o bezpečnosti naleznete v bezpečnostním listu a také v příručce pro výklad R a S vět týkajících se bezpečnosti na adrese www.ventana.com.

POSTUP BARVENÍ

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

Tato protilátka byla optimalizována pro specifické inkubační doby, ale uživatel musí výsledky získané pomocí této reagencie ověřit.

Parametry automatizovaných postupů lze zobrazovat, tisknout a upravovat podle postupu uvedeného v Návodu k obsluze přístrojů. Další podrobné informace o postupech imunohistochemického barvení naleznete v příbalovém letáku k příslušné detekční soupravě VENTANA.

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

Typ postupu	Metoda
Odparafinování	Zvoleno
Úprava buněk (odmaskování antigenu)	Standardní Cell Conditioning 1
Enzym (proteáza)	Není vyžadován
Protilátka (primární)	Přístroj BenchMark XT Přibližně 16 minut, 37 °C Přístroj BenchMark ULTRA Přibližně 24 minut, 36 °C
Volitelný postup (bez promytí, amplifikace atd.)	Žádný
Kontrastní barvivo	Hematoxylin II, 4 minuty
Po kontrastním barvení	Bluing, 4 minuty

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

Typ postupu	Metoda
Odparafinování	Zvoleno
Úprava buněk (odmaskování antigenu)	Standardní Cell Conditioning 1
Enzym (proteáza)	Není vyžadován
Protilátka (primární)	Přístroj BenchMark XT Přibližně 16 minut, 37 °C
Volitelný postup (bez promytí, amplifikace atd.)	Žádný
Kontrastní barvivo	Hematoxylin II, 4 minuty
Po kontrastním barvení	Bluing, 4 minuty

Vzhledem k různým způsobům fixace a zpracování tkání, jakož i stavu vybavení a environmentálním podmínkám laboratoře, může být potřeba prodloužit nebo zkrátit dobu inkubace s primární protilátkou, úpravy buněk nebo předběžného zpracování proteázou u jednotlivých vzorků a v závislosti na použité metodě detekce a vlastní preferenci. Další informace o proměnných fixace naleznete v příručce „Immunohistochemistry Principles and Advances“.¹²

POZITIVNÍ TKÁŇOVÁ KONTROLA

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 ZBARVENÍ / OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY

Buněčný barvicí vzor pro VENTANA anti-E-cadherin (36) je membránový. Obarvení cytoplazmy i jader se považuje za aberantní a musí se interpretovat v souladu pokyny uvedenými v části „Souhrn a vysvětlení“ tohoto dokumentu.

SPECIFICKÁ OMEZENÍ

Tato protilátka byla optimalizovaná pro inkubační dobu 16 minut pro použití na přístroji BenchMark XT a pro inkubační dobu 24 minut na přístroji BenchMark ULTRA v kombinaci s detekční soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit; uživatel však musí výsledky získané použitím této reagencie ověřit.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Testy zbarvení na specifitu, senzitivitu a reprodukovatelnost byly provedeny za použití VENTANA anti-E-cadherin (36) s detekční soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit na přístrojích BenchMark XT a BenchMark ULTRA.

Specifita

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

Tkáň	Počet pozitivních/ všech případů	Tkáň	Počet pozitivních/ všech případů
Mozek	0/3	Brzlík	0/3
Mozeček	0/3	Myeloidní tkáň (kostní dřeň)	0/3
Nadledvinka	0/3	Plíce	0/3
Vaječník	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
Štitná žláza	3/3	Játra	3/3
Prs	3/3	Slinná žláza	3/3
Slezina	3/3	Ledvina	3/3
Mandle	3/3	Prostata	3/3
Endometrium	3/3	Cervix	2/2
Kosterní sval	0/3	Kůže	3/3
Nerv (periferní)	0/3	Mezotel a plíce	0/3

Senzitivita

Tabulka 4. Senzitivita protilátky VENTANA anti-E-cadherin (36) byla stanovena testováním řady neoplastických tkání, fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu.

Patologie	Počet pozitivních/ všech případů
Glioblastom	0/1
Atypický meningeom	1/1
Maligní ependyom	0/1
Maligní oligodendrogliom	0/1
Serózní papilární adenokarcinom	1/1
Mucinosní papilární adenokarcinom	1/1
Karcinom ostrůvkových buněk	0/1
Adenokarcinom pankreatu	1/1
Seminom	1/1
Embryonální karcinom	0/1
Medulární karcinom	1/1

Patologie	Počet pozitivních/ všech případů
Papilární karcinom	1/1
Intraduktální karcinom prsu	25/28
Lobulární karcinom prsu <i>in situ</i>	1/1
Invazivní duktální karcinom prsu	165/192
Invazivní lobulární karcinom prsu	41/57*
Difuzní lymfom z B-buněk	0/1
Malobuněčný nediferencovaný karcinom plic	1/17
Karcinom z dlaždicových buněk plic	49/54
Adenokarcinom plic	38/43
Karcinom z dlaždicových buněk jícnu	1/1
Adenokarcinom jícnu	1/1
Mucinosní adenokarcinom žaludku	0/1
Gastrointestinální adenokarcinom	1/1
GIST	0/1
Hepatocelulární karcinom	1/1
Hepatoblastom	0/1
Karcinom ledviny z jasných buněk	0/1
Adenokarcinom prostaty	1/1
Karcinom prostaty z přechodných buněk	1/1
Leiomyom	0/1
Adenokarcinom endometria	1/1
Karcinom endometria z jasných buněk	1/1
Karcinom dělohy z dlaždicových buněk	2/2
Embryonální rhabdomyosarkom	0/1
Karcinom z bazálních buněk	1/1*
Karcinom z dlaždicových buněk	1/1
Neurofibrom	0/1
Retroperitoneální neuroblastom	0/1
Epitelální maligní mesoteliom	1/1
Difuzní maligní lymfom	0/1
Hodgkinův lymfom	0/1
Difuzní maligní lymfom	0/1
Karcinom močového měchýře z přechodných buněk	1/1
Leiomyosarkom nízkého stupně	0/1
Osteosarkom	0/1
Rhabdomyosarkom z vřetenových buněk	0/1

Patologie	Počet pozitivních/ všech případů
Leiomyosarkom středního stupně	1/1*
Maligní melanom	0/1

* 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 z 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 více tkání (3 tkáně v jednom bloku) na 5 sklech na 3 přístrojích BenchMark ULTRA. 45 z 45 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.

Reprodukovatelnost mezi platformami

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

Výsledky kompatibility

VENTANA anti-E-cadherin (36) prokázala kompatibilitu s přístroji VENTANA BenchMark XT a BenchMark ULTRA a detekčními soupravami Mview DAB Detection Kit a ultraView Universal DAB Detection Kit.

LITERATURA

1. Bex G, Van Roy F. The E-cadherin/catenin complex: an important gatekeeper in breast cancer tumorigenesis and malignant progression. *Breast Cancer Res.* 2001;3(5):289-293.
2. Van Roy F, Bex G. The cell-cell adhesion molecule E-cadherin. *Cell Mol Life Sci.* 2008;65(23):3756-3788.
3. Beavon, IR. The E-cadherin-catenin complex in tumour metastasis: structure, function, and regulation. *European Journal of Cancer.* 2000;36(13):1607-1620.
4. Siitonen SM, et al. Reduced E-cadherin expression is associated with invasiveness and unfavorable prognosis in breast cancer. *Am J Clin Pathol.* 1996;105(4): 394-402.
5. Acs G, 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(1):85-98.
6. Choi YJ, et al. Interobserver variability and aberrant E-cadherin immunostaining of lobular neoplasia and infiltrating lobular carcinoma. *Mod Pathol.* 2008;21(10):1224-1237.
7. 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(3):377-385.
8. Kowalski PJ, et al. E-cadherin expression in primary carcinomas of the breast and its distant metastases. *Breast Cancer Res.* 2003;5(6):R217-R222.
9. Chetty R, Serra S. Nuclear E-cadherin immunoexpression: from biology to potential applications in diagnostic pathology. *Adv Anat Pathol.* 2008;15(4):234-240.
10. Abutaily AS, et al. Cadherins, catenins and APC in pleural malignant mesothelioma. *J Pathol.* 2003;201(3):355-362.
11. Sheehan DC, Hrapchak BB. *Theory and Practice of Histotechnology*, 2nd edition. St. Louis, MO: The C.V. Mosby Company; 1980.
12. 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 ochrannými známkami společnosti Roche.

Všechny ostatní ochranné známky jsou vlastnictvím příslušných vlastníků.

© 2010-2014 Ventana Medical Systems, Inc.

KONTAKTNÍ INFORMACE



Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)



www.ventana.com



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

CE