

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Cytokeratin 20
 Clone K_s20.8
Ready-to-Use
 (Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Code IS777

ENGLISH

Intended use	<p>For in vitro diagnostic use.</p> <p>FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 20, Clone K_s20.8, Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus), is intended for use in immunohistochemistry (IHC) together with Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments. This antibody labels normal and abnormal gastric and intestinal epithelium, urothelium and Merkel cells (1, 2), and this antibody is a useful aid in the classification of carcinomas originating from these cell types (1, 3-5). Differential classification is aided by the results from a panel of antibodies. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist. This antibody is intended to be used after the primary diagnosis of tumor has been made by conventional histopathology using nonimmunologic histochemical stains.</p>
Synonym for antigen	Protein IT (6).
Summary and explanation	<p>Cytokeratin 20 (CK20) belongs to the intermediate filament proteins, which create a cytoskeleton in almost all cells. In contrast to other intermediate filaments, cytokeratins (CKs) are made up of a highly complex multigene family of 40 to 68 kDa polypeptides (1, 7). 20 distinct CK polypeptides have been revealed in various human epithelial cells and their malignant counterparts (1, 2, 7). They can be divided into an acidic (type I) and a neutral-basic (type II) subfamily. CK20, a 46 kDa protein, is less acidic than the other type I cytokeratins. CK20 labeling (5-100% CK-20-labeled tumor cells) has been reported in the vast majority of adenocarcinomas of the colon, mucinous ovarian tumors, transitional-cell and Merkel cell carcinomas, and frequently also in adenocarcinomas of the stomach, bile system, and pancreas. Very few breast and lung adenocarcinomas and squamous cell carcinomas were labeled, while adenocarcinomas of the ovary (non-mucinous) and endometrium, and renal cell and small cell carcinomas showed only scattered labeled cells in some cases (1).</p> <p>Refer to <i>Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> or the detection system instructions of IHC procedures for: Principle of Procedure Materials Required, Not Supplied; Storage; Specimen Preparation; Staining Procedure; Quality Control; Troubleshooting; Interpretation of Staining; General Limitations.</p>
Reagent provided	Ready-to-use monoclonal mouse antibody provided in liquid form in a buffer containing stabilizing protein and 0.015 mol/L sodium azide. <u>Clone:</u> K _s 20.8 (1). <u>Isotype:</u> IgG2a, kappa.
Immunogen	CK20 isolated by SDS-PAGE from cytoskeletal material obtained from human duodenal mucosa (1).
Specificity	In Western immunoblotting of SDS-PAGE-separated cytoskeletal proteins from human duodenal mucosa, the antibody labels a 46 kDa polypeptide corresponding to CK20 (1).
Precautions	<ol style="list-style-type: none"> 1. For in vitro diagnostic use. 2. For professional users. 3. This product contains sodium azide (NaN₃), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing. 4. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used. 5. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin. 6. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.
Storage	Store at 2-8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.
Specimen preparation	<p>The antibody can be used for labeling formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Tissue specimens should be cut into sections of approximately 4 µm.</p> <p>Pre-treatment with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required using Dako PT Link. For details, please refer to the PT Link User Guide. Optimal results are obtained by pretreating tissues using EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code K8004).</p> <p><u>Paraffin-embedded sections:</u> Pre-treatment of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using the 3-in-1 specimen preparation procedure for Dako PT Link. After staining the sections must be dehydrated, cleared and mounted using a permanent mounting method.</p> <p><u>Deparaffinized sections:</u> Pre-treatment of deparaffinized formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using Dako PT Link and following the same procedure as described for paraffin-embedded sections. After staining the slides should be mounted using an aqueous or a permanent mounting method.</p> <p>The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of FLEX IHC Microscope Slides (Code K8020) is recommended.</p>
Staining procedure	<p>The recommended visualization system is EnVision FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8010). The staining steps and incubation times are pre-programmed into the software of Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments, using the following protocols:</p> <p>Template protocol: FLEXRTU2 (200 µL dispense volume) or FLEXRTU3 (300 µL dispense volume)</p> <p>Autoprogram: CK20 (without counterstaining) or CK20H (with counterstaining)</p> <p>The Auxiliary step should be set to "rinse buffer" in staining runs with ≤10 slides. For staining runs with >10 slides the Auxiliary step should be set to "none". This ascertains comparable wash times.</p> <p>All incubation steps should be performed at room temperature. For details, please refer to the Operator's Manual for the dedicated instrument. If the protocols are not available on the used Dako Autostainer instrument, please contact Dako Technical Support.</p> <p>Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation methods, and should be determined by each individual laboratory. Counterstaining in hematoxylin is recommended using EnVision FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8018).</p>

Positive and negative control tissues as well as negative control reagent should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens. The positive control tissue should include colon and the cells/structures should display reaction patterns as described for this tissue in "Performance characteristics". The recommended negative control reagent is FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code IS750).

Product-specific limitations

CK20 may occasionally be expressed in breast and lung adenocarcinomas, and in squamous cell carcinomas (1, 3). Less than 5% CK-20 labeled cells may be present in a number of tissues (1).

Staining interpretation

Cells labeled by the antibody display cytoplasmic staining.

Performance characteristics

Normal tissues: The antibody labels normal urothelium (1, 4) and the mature epithelium lining the villi of duodenal mucosa (1). CK20 immunoreactivity has not been detected in a number of non-epithelial tissues tested, such as smooth muscle, blood vessel walls, lymph nodes and tumor stroma (1). In columnar epithelial cells in colon, the luminal cells show a moderate to strong staining reaction, whereas the basal to intermediate cells show a weak to moderate staining reaction.

Abnormal tissues: In colonic adenocarcinoma, the antibody labeled 26 of 27 tumors (96%). 21 (78%) displayed staining in more than 50% of the cells (3). Of 51 patients with urothelial papillomas of the bladder, 10 showed labeling of superficial urothelial cells (normal labeling) with the antibody. By contrast, 30 patients (73%) showed CK20 expression in all cell layers (abnormal labeling) (4). 3 out of 4 metastatic gastric tumors were labeled by the antibody (5).

Focal immunostaining with the antibody (less than 10% labeled cells) was observed in 9 of 65 lung, 1 of 20 breast, and 2 of 11 endometrial tumors. 1 of 19 clear-cell type renal cell carcinomas was labeled in 10-50% of the cells (3). None of 10 primary ovarian carcinomas and none of 5 mesotheliomas were found labeled by the antibody (5).

FRANÇAIS

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique in vitro.

L'anticorps FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 20, Clone K₂₀.8, Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus) est destiné à être utilisé en immunohistochimie (IHC) avec les instruments Dako Autostainer/Autostainer Plus. Cet anticorps marque l'épithélium gastrique et intestinal sain et anormal, l'urothélium et les cellules de Merkel (1, 2) et facilite la classification des carcinomes issus de ces types de cellules (1, 3-5). La classification différentielle est facilitée par les résultats provenant d'un panel d'anticorps. L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié. Cet anticorps est destiné à être utilisé après un diagnostic primaire de tumeur par histopathologie traditionnelle utilisant des colorations histochimiques non immunologiques.

Synonyme de l'antigène

Protéine IT (6).

Résumé et explication

La cytokératine 20 (CK20) fait partie des filaments intermédiaires, qui créent un cytosquelette dans presque toutes les cellules. À la différence des autres filaments intermédiaires, les cytokératines (CK) sont constituées d'une famille multigénique hautement complexe de polypeptides dont les poids moléculaires varient entre 40 et 68 kDa (1, 7). On a recensé 20 CK différentes dans diverses cellules épithéliales humaines et leurs contreparties malignes (1, 2, 7). Les CK peuvent être divisées en sous-familles : type I acide et type II neutre-basique. La CK20, une protéine de 46 kDa, est moins acide que les autres cytokératines de type I. La CK 20 a été marquée (5 à 100% de cellules tumorales marquées à la CK 20) dans la majeure partie des adénocarcinomes du côlon, des tumeurs ovariennes mucineuses, des carcinomes à cellules transitionnelles et à cellules de Merkel et également souvent dans les adénocarcinomes de l'estomac, du système biliaire et du pancréas. Très peu d'adénocarcinomes du sein et du poumon et de carcinomes à cellules squameuses ont été marqués, alors que les adénocarcinomes de l'ovaire (non mucineux) et de l'endomètre, ainsi que les carcinomes à cellules rénales et à petites cellules ont montré uniquement des cellules marquées isolées dans certains cas (1).

Consulter le document *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Instructions générales de coloration immunohistochimique) de Dako ou les instructions du système de détection pour les procédures IHC : Principe de la procédure, Matériel requis mais non fourni, Conservation, Préparation des échantillons, Procédure de coloration, Contrôle de qualité, Dépannage, Interprétation de la coloration, Limites générales.

Réactif fourni

Anticorps monoclonal de souris prêt à l'emploi fourni sous forme liquide dans un tampon contenant une protéine stabilisante et 0,015 mol/L d'azide de sodium.

Clone : K₂₀.8 (1). Isotype : IgG2a, kappa.

Immunogène

CK20 isolée par immunoblot PAGE en présence de SDS à partir de matériau cytosquelettique provenant de muqueuse duodénale humaine (1).

Spécificité

Dans les analyses de protéines cytosquelettiques de la muqueuse duodénale humaine réalisées par Western immunoblot PAGE en présence de SDS, l'anticorps marque un polypeptide de 46 kDa correspondant à la CK20 (1).

Précautions d'emploi

1. Pour utilisation diagnostique in vitro.
2. Pour utilisateurs professionnels.
3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), un produit chimique hautement toxique à l'état pur. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosives. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.
4. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.
5. Porter un équipement de protection individuelle approprié pour éviter tout contact avec les yeux et la peau.
6. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales, nationales et européennes.

Conservation

Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par des différences dans les procédures du laboratoire et qu'un problème lié à l'anticorps est suspecté, contacter l'assistance technique de Dako.

Préparation des échantillons

L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol. L'épaisseur des coupes d'échantillons tissulaires doit être d'environ 4 µm.

Le prétraitement avec une restauration d'épitope induite par la chaleur (HIER) est nécessaire à l'aide du Dako PT Link. Pour plus de détails, se référer au Guide d'utilisation du PT Link. Des résultats optimaux sont obtenus en prétraitant les tissus à l'aide de la solution EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (réf. K8004).

Coupes incluses en paraffine : Le prétraitement des coupes de tissus fixées au formol et incluses en paraffine est recommandé à l'aide de la procédure 3 en 1 de préparation des échantillons pour Dako PT Link. Une fois la procédure de coloration terminée, les coupes doivent être déshydratées, éclaircies et montées selon une méthode de montage permanent.

Coupes déparaffinées : Le prétraitement des coupes tissulaires fixées au formol et incluses en paraffine puis déparaffinées est recommandé à l'aide du Dako PT Link en suivant la même procédure que pour les coupes incluses en paraffine, déjà décrite. Après coloration, un montage aqueux ou permanent des lames est recommandé.

Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissu sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser les lames FLEX IHC Microscope Slides (réf. K8020).

Procédure de coloration	<p>Le système de visualisation recommandé est le EnVision FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. K8010). Les étapes de coloration et les temps d'incubation sont préprogrammés dans le logiciel des instruments Dako Autostainer/Autostainer Plus, à l'aide des protocoles suivants :</p> <p>Protocole modèle : FLEXRTU2 (volume d'application de 200 µL) ou FLEXRTU3 (volume d'application de 300 µL)</p> <p>Programme automatique : CK20 (sans contre-coloration) ou CK20H (avec contre-coloration)</p> <p>L'étape Auxiliary doit être réglée sur "rinse buffer" lors des cycles de coloration comptant 10 lames ou moins de 10 lames. Pour les cycles de coloration de plus de 10 lames, l'étape dite "Auxiliary" doit être réglée sur "none". Cela garantit des temps de lavage comparables.</p> <p>Toutes les étapes d'incubation doivent être effectuées à température ambiante. Pour plus de détails, se référer au Manuel de l'opérateur spécifique à l'instrument. Si les protocoles ne sont pas disponibles sur l'instrument Dako Autostainer utilisé, contacter l'assistance technique Dako.</p> <p>Les conditions optimales peuvent varier en fonction de l'échantillon et des méthodes de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire individuellement. Il est recommandé d'effectuer une contre-coloration à l'aide d'hématoxyline EnVision FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. K8018).</p> <p>Les tissus de contrôle positifs et négatifs, ainsi que le réactif de contrôle négatif doivent être testés en parallèle selon le même protocole que pour les échantillons de patients. Le tissu de contrôle positif doit comprendre le côlon et les cellules/structures doivent présenter des schémas de réaction tels que ceux décrits pour ce tissu à la section "Performances". Le réactif de contrôle négatif recommandé est le FLEX Negative Control, Mouse (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. IS750).</p>
Limitations spécifiques du produit	La CK20 peut occasionnellement être exprimée dans les adénocarcinomes du sein et du poumon et dans les carcinomes à cellules squameuses (1, 3). Moins de 5% de cellules marquées à la CK 20 peuvent être présentes dans différents tissus (1).
Interprétation de la coloration	Les cellules marquées par l'anticorps présentent une coloration cytoplasmique.
Performances	<p>Tissus sains : L'anticorps marque l'urothélium sain (1, 4) et l'épithélium mature qui tapisse les villosités de la muqueuse duodénale (1). Aucune immunoréactivité à la CK20 n'a été détectée dans plusieurs tissus non épithéliaux testés (muscle lisse, paroi de vaisseau sanguin, ganglion lymphatique et stroma tumoral) (1). Dans les cellules épithéliales colonnaires du côlon, les cellules lumaiales présentent une coloration modérée à forte, alors que la coloration des cellules basales à intermédiaires est faible à modérée.</p> <p>Tissus anormaux : Dans l'adénocarcinome du côlon, l'anticorps a marqué 26 tumeurs sur 27 (96%). 21 (78%) de ces tumeurs présentaient une coloration de plus de 50% des cellules (3). Sur 51 patients atteints d'un papillome urothélial de la vessie, 10 ont présenté un marquage des cellules urothéliales superficielles (coloration normale) avec l'anticorps. En revanche, 30 patients (73%) présentaient une expression de la CK 20 dans toutes les couches cellulaires (coloration anormale) (4). Trois tumeurs gastriques métastatiques sur 4 ont été marquées par l'anticorps (5).</p> <p>Une coloration immunologique focale avec l'anticorps (moins de 10% de cellules marquées) a été observée sur 9 tumeurs du poumon sur 65, 1 tumeur du sein sur 20 et 2 tumeurs de l'endomètre sur 11. Un carcinome rénal à cellules claires sur 19 a été marqué pour 10 à 50% des cellules (3). Aucun carcinome ovarien primitif sur 10 et aucun mésothéliome sur 5 n'a été marqué par l'anticorps (5).</p>

DEUTSCH

Verwendungszweck	<p>Zur In-vitro-Diagnostik.</p> <p>FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 20, Clone K_s20.8, Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus) ist zur Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) in Verbindung mit Dako Autostainer-/Autostainer Plus-Geräten bestimmt. Dieser Antikörper markiert normale und anormale gastrointestinale Epithel-, Urothel- und Merkel-Zellen (1, 2). Dieser Antikörper unterstützt die Klassifizierung von Karzinomen, die von diesen Zelltypen (1, 3-5) verursacht werden. Die Differenzialklassifikation wird durch die Ergebnisse eines Antikörper-Panels unterstützt. Die klinische Auswertung einer eintretenden oder ausbleibenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit geeigneten Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer diagnostischer Tests des Patienten vorgenommen werden. Dieser Antikörper kommt nach der Primärdiagnose des Tumors durch konventionelle Histopathologie unter Verwendung von nicht immunologischen histochemischen Färbungen zum Einsatz.</p>
Synonym für das Antigen	Protein IT (6).
Zusammenfassung und Erklärung	<p>Cytokeratin 20 (CK 20) gehört zu den intermediären Filamentproteinen, die in nahezu allen Zellen ein Zytoskelett bilden. Im Gegensatz zu anderen Intermediärfilamenten sind Zytokeratine (ZK) eine hochkomplexe, von einer Multigenfamilie codierte Familie von Polypeptiden mit einer Molekülmasse von 40 bis 68 kDa (1, 7). Bisher wurden 20 unterschiedliche ZK-Polypeptide in verschiedenen menschlichen Epithelzellen und deren malignen Entsprechungen (1, 2, 7) nachgewiesen. Die ZK lassen sich in einen sauren Typ A (Klasse I) und einen neutral-basischen Typ B (Klasse II) unterteilen. CK 20, ein 46-kDa-Protein, ist weniger sauer als die Zytokeratine vom Typ I. In der überwiegenden Zahl von Adenokarzinomen des Dickdarms, muzinösen Eierstock-Tumoren, Karzinomen der Übergangsepithel- und Merkel-Zellen sowie häufig auch in Adenokarzinomen des Magens, des Gallensystems und des Pankreas wurden CK-20-Markierungen ermittelt (5-100% CK-20-markierte Tumorzellen). Sehr wenige Adenokarzinome der Brust und der Lunge sowie Plattenepithelkarzinome wurden markiert, wogegen Adenokarzinome der Eierstöcke (nicht muzinös) und der Uterusschleimhaut sowie Nierenzell- und kleinzellige Karzinome nur in wenigen Fällen einzeln markiert wurden (1).</p> <p>Folgende Angaben bitte den <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> (Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung) von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: Verfahrensprinzipien, Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, Lagerung, Gewebepreparation, Färbeverfahren, Qualitätskontrolle, Fehlerbehandlung, Auswertung der Färbung, Allgemeine Beschränkungen.</p>
Geliefertes Reagenz	<p>Gebrauchsfertiger, monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form in einem Puffer, der stabilisierendes Protein und 0.015 mol/L Natriumazid enthält.</p> <p>Klon: K_s20.8 (1). Isotyp: IgG2a, Kappa.</p>
Immunogen	Mit SDS-PAGE aus Zytoskelettmaterial, das aus menschlicher Duodenalmukosa (1) gewonnen wurde, isoliertes CK 20.
Spezifität	Beim Western-Immunblotting von durch SDS-PAGE abgeschiedenen Zytoskelettproteinen aus der menschlichen Duodenalmukosa markiert der Antikörper ein 46-kDa-Polypeptid entsprechend CK 20 (1).
Vorsichtsmaßnahmen	<ol style="list-style-type: none"> 1. Zur In-vitro-Diagnostik. 2. Für Fachpersonal. 3. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natriumazid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metallazid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metall-Azid-Anreicherung zu vermeiden. 4. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden. 5. Geeignete persönliche Schutzausrüstung (PSA) tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden. 6. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, staatlichen und EU-rechtlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung

Bei 2-8 °C lagern. Nach Ablauf des auf dem Behälter aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer überprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produkts. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientengewebeproben mitgeführt werden. Wenn eine unerwartete Anfärbung beobachtet wird, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann, und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist Kontakt mit dem technischen Kundendienst von Dako aufzunehmen.

Gewebevorbereitung

Der Antikörper eignet sich zur Markierung von formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitten. Gewebeproben sollten in Schnitte von ca. 4 µm Stärke geschnitten werden.

Es ist eine Vorbehandlung durch hitzeinduzierte Epitodemaskierung (HIER-Verfahren) mit dem Dako PT Link erforderlich. Weitere Informationen hierzu siehe PT Link-Benutzerhandbuch. Optimale Ergebnisse können durch Vorbehandlung der Gewebe mit EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8004) erzielt werden.

Paraffineingebettete Schnitte: Die Vorbehandlung der formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitte mit dem 3-in-1-Gewebevorbereitungsverfahren für Dako PT Link wird empfohlen. Nach dem Färben müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und unter Verwendung eines permanenten Eindeckmediums auf Objektträger eingedeckt werden.

Entparaffinierte Schnitte: Eine Vorbehandlung der entparaffinierten, formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitte mit Dako PT Link und nach demselben Verfahren, wie für die paraffineingebetteten Schnitte beschrieben, wird empfohlen. Nach Durchführung des Färbeverfahrens müssen die Objektträger unter Verwendung eines geeigneten permanenten Eindeckmediums eingedeckt werden.

Während der Gewebevorbereitung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen. Für eine bessere Haftung der Gewebeschnitte an den Glas-Objektträgern werden FLEX IHC Microscope Slides (Code-Nr. K8020) empfohlen.

Färbeverfahren

Das empfohlene Detektionssystem ist EnVision FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8010). Die Färbeschritte und Inkubationszeiten sind in der Software der Dako Autostainer/Autostainer Plus-Geräte mit den folgenden Protokollen vorprogrammiert:

Matrix-Protokoll: FLEXRTU2 (200 µL Abgabevolumen) oder FLEXRTU3 (300 µL Abgabevolumen)

Autoprogramm: CK 20 (ohne Gegenfärbung) oder CK 20H (mit Gegenfärbung)

Bei Färbedurchläufen mit höchstens 10 Objektträgern sollte der „Zusatz“-Schritt auf „Pufferspülung“ eingestellt werden. Für Färbedurchläufe mit > 10 Objektträgern sollte der Zusatz-Schritt auf „Keine“ eingestellt werden. Dies gewährleistet vergleichbare Waschzeiten.

Alle Inkubationsschritte sollten bei Raumtemperatur durchgeführt werden. Nähere Einzelheiten bitte dem Benutzerhandbuch für das jeweilige Gerät entnehmen. Wenn die Protokolle auf dem verwendeten Dako Autostainer-Gerät nicht verfügbar sind, bitte den technischen Kundendienst von Dako verständigen.

Optimale Bedingungen können je nach Gewebe und Präparationsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Die Gegenfärbung in Hämatoxylin sollte mit EnVision FLEX Hämatoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8018) ausgeführt werden.

Positiv- und Negativkontrollgewebe sowie Negativ-Kontrollreagenz sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientengewebe getestet werden. Das Positivkontrollgewebe sollte Dickdarmgewebe enthalten, und die Zellen/Strukturen sollten die für dieses Gewebe im Abschnitt „Leistungseigenschaften“ beschriebenen Reaktionsmuster aufweisen. Das empfohlene Negativkontrollreagenz ist FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. IS750).

Produktspezifische Beschränkungen

CK 20 kann gelegentlich in Adenokarzinomen von Brust und Lunge und in Plattenepithelkarzinomen (1, 3) exprimiert werden. Weniger als 5% CK-20-markierte Zellen können in verschiedenen Geweben auftreten (1).

Auswertung der Färbung

Mit diesem Antikörper markierte Zellen weisen ein zytoplasmatisches Färbemuster auf.

Leistungseigenschaften

Normalgewebe: Der Antikörper markiert gesundes Urothel (1, 4) und das ausgereifte Epithel entlang der Zotten der Duodenalmukosa (1). In einer Reihe von epithelfreien Geweben, wie z. B. glatter Muskulatur, Blutgefäßwänden, Lymphknoten und Tumorstroma (1), wurde keine CK20-Immunreaktivität nachgewiesen. In säulenförmigen Epithelzellen im Dickdarm zeigen die Luminalzellen eine mäßige bis starke Färbereaktion, die Basal- und die Intermediärzellen dagegen nur eine schwache bis mäßige Färbereaktion.









Anormale Gewebe: In Dickdarm-Adenokarzinomen markierte der Antikörper 26 von 27 Tumoren (96%), 21 (78%) zeigten eine Färbung in mehr als 50% der Zellen (3). Von 51 Patienten mit Urothelpapillom der Blase zeigten 10 eine Markierung von Urothelzellen an der Oberfläche (normale Markierung) durch den Antikörper. Dagegen zeigten 30 Patienten (73%) CK20-Expression in allen Zellschichten (anormale Markierung) (4). 3 von 4 metastatischen gastrischen Tumoren wurden durch den Antikörper (5) markiert.

Eine konzentrierte Immunfärbung mit dem Antikörper (weniger als 10% markierte Zellen) wurde bei 9 von 65 Lungentumoren, 1 von 20 Brusttumoren und 2 von 11 Tumoren des Endometriums beobachtet. 1 von 19 Nieren-Klärzellkarzinomen wurde in 10-50% der Zellen (3) markiert. Keines der 10 primären Eierstockkarzinome und keines der 5 Mesotheliome wurde durch den Antikörper (5) markiert.

References/ Références/ Literatur

- Moll R, Löwe A, Laufer J, Franke WW. Cytokeratin 20 in human carcinomas. A new histodiagnostic marker detected by monoclonal antibodies. Am J Pathol 1992; 140:427-47.
- Moll R. Cytokeratins as markers of differentiation in the diagnosis of epithelial tumors. In: Herrmann, Harris, editors. Subcellular biochemistry. Volume 31, New York: Plenum Press; 1998. p. 205-62.
- Savera AT, Torres FX, Linden MD, Bacchi CE, Gown AM, Zarbo RJ. Primary versus metastatic pulmonary adenocarcinoma. An immunohistochemical study using villin and cytokeratins 7 and 20. Appl Immunohistochem 1996; 4:86-94.
- Harnden P, Mahmood N, Southgate J. Expression of cytokeratin 20 redefines urothelial papillomas of the bladder. Lancet 1999; 353:974-77.
- Wauters CCAP, Smedts F, Gerrits LGM, Bosman FT, Ramaekers FCS. Keratins 7 and 20 as diagnostic markers of carcinomas metastatic to the ovary. Hum Pathol 1995; 26:852-55.
- Moll R, Schiller DL, Franke WW. Identification of protein IT of the intestinal cytoskeleton as a novel type I cytokeratin with unusual properties and expression patterns. J Cell Biol 1990; 111:567-80.
- Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. Cell 1982; 31:11-24.

Explanation of symbols/ Explication des symboles/ Erläuterung der Symbole

 REF	Catalogue number Référence catalogue Bestellnummer	 2°C - 8°C	Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Use by Utiliser avant Verwendbar bis
 IVD	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum		Contains sufficient for <n> tests Contenu suffisant pour <n> tests Inhalt ausreichend für <n> Tests		Manufacturer Fabricant Hersteller
	Consult instructions for use Voir les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 LOT	Batch code Numéro de lot Chargenbezeichnung		