

Célula Mesotelial – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (HBME-1)

Mouse anti-human Mesothelial Cell Monoclonal Antibody (Clone HBME-1)

Código	EP-12-51593	1ml	Concentrado
• Diluição recomendada	:	1:20	
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco	
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)	
• Clone	:	HBME-1	
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgM/K	
• Imunógeno	:	-	
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)	
• Controle positivo	:	Mesotelioma, carcinoma da tireoide	
• Marcação	:	Citoplasma, Membrana celular	

Aplicações conhecidas

Em Imuno-histoquímica (IHQ) para uso em tecidos embebidos em parafina. Não testado em tecidos congelados e técnicas de western-blotting.

Especificações:

O anticorpo contra o HBME-1 cora a membrana citoplasmica das células mesoteliais pleurais e peritoneais normais e o mesotelioma. Embora tanto a membrana quanto o citoplasma das células do mesotelioma coram positivamente com HBME-1, um padrão de membrana espessa se mostra mais útil para o diagnóstico de mesotelioma maligno e correlaciona-se com a presença de "microvilos" abundantes na membrana superficial dessas células. Existem outros tecidos (malignos e normais) que também são positivos com HBME-1, embora a imunocoloração possa ser muito mais fraca. Embora a positividade do HBME-1 tenha sido comprovada em 19 dos 50 adenocarcinomas de origem diferente, o padrão de coloração observado foi citoplasmático, embora ocasionalmente uma fraca coloração da membrana também tenha aparecido. Este anticorpo mostra útil para distinguir lesões malignas da tireoide (papilar e folicular) de lesões benignas (bócio, adenomas, etc.). Nenhuma reação cruzada foi observada com tecidos como rim, fígado, pulmão, ovário e pâncreas.

Armazenagem e estabilidade:

Armazenar entre 2°C e 8°C, porém o uso é feito em temperatura ambiente.

Conteúdo:

1. Ver frasco.

Notas técnicas importantes:

1. Evitar contato dos reagentes com os olhos e membranas mucosas. Caso os reagentes entrem em contato com áreas sensíveis lavar abundantemente com água.
2. Esse produto é prejudicial se ingerido.
3. Consulte as autoridades locais ou estaduais com relação ao método recomendado de descarte
4. Evitar a contaminação microbiana dos reagentes
5. Recomendado para uso em pesquisa (RUO)

Notas do protocolo:

A diluição ideal do anticorpo e protocolos para uma aplicação específica podem variar. Devido à sensibilidade superior destes reagentes exclusivos, os tempos de incubação recomendados não são aplicáveis a outros sistemas de detecção, pois os resultados podem variar. Os protocolos ideais para uma aplicação específica podem variar. Esses incluem, mas não estão limitados à fixação, método de recuperação de calor, tempos de incubação, diluição de anticorpos, espessura da seção de tecido. As recomendações e protocolos da literatura são baseados em uso exclusivo de produtos EasyPath. Em última análise, é responsabilidade do pesquisador para determinar as condições ideais. Este produto é apenas para uso profissional. A imuno-histoquímica é um processo de diagnóstico de múltiplas etapas que consiste em treinamento especializado na seleção dos reagentes apropriados, seleção de tecidos, fixação e em processamento, preparação da lâmina IHQ e interpretação do resultado de coloração. A utilização em tecido congelado não foi validado.

Protocolo:

- 1 - Desparafinação - Estufa 60-65°C por 3 horas, depois bateria de Xilol e diluições decrescentes de álcool e lavar em água destilada
- 2 - Recuperação antigênica - Colocar 600ml de água destilada na câmara pressurizada (Muscae Plus/ EasyPath) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA 10X pH8,5 (Recomendado EP-12-20553/6 EasyPath), tampar a câmara e deixar 15 minutos em 110 C, conforme pré-programado, esfriar em temperatura ambiente por 20 minutos no próprio tampão.
- 3 - Bloqueador de Peroxidase EasyPath por 5 minutos, lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 4 - Anticorpo primário (Biocare ou EasyPath) por 30-60 minutos (Conforme padronização do laboratório), lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 5 - Amplificador do anticorpo EasyPath por 15 minutos, lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 6 - Polímero PolyFusion-HRP EasyPath por 30 minutos, lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio. Nota: O polímero é sensível à luz. Evitar a exposição desnecessária.
- 7 - Preparar o DAB EasyPath com 15 minutos de antecedência (Proporção: 1ml de DAB Substrato para 1 gota de DAB Cromógeno).
- 8 - DAB EasyPath por 5 minutos, lavar com TBS, depois com lavar com água deionizada e secar a lâmina com papel macio.
- 9 - Potencializador do DAB EasyPath (etapa não obrigatória) por 2 minutos, lavar com TBS, depois com lavar com água deionizada e secar a lâmina com papel macio.
- 10 - Hematoxilina EasyPath por 1 minuto e lavar em água corrente por 1 minuto.
- 11 - Bateria de álcool e xilol.
- 12 - Montar a(s) lâmina(s).

INSTRUÇÕES GERAIS

Para a obtenção de um melhor resultado da metodologia e uma completa compreensão da terminologia utilizada, nós recomendamos as seguintes indicações:

Número de testes realizados *

O número mínimo de testes é calculado com 100µl gotas de reagente, aconselhamos seguir esta quantidade de reagentes. Em casos de seções pequenas, no entanto, pode-se utilizar menos.

Tempo de execução

O tempo de execução foi calculado somando-se a duração de todas as etapas do método. Ele não inclui o tempo de desparafinar, hidratar e desidratar o corte.

Coloração final

A metodologia foi padronizada a uma temperatura média de 20°C e em condições normais de trabalho, utilizando-se os produtos indicados nesta literatura. Pode ocorrer uma pequena variação na coloração final, devido principalmente a variação da temperatura, ocorrendo esta variação, deve-se alterar o tempo utilizado em cada reagente, com o objetivo de intensificar ou diminuir a coloração.

Validade

Indica o tempo em que produto permanece inalterado a partir de sua fabricação, se armazenado adequadamente. Cada produto possui uma etiqueta com identificação do lote e data de vencimento.

Equipamento básico

Bandeja de incubação horizontal, comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05022.

Câmara pressurizada MuscaePlus (EasyPath) para recuperação antigênica com controle de pressão, temperatura e tempo.

Dois séries de solventes, conforme metodologia de cada kit:

- DESCENDENTE: para desparafinar e levar os cortes das seções para água destilada, composta de: xilol (x2), etanol absoluto (x2), etanol a 96%, etanol a 70% e água destilada.
- ASCENDENTE: para desidratar e limpar, composta de: etanol a 70%, etanol a 96%, etanol absoluto (x2) e xilol (x2).

Aconselhamos o uso do meio de montagem ERV-MOUNT, comercializado pela Grupo Erviegas código EP-51-05042 frasco com 500ml e EP-51-05041 frasco com 100ml.

Equipamento complementar

Podem-se ser utilizadas micropipetas para reduzir a quantidade de reagentes utilizados durante o processo, bem como outros sistemas de recuperação antigênica como micro-ondas, panela de pressão, banho maria ou sistema automatizados para imuno-histoquímica como IntelliPATH (Biocare).

Fixação e meios de inclusão

Os tempos dos métodos foram determinados a partir de cortes histológicos de fragmentos fixados em formol tamponado com pH 7 com tampão fosfato e inclusos em parafina, pelo tempo mínimo de fixação (Recomendado – Histofix, fixador EasyPath). A utilização de outros fixados nas práticas histológicas comuns (piocromoformol de Bouin, B5), temperatura do processamento, inclusão e desparafinização podem interferir na metodologia e tempos de incubações.

Garantia Grupo Erviegas

O Grupo Erviegas garante o funcionamento do produto conforme especificado nesta literatura. Para mais informações sobre o produto ou detalhes sobre outras técnicas e produtos acesse nosso site www.grupoerviegas.com.br.

Referências Bibliográficas

1. Battifora H, McCaughey WTE. Tumors of the serous membranes. In: Rosai J (ed.). Atlas of tumor pathology. 3rd series. Fascicle 15. Washington: Armed Forces Inst Pathol 1995.
2. Miettinen M and Kovatich AJ. HBME-1 a monoclonal antibody useful in the differential diagnosis of mesothelioma, adenocarcinoma, and softtissue and bone tumors. Appl Immunohistochem 1995; 3(2):115
3. Renshaw AA, Pinkus GS, Corson JM. HBME-1 aids in distinguishing mesotheliomas and adenocarcinomas of the lung and breast. Mod Pathol; 8(1):152A 1995
4. Savera AT, Raju U, Linden VITRO S.A. Mesothelioma vs. adenocarcinoma: Diagnostic utility of HBME-1. Mod Pathol; 9(1):162A. 1996.
5. Brown RW, Gondo M, Stephenson M, Cagle PT. Patterns of HBME-1 immunoreactivity differentiate epithelial mesothelioma from adenocarcinoma of the lung. Mod Pathol; 76(1): 161A. 1997.
6. Coli A, Bigotti G, Parente P, Federico F, Castri F, Massi G. Atypical thyroid nodules express both HBME-1 and Galectin-3, two phenotypic markers of papillary thyroid carcinoma. J Exp Clin Cancer Res; 26(2): 221-227. 2007.
7. Cabibi D, Cacciatore M, Guarnotta C, Aragona F. Immunohistochemistry differentiates papillary thyroid carcinoma arising in ectopic thyroid tissue from secondary lymph node metastases. Thyroid; 17(7): 603-607. 2007.
8. Torregrossa L, Faviana P, Camacci T, Materazzi G, Berti P, Minuto M, Elisei R, Vitti P, Miccoli P, Basolo F. Galectin-3 is highly expressed in nonencapsulated papillary thyroid carcinoma but weakly expressed in encapsulated type; comparison with Hector Battifora mesothelial cell 1 immuno-reactivity. Hum Pathol; 38(10): 1482-1488. 2007.

