

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Mamaglobin
Clone 304-1A5
Ready-to-Use
(Link)

Referência IR074

Finalidade	<p>Para utilização em diagnóstico <i>in vitro</i>.</p> <p>O FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Mamaglobin, Clone 304-1A5, Ready-to-Use (Link), é indicado para utilização em imuno-histoquímica em conjunto com instrumentos Autostainer Link. Este anticorpo é útil para a identificação das células que exprimem mamaglobina em tecidos normais e neoplásicos. O anticorpo pode ser útil para a identificação de carcinoma ductal da mama. A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada com estudos morfológicos utilizando controlos adequados e deve ser avaliada dentro do contexto do historial clínico do doente e através de outros testes de diagnóstico por um patologista qualificado.</p>
Sinónimos de antígeno	MGA, MGB1
Resumo e explicação	<p>A mamaglobina é uma proteína com 93 aminoácidos com homologia a membros da família de secretoglobina-uteroglobina originalmente identificada em estudos de cADNs, expressos diferencialmente, de linhas celulares de cancro da mama (1). A expressão da mamaglobina foi igualmente observada numa série de tecidos, malignos e não malignos, derivados do tracto genital feminino por RT-PCR (2). A expressão do gene e proteína da mamaglobina foi demonstrada em tecidos neoplásicos da mama e num subconjunto de células epiteliais normais da mama dentro dos acinares dos lóbulos de tipo I e do tipo II e dentro das células colunares dos canais terminais (3). A expressão da mamaglobina verificou-se nos carcinomas ductais invasivos bem diferenciados, moderadamente diferenciados e deficientemente diferenciados por IHC, e nos carcinomas da mama metastáticos e ocultos por RT-PCR (3, 4). A expressão da mamaglobina restringe-se grandemente ao tecido da mama e não é detectada na maioria dos tipos de tecido normais avaliados, à excepção da pele (1).</p> <p>Consultar as <i>Instruções Gerais para Coloração Imuno-histoquímica</i> da Dako ou as instruções do sistema de detecção quanto aos procedimentos de IHC para obter informação sobre: 1) Princípio do procedimento, 2) Materiais necessários, mas não fornecidos, 3) Conservação, 4) Preparação das amostras, 5) Procedimento de coloração, 6) Controlo de qualidade, 7) Resolução de problemas, 8) Interpretação da coloração, 9) Limitações gerais.</p>
Reagente fornecido	<p>Anticorpo monoclonal de ratinho pronto a utilizar, fornecido na forma líquida num tampão com proteína estabilizadora e 0,015 mol/L de azida de sódio.</p> <p><u>Clone:</u> 304-1A5 (1). <u>Isotipo:</u> IgG1, kappa</p>
Imunogénio	Proteína recombinante de mamaglobina purificada, contendo aminoácidos 15-93 (1).
Especificidade	<p>Em análise <i>Western blotting</i> de lisados da linha celular de cancro da MDA-MB-415, da linha celular do tumor da mama primário 450-17 e da mamaglobina recombinante, o anticorpo marca bandas de 14 kDa e 21 kDa. A forma de 9 kDa da mamaglobina foi observada através após deglicosilação enzimática da MDA-MB-415, indicando a glicosilação da proteína mamaglobina (1).</p> <p>Em ELISA, não foi encontrada qualquer reacção com péptidos sobrepostos correspondendo à sequência de mamaglobina, indicando um epítipo conformacional.</p>
Precauções	<ol style="list-style-type: none">1. Para utilizadores profissionais.2. Este produto contém azida de sódio (NaN₃), um produto químico altamente tóxico na forma pura. Em situações de concentração do produto, embora não sendo classificada como perigosa, a azida de sódio pode reagir com as canalizações de chumbo e de cobre, formando acumulações de azidas metálicas altamente explosivas. Ao eliminar o produto, adicionar água abundante para evitar a acumulação de azidas metálicas na canalização.3. Tal como acontece com qualquer produto de origem biológica, deverão utilizar-se procedimentos de manuseamento adequados.4. Usar equipamento de protecção pessoal adequado para evitar o contacto com a pele e os olhos.5. A solução não utilizada deverá ser eliminada em conformidade com as regulamentações locais e nacionais.

Conservação

Conservar entre 2–8 °C. Não utilizar após o fim do prazo de validade impresso no frasco. Se os reagentes forem conservados em condições diferentes das especificadas, o utilizador deverá verificar essas mesmas condições. Não existem sinais óbvios que indiquem a instabilidade deste produto. Por isso, devem processar-se controlos positivos e negativos simultaneamente com as amostras do doente. Caso se observe uma coloração inesperada que não possa ser explicada pela variação nos procedimentos laboratoriais e se suspeite da existência de um problema com o anticorpo, contactar a Assistência Técnica da Dako.

Preparação das amostras incluindo materiais necessários, mas não fornecidos

O anticorpo pode ser utilizado para marcar secções de tecido fixadas em formol e impregnadas em parafina. As amostras de tecido devem ser cortadas em secções de aproximadamente 4 µm.

É necessário proceder ao pré-tratamento com recuperação do epítipo induzida por calor (HIER). Obtêm-se resultados óptimos ao pré-tratar os tecidos com EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x), (Link) (Referência K8000/K8004).

Secções desparafinizadas: É recomendado o pré-tratamento das secções desparafinizadas de tecido fixado em formol e impregnado em parafina utilizando o Dako PT Link (Referência PT100/PT101). Para informações detalhadas, consultar o Guia do Utilizador PT Link.

Seguir os procedimentos de pré-tratamento delineados no folheto informativo do EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x), (Link) (Referência K8000/K8004). Para o PT Link, devem ser utilizados os seguintes parâmetros: Temperatura de pré-aquecimento: 65 °C; temperatura e tempo da recuperação do epítipo: 97 °C durante 20 (±1) minutos; arrefecer até 65 °C. Retirar cada suporte de lâminas Autostainer com as lâminas do tanque do PT Link e mergulhar, imediatamente, as lâminas num frasco/tanque (por exemplo, PT Link Rinse Station, Referência PT109) com EnVision™ FLEX Wash Buffer (10x), (Link) (Referência K8000), diluído e à temperatura ambiente. Deixar as lâminas em Wash Buffer durante 1-5 minutos.

Secções impregnadas em parafina: Como uma alternativa à preparação das amostras, a desparafinização e a recuperação do epítipo podem ser realizadas no PT Link, utilizando um procedimento modificado. Para obter instruções, consultar o Guia do Utilizador PT Link. Após a conclusão do procedimento de coloração, as secções têm de ser desidratadas, limpas e montadas com um meio de montagem permanente.

As secções de tecido não devem secar durante o tratamento ou durante o processo de coloração imunohistoquímico seguinte. Para uma maior aderência das secções de tecido às lâminas de vidro, recomenda-se a utilização de Dako Silanized Slides (Referência S3003).

Procedimento de coloração incluindo materiais necessários, mas não fornecidos

O sistema de visualização recomendado é o EnVision™ FLEX, High pH, (Link) (Referência K8000). As etapas de coloração e os tempos de incubação são pré-programados no software Autostainer Link. Consultar o Guia do Utilizador do Autostainer Link para obter instruções detalhadas sobre a colocação das lâminas e dos reagentes. Se os protocolos não estiverem disponíveis na plataforma Autostainer utilizada, contactar o Serviço Técnico da Dako. Todas as etapas de incubação devem ser realizadas à temperatura ambiente.

As condições ideais poderão variar dependendo das amostras e dos métodos de preparação, devendo ser determinadas por cada laboratório. Se o patologista que procede à avaliação pretender uma intensidade de coloração diferente, pode ser contactado um Especialista de Aplicações/Especialista do Serviço Técnico da Dako, para se obterem informações acerca da re-programação do protocolo. Certificar-se de que o desempenho do protocolo ajustado ainda é válido, avaliando se o padrão de coloração é idêntico ao padrão de coloração descrito nas “Características de desempenho”.

Recomenda-se a contrastação em hematoxilina com o EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Link) (Referência K8008). É recomendado um meio de montagem não aquoso e permanente.

Os controlos positivos e negativos devem processar-se simultaneamente com o mesmo protocolo das amostras do doente. Os tecidos de controlo positivo devem incluir a hiperplasia da mama e a pele (1) e as células/estruturas devem apresentar padrões de reacção conforme os descritos para estes tecidos nas “Características de desempenho” em todas as amostras positivas. O reagente de controlo negativo recomendado é o FLEX Negative Control, Mouse (Link) (Referência IR750).

Interpretação da coloração

O padrão de coloração celular é citoplásmico e/ou membranoso.

Características de desempenho

Tecidos normais (1):

Tipo de tecido (nº testados)	Elementos de tecidos com coloração positiva
Mama (10)	5/10 células epiteliais ductais
Cólon (5)	0/5
Rim (6)	0/6
Fígado (3)	0/3
Pulmão (4)	0/4
Cérebro (3)	0/3
Coração (2)	0/2
Medula óssea (1)	0/1
Supra-renal (3)	0/3

Colo uterino (2)	0/2
Pele (7)	7/7 células epiteliais revestindo as glândulas sudoríparas apócrinas e écrinas
Duodeno (2)	0/2
Vesícula biliar (1)	0/1
Íleo (2)	0/2
Ovários (4)	0/4
Pâncreas (2)	0/2
Glândula parótida (1)	0/1
Próstata (4)	0/4
Baço (3)	0/3
Testículos (1)	0/1
Músculo-esquelético (1)	0/1
Endométrio (3)	0/3

Tecidos anormais (1,5,6):

Tipo de tumor (nº testados)	Tumores com coloração positiva
Cancro da mama (35)	23/35
Carcinoma ductal infiltrante da mama (IDC) (96)	78/96
Carcinoma do endométrio (4)	0/4
Mesotelioma epitelial (EM) (16)	1/16
Carcinoma gastrointestinal (4)	0/4
Carcinoma génito-urinário (2)	0/2
Carcinoma do pulmão (32)	0/32
Carcinoma dos ovários (9)	0/9
Carcinoma papilar seroso dos ovários (OSPC) (21)	0/21
Adenocarcinoma do pulmão (PAC) (23)	6/23
Carcinoma endometrióide uterino (UEC) (18)	6/18

Referências

1. Fanger GR, Houghton RL, Retter MW, Hendrickson RC, Babcook J, Dillon DC, et al. Detection of mammaglobin in the sera of patients with breast cancer. *Tumour Biol* 2002; 23:212-21.
2. Grünewald K, Haun M, Fiegl M, Urbanek M, Müller-Holzner E, Massoner A, et al. Mammaglobin expression in gynecologic malignancies and malignant effusions detected by nested reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Laboratory Investigation* 2002; 82:1147-53.
3. Watson MA, Dintzis S, Darrow CM, Voss LE, DiPersio J, Jensen R, et al. Mammaglobin expression in primary, metastatic, and occult breast cancer. *Cancer Res* 1999; 59:3028-31.
4. Min CJ, Tafra L, Verbanac KM. Identification of superior markers for polymerase chain reaction detection of breast cancer metastases in sentinel lymph nodes. *Cancer Res* 1998; 58:4581-4.
5. Ciampa A, Fanger G, Khan A, Rock KL, Xu B. Mammaglobin and CRxA-01 in pleural effusion cytology: potential utility of distinguishing metastatic breast carcinomas from other cytokeratin 7-positive/cytokeratin 20-negative carcinomas. *Cancer* 2004; 102:368-72.
6. Stachurski D, Fanger G, Xu B, Edminston K, Rock KL, Khan A. CRxA-01 and mammaglobin expression in breast cancer: potential role in differentiating breast cancer from other CK7+/CK20- tumors. *Mod Path* 2003; 16:48A.

 Número de catálogo	 Limites de temperatura	 Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
 Fabricante	 Código de lote	 Conteúdo suficiente para <n> ensaios
 Utilizar até	 Consultar as instruções de utilização	 Representante autorizado na União Europeia



Dako North America, Inc.
6392 Via Real
Carpinteria, California 93013 USA
Tel 805 566 6655
Fax 805 566 6688
Technical Support 800 424 0021
Customer Service 800 235 5763

EC REP

Dako Denmark A/S
Produktionsvej 42
DK-2600 Glostrup Denmark
Tel +45 4485 9500
Fax +45 4485 9595
www.dako.com

PT0020/ Rev C

Edição 04/08