

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody Mismatch Repair Protein 2 (MSH2)



Product Code: NCL-L-MSH2-612

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park
Benton Lane
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW
United Kingdom
☎ +44 191 215 4242



[EN](#) [FR](#) [IT](#) [DE](#) [ES](#) [PT](#) [SV](#) [EL](#) [DA](#) [NL](#)
[NO](#) [TR](#) [BG](#) [HU](#) [RO](#) [RU](#) [PL](#) [SL](#) [CS](#) [SK](#)

Instructions for Use

Please read before using this product.

Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

Istruzioni per L'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

Instrucciones de Uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

Instruktioner vid Användning

Var god läs innan ni använder produkten.

Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

Brugsanvisning

Læs venligst før produktet tages i brug.

Gebruiksaanwijzing

Lezen vóór gebruik van dit product.

Bruksanvisning

Vennligst les denne før du bruker produktet.

Kullanım Talimatları

Lütfen bu ürünü kullanmadan önce okuyunuz.

Инструкции за употреба

Моля, прочетете преди употреба на този продукт.

Használati utasítás

A termék használatba vétele előtt olvassa el.

Instrucțiuni de utilizare

Citiți aceste instrucțiuni înainte de a utiliza produsul.

Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

Instrukcja obsługi

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

Návod k použití

Čtěte před použitím tohoto výrobku.

Návod na použitie

Prosím, prečítajte si pred použitím tohto produktu.

Check the integrity of the packaging before use.

Vérifier que le conditionnement est en bon état avant l'emploi.

Prima dell'uso, controllare l'integrità della confezione.

Vor dem Gebrauch die Verpackung auf Unversehrtheit überprüfen.

Comprobar la integridad del envase, antes de usarlo.

Verifique a integridade da embalagem antes de utilizar o produto.

Kontrollera att paketet är obrutet innan användning.

Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευασίας πριν από τη χρήση.

Kontroller, at pakken er ubeskadiget før brug.

Controleer de verpakking vóór gebruik.

Sjekk at pakningen er intakt før bruk.

Kullanmadan önce ambalajın bozulmamış olmasını kontrol edin.

Проверете целостта на опаковката преди употреба.

Használat előtt ellenőrizze a csomagolás épségét.

Verificați integritatea ambalajului înainte de a utiliza produsul.

Перед применением убедитесь в целостности упаковки.

Przed użyciem należy sprawdzić, czy opakowanie jest szczelne.

Pred uporabo preverite celovitost embalaže.

Před použitím zkontrolujte neporušenost obalu.

Skontrolujte neporušenie obalu pred použitím.

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody Mismatch Repair Protein 2 (MSH2) Product Code: NCL-L-MSH2-612

Intended Use

For in vitro diagnostic use.

NCL-L-MSH2-612 is intended for the qualitative identification by light microscopy of Mismatch Repair Protein 2 (MSH2) in paraffin sections. 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.

Principle of Procedure

Immunohistochemical (IHC) staining techniques allow for the visualization of antigens via the sequential application of a specific antibody to the antigen (primary antibody), a secondary antibody to the primary antibody and an enzyme complex with a chromogenic substrate with interposed washing steps. The enzymatic activation of the chromogen results in a visible reaction product at the antigen site. The specimen may then be counterstained and coverslipped. Results are interpreted using a light microscope and aid in the differential diagnosis of pathophysiological processes, which may or may not be associated with a particular antigen.

Clone

79H11

Immunogen

Prokaryotic recombinant protein corresponding to a 304 amino acid region of the N-terminus of the human MSH2 molecule.

Specificity

Human MSH2.

Reagent Composition

NCL-L-MSH2-612 is a liquid tissue culture supernatant containing sodium azide as a preservative.

Ig Class

Ig G1

Total Protein Concentration Total Protein

Refer to vial label for lot specific total protein concentration.

Antibody Concentration

Greater than or equal to 45 mg/L as determined by ELISA. Refer to vial label for lot specific Ig concentration.

Recommendations On Use

Immunohistochemistry on paraffin sections.

Heat Induced Epitope Retrieval (HIER): Please follow the instructions for use in Novocastra Epitope Retrieval pH 9.

Suggested dilution: 1:80 for 30 minutes at 25 °C . This is provided as a guide and users should determine their own optimal working dilutions.

Visualization: Please follow the instructions for use in the Novolink™ Polymer Detection Systems. For further product information or support, contact your local distributor or regional office of Leica Biosystems, or alternatively, visit the Leica Biosystems Web site, www.LeicaBiosystems.com

The performance of this antibody should be validated when utilized with other manual staining systems or automated platforms.

Storage and Stability

Store at 2–8 °C. Do not freeze. Return to 2–8 °C immediately after use. Do not use after expiration date indicated on the vial label. Storage conditions other than those specified above must be verified by the user.

Specimen Preparation

The recommended fixative is 10% neutral-buffered formalin for paraffin-embedded tissue sections.

Warnings and Precautions

This reagent has been prepared from the supernatant of cell culture. As it is a biological product, reasonable care should be taken when handling it.

This reagent contains sodium azide. A Material Safety Data Sheet is available upon request or available from www.LeicaBiosystems.com. Consult federal, state or local regulations for disposal of any potentially toxic components.

Specimens, before and after fixation, and all materials exposed to them, should be handled as if capable of transmitting infection and disposed of with proper precautions.† Never pipette reagents by mouth and avoid contacting the skin and mucous membranes with reagents and specimens. If reagents or specimens come in contact with sensitive areas, wash with copious amounts of water. Seek medical advice.

Minimize microbial contamination of reagents or an increase in non-specific staining may occur.

Incubation times or temperatures, other than those specified, may give erroneous results. Any such changes must be validated by the user.

Quality Control

Differences in tissue processing and technical procedures in the user's laboratory may produce significant variability in results, necessitating regular performance of in-house controls in addition to the following procedures.

Controls should be fresh autopsy/biopsy/surgical specimens, formalin-fixed, processed and paraffin wax-embedded as soon as possible in the same manner as the patient sample(s).

Positive Tissue Control

Used to indicate correctly prepared tissues and proper staining techniques.

One positive tissue control should be included for each set of test conditions in each staining run.

A tissue with weak positive staining is more suitable than a tissue with strong positive staining for optimal quality control and to detect minor levels of reagent degradation.²

Recommended positive control tissue is bowel

If the positive tissue control fails to demonstrate positive staining, results with the test specimens should be considered invalid.

Negative Tissue Control

Should be examined after the positive tissue control to verify the specificity of the labeling of the target antigen by the primary antibody.

Recommended negative control tissue is skeletal muscle.

Alternatively, the variety of different cell types present in most tissue sections frequently offers negative control sites, but this should be verified by the user.

Non-specific staining, if present, usually has a diffuse appearance. Sporadic staining of connective tissue may also be observed in sections from excessively formalin-fixed tissues. Use intact cells for interpretation of staining results. Necrotic or degenerated cells often stain non-specifically.³ False-positive results may be seen due to non-immunological binding of proteins or substrate reaction products. They may also be caused by endogenous enzymes such as pseudoperoxidase (erythrocytes), endogenous peroxidase (cytochrome C), or endogenous biotin (eg. liver, breast, brain, kidney) depending on the type of immunostain used. To differentiate endogenous enzyme activity or non-specific binding of enzymes from specific immunoreactivity, additional patient tissues may be stained exclusively with substrate chromogen or enzyme complexes (avidin-biotin, streptavidin, labeled polymer) and substrate-chromogen, respectively. If specific staining occurs in the negative tissue control, results with the patient specimens should be considered invalid.

Negative Reagent Control

Use a non-specific negative reagent control in place of the primary antibody with a section of each patient specimen to evaluate non-specific staining and allow better interpretation of specific staining at the antigen site.

Patient Tissue

Examine patient specimens stained with NCL-L-MSH2-612 last. Positive staining intensity should be assessed within the context of any non-specific background staining of the negative reagent control. As with any immunohistochemical test, a negative result means that the antigen was not detected, not that the antigen was absent in the cells/tissue assayed. If necessary, use a panel of antibodies to identify false-negative reactions.

Results Expected

Normal Tissues

Clone 79H11 detected the Mismatch repair protein 2 (MSH2) in the nuclei of cells from multiple tissues, including cerebrum, cerebellum, adrenal gland, uterine cervix, ovary, pancreas, lymph node, pituitary gland, testis, thyroid gland, breast, spleen, tonsil, thymus, bone marrow, lung, muscle, esophagus, stomach, small intestine, colon, liver, salivary gland, kidney, prostate, endometrium, skin, nerve, mesothelium, eye, larynx, parathyroid and bladder. (Total number of tissues evaluated = 105).

Abnormal Tissues

Clone 79H11 stained 5/8 colon carcinomas (including 4/4 colorectal carcinomas, 0/3 known MSH2 negative colorectal carcinomas and 1/1 mucinous adenocarcinoma) 5/5 gallbladder adenocarcinomas, 3/3 astrocytomas, 3/3 esophageal squamous cell carcinomas, 3/3 stomach adenocarcinomas, 3/3 lung adenocarcinomas, 3/3 pancreatic adenocarcinomas, 3/3 kidney clear cell carcinomas, 3/3 bladder transitional cell carcinomas, 3/3 uterine cervical squamous cell carcinomas, 3/3 invasive breast ductal carcinomas, 2/2 thyroid papillary carcinomas, 2/2 prostate adenocarcinomas (total number of cases evaluated = 44).

NCL-L-MSH2-612 is recommended for the detection of MSH2 protein in normal and neoplastic tissues, as an adjunct to conventional histopathology using non-immunologic histochemical stains.

General Limitations

Immunohistochemistry is a multistep diagnostic process that consists of specialized training in the selection of the appropriate reagents; tissue selection, fixation, and processing; preparation of the IHC slide; and interpretation of the staining results.

Tissue staining is dependent on the handling and processing of the tissue prior to staining. Improper fixation, freezing, thawing, washing, drying, heating, sectioning or contamination with other tissues or fluids may produce artifacts, antibody trapping, or false negative results. Inconsistent results may be due to variations in fixation and embedding methods, or to inherent irregularities within the tissue.⁴

Excessive or incomplete counterstaining may compromise proper interpretation of results.

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.

Antibodies from Leica Biosystems Newcastle Ltd are for use, as indicated, on either frozen or paraffin-embedded sections with specific fixation requirements. Unexpected antigen expression may occur, especially in neoplasms. The clinical interpretation of any stained tissue section must include morphological analysis and the evaluation of appropriate controls.

Bibliography - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma. *Modern Pathology*. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2009; 120 (3); 777-782.

Amendments to Previous Issue

N/A

Date of Issue

03 May 2019

Novocastra™ Anticorps Monoclonal Liquide de Souris Mismatch Repair Protein 2 (MSH2)

Référence du produit: NCL-L-MSH2-612

Utilisation Prévue

Diagnostic in vitro.

NCL-L-MSH2-612 est destiné à l'identification qualitative par microscopie optique des molécules de la Mismatch Repair Protein 2 (MSH2) sur coupes en paraffine. L'interprétation clinique de tout marquage, ou absence de marquage, doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée par un pathologiste qualifié à la lumière des antécédents cliniques du patient et d'autres analyses diagnostiques.

Principe de la Procédure

Les techniques de marquage immunohistochimique (IHC) permettent la visualisation des antigènes via l'application séquentielle d'un anticorps spécifique sur un antigène (anticorps primaire), d'un anticorps secondaire sur l'anticorps primaire et d'un complexe enzymatique comportant un substrat chromogène, avec des étapes de lavage intercalées. L'activation enzymatique du chromogène se traduit par la présence d'un produit de réaction visible au niveau du site de l'antigène. Le spécimen peut ensuite faire l'objet d'une coloration de contraste et être placé sous une lamelle. Les résultats sont interprétés à l'aide d'un microscope optique et participent au diagnostic différentiel des processus physiopathologiques, susceptibles, ou non, d'être associés à un antigène particulier.

Clone

79H11

Immunogène

Protéine recombinante procaryotique correspondant à la région des 304 acides aminés du N terminal de la molécule MSH2 humaine.

Spécificité

MSH2 humaine.

Composition du Réactif

Le NCL-L-MSH2-612 est un surnageant de culture tissulaire liquide contenant une solution d'azide de sodium comme conservateur.

Classe d'Ig

Ig G1

Concentration Totale en Protéines

Total Protein

La concentration totale en protéines, spécifique du lot, figure sur l'étiquette du flacon.

Concentration en Anticorps

Supérieure ou égale à 45 mg/L, déterminée par la méthode ELISA. La concentration totale en Ig, spécifique du lot, figure sur l'étiquette du flacon.

Recommandations d'utilisation

Immunohistochimie sur coupes en paraffine.

Récupération des épitopes induite par la chaleur (HIER, Heat Induced Epitope Retrieval) : Respecter le mode d'emploi pour utilisation dans la solution Novocastra Epitope Retrieval pH 9.

Dilution préconisée : 1:80 durant 30 minutes à 25 °C. Ceci n'est donné qu'à titre indicatif et les utilisateurs doivent déterminer leurs propres dilutions de travail optimales.

Visualisation : Veuillez respecter le mode d'emploi des Novolink™ Polymer Detection Systems. Pour plus d'informations sur le produit ou pour toute assistance, contactez votre représentant local ou le bureau régional de Leica Biosystems, ou sinon rendez-vous sur le site www.LeicaBiosystems.com de Leica Biosystems.

Les performances de cet anticorps devront être validées lorsqu'il est utilisé avec d'autres systèmes de coloration manuels ou plates-formes automatisées.

Conservation et Stabilité

Conserver à 2–8 °C. Ne pas congeler. Remettre immédiatement à 2–8 °C après utilisation. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du récipient. Les conditions de conservation autres que celles qui sont spécifiées ci-dessus doivent faire l'objet d'une vérification par l'utilisateur.

Préparation des Spécimens

Le fixateur recommandé est le formol à 10%, tamponné, neutre, pour coupes tissulaires incluses en paraffine.

Mises en Garde et Précautions

Ce réactif a été préparé à partir du surnageant d'une culture cellulaire. Du fait de sa nature de produit biologique, sa manipulation doit faire l'objet du plus grand soin.

Ce réactif contient de l'azide de sodium. Une Fiche de données de sécurité est disponible sur demande ou sur le site www.LeicaBiosystems.com

Consulter les réglementations nationales, régionales ou locales en vigueur relatives à l'élimination de tous les éléments potentiellement toxiques.

Les spécimens, avant et après fixation, ainsi que toutes les matières ayant été en contact avec eux, doivent être manipulés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre une infection et être éliminés en respectant les précautions appropriées¹. Ne jamais pipeter les réactifs avec la bouche et éviter tout contact des réactifs et des spécimens avec la peau et les membranes muqueuses. Rincer avec de grandes quantités d'eau en cas de contact des réactifs ou des spécimens avec des zones sensibles. Consulter un médecin.

Minimiser la contamination microbienne des réactifs sinon un accroissement du marquage non spécifique est susceptible de se produire.

Des durées et des températures d'incubation différentes de celles qui ont été spécifiées sont susceptibles de conduire à des résultats erronés. Toutes les modifications doivent être validées par l'utilisateur.

Contrôle de Qualité

Des différences de traitement des tissus et de procédures techniques du laboratoire de l'utilisateur sont susceptibles de conduire à une variabilité significative des résultats, ce qui rend nécessaire la mise en œuvre de contrôles en interne en plus des procédures suivantes. Les contrôles doivent être des spécimens frais provenant d'autopsies, de biopsies ou d'interventions chirurgicales, fixés au formol, traités et inclus en cire de paraffine dès que possible, de la même façon que le(s) échantillon(s) de patient.

Tissu de Contrôle Positif

Il est utilisé pour indiquer que les tissus ont été préparés correctement et que les techniques de marquage étaient appropriées.

Un contrôle tissulaire positif doit être inclus dans toute opération de marquage pour chaque ensemble de conditions d'analyse.

Un tissu présentant un marquage faiblement positif est plus adapté à un contrôle de qualité optimal qu'un tissu présentant un marquage fortement positif et il permet de détecter de moindres niveaux de dégradation du réactif.²

Le tissu de contrôle positif recommandé est l'intestin.

Si le tissu de contrôle positif ne donne pas de marquage positif, les résultats des spécimens analysés doivent être considérés comme invalides.

Tissu de Contrôle Négatif

Il doit être examiné après le tissu de contrôle positif afin de vérifier la spécificité du marquage de l'antigène cible par l'anticorps primaire. Le muscle squelettique constitue le tissu de contrôle négatif recommandé.

Sinon, la diversité des types cellulaires présents dans la plupart des tissus permet de disposer fréquemment de sites de contrôle négatif, mais ils doivent être vérifiés par l'utilisateur.

S'il est présent, le marquage non spécifique prend habituellement une apparence diffuse. Un marquage sporadique du tissu conjonctif peut également être observé sur des tissus qui ont été fixés par un excès de formol. Utiliser des cellules intactes pour l'interprétation des résultats du marquage. Les cellules nécrotiques ou dégénérées sont souvent marquées de façon non spécifique.³ Des résultats faussement positifs peuvent être observés en raison d'une liaison non immunologique à des protéines ou à des produits de réaction du substrat.

Ils peuvent également être provoqués par des enzymes endogènes comme la pseudoperoxydase (érythrocytes), la peroxydase endogène (cytochrome C), ou la biotine endogène (foie, sein, cerveau, rein, par exemple) selon le type d'immunomarquage utilisé.

Pour différencier

l'activité des enzymes endogènes ou la liaison non spécifique d'enzymes de l'immunoréactivité spécifique, des tissus supplémentaires du patient peuvent être marqués exclusivement avec le substrat chromogène ou par des complexes enzymatiques (avidine-biotine, streptavidine, polymère marqué) et le substrat chromogène respectivement. Si un marquage spécifique se produit dans le tissu de contrôle négatif, les résultats des spécimens du patient doivent être considérés comme invalides.

Réactif de Contrôle Négatif

Utiliser un réactif de contrôle négatif non spécifique à la place de l'anticorps primaire avec une coupe de chaque spécimen du patient afin d'évaluer le marquage non spécifique et de permettre une meilleure interprétation du marquage spécifique au niveau du site antigénique.

Tissu du Patient

Examiner les échantillons du patient marqués au NCL-L-MSH2-612 en dernier lieu. L'intensité du marquage positif doit être évaluée à la lumière du bruit de fond du marquage non spécifique du réactif de contrôle négatif. Comme pour toutes les analyses immunohistochimiques, un résultat négatif signifie que l'antigène n'a pas été détecté mais ne signifie pas qu'il est absent des cellules/tissus testés. Si nécessaire, employer un panel d'anticorps pour identifier les réactions faussement négatives.

Résultats Attendus

Tissus normaux

Le clone 79H11 a détecté la Mismatch repair protein 2 (MSH2) dans le noyau de cellules provenant de divers tissus, notamment le cerveau, le cervelet, la surrénale, le col de l'utérus, l'ovaire, le pancréas, le ganglion lymphatique, l'hypophyse, le testicule, la thyroïde, le sein, la rate, les amygdales, le thymus, la moelle osseuse, le poulmon, le muscle, l'œsophage, l'estomac, l'intestin grêle, le colon, le foie, les glandes salivaires, le rein, la prostate, l'endomètre, la peau, les nerfs, le mésothélium, l'œil, le larynx, la parathyroïde et la vessie. (Nombre total de tissus évalués = 105).

Tissus anormaux

Le clone 79H11 a coloré 5/8 carcinomes du colon (dont 4/4 carcinomes colorectaux, 0/3 carcinomes colorectaux connus sans MSH2 et 1/1 adénocarcinome mucineux), 5/5 adénocarcinomes de la vésicule biliaire, 3/3 astrocytomes, 3/3 carcinomes œsophagiens à cellules squameuses, 3/3 adénocarcinomes de l'estomac, 3/3 adénocarcinomes du poulmon, 3/3 adénocarcinomes du pancréas, 3/3 carcinomes du rein à cellules claires, 3/3 carcinomes de la vessie à cellules transitionnelles, 3/3 carcinomes du col de l'utérus à cellules squameuses, 3/3 carcinomes canalaire infiltrants du sein, 2/2 carcinomes papillaires de la thyroïde, 2/2 adénocarcinomes de la prostate (nombre total de cas évalués = 44).

Le NCL-L-MSH2-612 est recommandé pour la détection de la protéine MSH2 dans les tissus normaux et néoplasiques, en complément à l'histopathologie traditionnelle utilisant des marqueurs histochimiques non immunologiques.

Limites Générales

L'immunohistochimie est un processus diagnostique constitué de plusieurs étapes qui nécessite une formation spécialisée relative au choix des réactifs appropriés ; au choix, à la fixation et au traitement des tissus ; à la préparation des lames IHC ; et à l'interprétation des résultats du marquage.

Le marquage des tissus dépend de leur manipulation et de leur traitement avant le marquage. Une fixation, une congélation, une décongélation, un lavage, un séchage, un chauffage, une coupe, incorrects ou une contamination par d'autres tissus ou d'autres liquides sont susceptibles de conduire à la production d'artefacts, au piégeage de l'anticorps ou à des résultats faussement négatifs.

Des variations dans les méthodes de fixation et d'inclusion, ainsi que des irrégularités propres au tissu, peuvent conduire à des résultats incohérents.⁴

Une coloration de contraste excessive ou incomplète peut gêner l'interprétation correcte des résultats.

L'interprétation clinique de tout marquage, ou absence de marquage, doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée par un pathologiste qualifié à la lumière des antécédents cliniques du patient et d'autres analyses diagnostiques.

Les anticorps de Leica Biosystems Newcastle Ltd sont destinés, selon les besoins, à être utilisés sur des coupes incluses en paraffine ou des coupes congelées, et conformément à des exigences particulières en matière de fixation. Une expression antigénique inattendue est susceptible de se produire, en particulier au niveau des néoplasmes. L'interprétation clinique de toute coupe tissulaire marquée doit comporter une analyse morphologique et l'évaluation des contrôles appropriés.

Bibliographie Générale

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma. *Modern Pathology*. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2009; 120 (3); 777-782.

Amendements Apportés à la Version Précédente

S/O

Date de Publication

03 mai 2019

Novocastra™ Anticorpo monoclonale murino liquido

Mismatch Repair Protein 2 (MSH2)

Codice prodotto: NCL-L-MSH2-612

Uso previsto

Per uso diagnostico in vitro.

NCL-L-MSH2-612 è destinato all'identificazione qualitativa in microscopia ottica della proteina 2 umana di riparazione di mancata corrispondenza (MSH2) in sezioni in paraffina. L'interpretazione clinica di un'eventuale colorazione, o della sua assenza, deve avvalersi di studi morfologici e di opportuni controlli ed essere effettuata da patologi qualificati, nel contesto dell'anamnesi clinica del paziente e di altri test diagnostici.

Principio della procedura

Le tecniche di colorazione immunostochimica (IHC) consentono la visualizzazione degli antigeni mediante l'applicazione sequenziale di un anticorpo specifico per l'antigene (anticorpo primario), di un anticorpo secondario che lega l'anticorpo primario e di un complesso enzimatico con un substrato cromogeno; l'applicazione dei tre reagenti è intervallata da fasi di lavaggio. L'attivazione enzimatica del cromogeno produce una reazione visibile in corrispondenza del sito antigenico. Il campione biologico può quindi essere controcolorato e montato. I risultati vengono interpretati avvalendosi di un microscopio ottico e sono utili nella diagnosi differenziale di processi fisiopatologici, che possono essere o meno associati a un particolare antigene.

Clone

79H11

Immunogeno

Proteina ricombinante in procarioti corrispondente a una regione di 304 amminoacidi N-terminali della molecola di MSH2 umana.

Specificità

MSH2 umana.

Composizione del reagente

NCL-L-MSH2-612 è un supernatante liquido di coltura tissutale, contenente sodio azide come conservante.

Classe Ig

Ig G1

Concentrazione proteica totale Total Protein

Consultare l'etichetta del flacone per la concentrazione proteica totale specifica del lotto.

Concentrazione anticorpale

Superiore o uguale a 45 mg/l, come determinato mediante test ELISA. Consultare l'etichetta del flacone per la concentrazione di Ig specifica del lotto.

Raccomandazioni per l'uso

Immunostochimica su sezioni incluse in paraffina.

Recupero dell'epitopo mediante calore (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Si raccomanda di seguire le istruzioni per l'uso accluse a Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

Diluizione suggerita: 1:80 per 30 minuti a 25 °C. Queste raccomandazioni costituiscono delle semplici linee guida; spetta al singolo utilizzatore stabilire le diluizioni di lavoro ottimali.

Visualizzazione: seguire le istruzioni per l'uso dei Novolink™ Polymer Detection Systems. Per ulteriori informazioni sui prodotti o assistenza, contattare il distributore di zona o la sede regionale di Leica Biosystems, oppure visitare il sito internet di Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com

La resa di questo anticorpo deve essere validata quando viene utilizzato con altri metodi di colorazione manuale o piattaforme automatizzate.

Conservazione e stabilità

Conservare a 2–8 °C. Non congelare. Immediatamente dopo l'uso, raffreddare di nuovo a 2–8 °C. Non utilizzare dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta del flacone. Condizioni di conservazione diverse da quelle specificate sopra vanno verificate dall'utilizzatore.

Preparazione dei campioni

Il fissativo raccomandato è la formalina tamponata neutra al 10% per sezioni tissutali incluse in paraffina.

Avvertenze e precauzioni

Questo reagente è stato preparato dal supernatante di coltura cellulare. Trattandosi di un prodotto biologico, va maneggiato con cautela. Questo reagente contiene sodio azide. Una scheda di sicurezza del prodotto (MSDS) è disponibile su richiesta o dal sito www.LeicaBiosystems.com.

Per lo smaltimento di eventuali componenti potenzialmente tossici fare riferimento alla normativa nazionale, regionale o locale.

Prima e dopo la fissazione, i campioni biologici e tutti i materiali ad essi esposti vanno trattati come potenzialmente infettanti e smaltiti con le dovute precauzioni.¹ Non pipettare mai i reagenti con la bocca ed evitare il contatto dei reagenti e dei campioni biologici con la pelle e con le mucose. Se i reagenti o i campioni biologici vengono a contatto con aree sensibili del corpo, lavare le parti interessate con abbondanti quantità d'acqua e consultare un medico.

Ridurre al minimo la contaminazione microbica dei reagenti, allo scopo di evitare un aumento di colorazione aspecifica.

Tempi o temperature di incubazione diversi da quelli specificati possono generare risultati erranei. Tali variazioni devono essere convalidate dall'utilizzatore.

Controllo di qualità

Differenze nella processazione del tessuto e nelle tecniche in uso presso il laboratorio dell'utilizzatore possono produrre una discrepanza significativa nei risultati, rendendo necessaria la regolare esecuzione di controlli interni in aggiunta alle procedure descritte di seguito.

I controlli devono essere costituiti da campioni biologici freschi autoptici/bioptici/chirurgici e devono essere il più rapidamente possibile fissati in formalina, processati e inclusi in paraffina, allo stesso modo dei campioni biologici ottenuti dal paziente.

Controllo positivo del tessuto

È usato per indicare tessuti correttamente preparati e tecniche di colorazione appropriate.

Per ogni gruppo di condizioni dei test e ogni volta che viene eseguita la colorazione, deve essere incluso un controllo positivo del tessuto.

Un tessuto a debole colorazione positiva è più adatto di uno a colorazione positiva intensa per un ottimale controllo di qualità e per mettere in evidenza anche minimi livelli di degradazione del reagente.²

Il tessuto di controllo positivo raccomandato è l'intestino.

Se il controllo positivo del tessuto non riesce a dimostrare una colorazione positiva, i risultati ottenuti con i campioni biologici dei test dovranno essere considerati non validi.

Controllo negativo del tessuto

Va esaminato dopo il controllo positivo, per verificare la specificità della marcatura dell'antigene bersaglio da parte dell'anticorpo primario. Il tessuto raccomandato per il controllo negativo è il muscolo scheletrico.

In alternativa, la varietà dei tipi cellulari presenti nella maggior parte delle sezioni tissutali offre spesso siti di controllo negativo, ma questo va verificato dall'utilizzatore.

La colorazione aspecifica, se presente, assume di solito aspetto diffuso. La colorazione sporadica del tessuto connettivo può anche manifestarsi in seguito ad iperfissazione di sezioni di tessuto in formalina. Per l'interpretazione dei risultati della colorazione, usare cellule intatte. Le cellule necrotiche o degenerate si colorano spesso in maniera aspecifica.³ Si possono osservare risultati falsamente positivi, dovuti a legame non immunologico delle proteine o a prodotti di reazione del substrato.

Tali falsi positivi possono anche essere causati da enzimi endogeni quali la pseudoperossidasi (eritrociti), la perossidasi endogena (citocromo C) o la biotina endogena (es. fegato, mammella, cervello, rene), a seconda del tipo di immunocolorazione usato. Per differenziare

l'attività enzimatica endogena o il legame enzimatico aspecifico dall'immunoreattività specifica, si possono colorare ulteriori tessuti del paziente rispettivamente con il solo substrato-cromogeno o con complessi enzimatici (avidina-biotina, streptavidina, polimero marcato) e substrato-cromogeno. Se nel controllo negativo del tessuto è presente la colorazione specifica, i risultati relativi ai campioni del paziente dovranno essere considerati non validi.

Controllo negativo del reagente

Usare un controllo negativo aspecifico del reagente in luogo dell'anticorpo primario, con una sezione di ogni campione biologico del paziente, per valutare la colorazione aspecifica e per consentire una migliore interpretazione della colorazione specifica in corrispondenza del sito antigenico.

Tessuto del paziente

Successivamente, esaminare i campioni biologici del paziente colorati con NCL-L-MSH2-612. L'intensità della colorazione positiva va analizzata nel contesto di qualsiasi colorazione aspecifica di fondo del controllo negativo del reagente. Come per tutti gli altri test immunistochimici, un risultato negativo significa che l'antigene non è stato determinato, ma non necessariamente che fosse assente dalle cellule o dal tessuto esaminato. Se necessario, utilizzare un pannello di anticorpi per identificare reazioni falsamente negative.

Risultati attesi

Tessuti normali

Clone 79H11 ha rilevato la proteina 2 umana di riparazione di mancata corrispondenza (MSH2) nel nucleo cellulare di molteplici tessuti, come telencefalo, cervelletto, ghiandola surrenale, cervice uterina, ovaio, pancreas, linfonodo, ghiandola pituitaria, testicolo, ghiandola tiroidea, mammella, tonsille, timo, midollo osseo, polmone, muscolo, esofago, stomaco, intestino tenue, colon, fegato, ghiandole salivari, rene, prostata, endometrio, pelle, nervi, mesotelio, occhio, laringe, paratiroidi e vescica. (Numero totale di tessuti valutati = 105).

Tessuti anormali

Clone 79H11 ha mostrato una colorazione 5 di 8 carcinomi del colon (inclusi 4 di 4 carcinomi del colon-retto, 0 di 3 carcinomi coloretali MSH2-negativi conosciuti e 1 di 1 adenocarcinoma mucinoso) 5 di 5 adenocarcinomi della cistifellea, 3 di 3 astrocitomi, 3 di 3 carcinomi esofagei a cellule squamose, 3 di 3 adenocarcinomi dello stomaco, 3 di 3 adenocarcinomi polmonari, 3 di 3 adenocarcinomi del pancreas, 3 di 3 carcinomi renali a cellule chiare, 3 di 3 carcinomi a cellule transizionali della vescica, 3 di 3 carcinomi della cervice uterina a cellule squamose, 3 di 3 carcinomi duttali invasivi della mammella, 2 di 2 carcinomi papillari della tiroide, 2 di 2 adenocarcinomi della prostata (numero totale di tessuti valutati = 44).

L'uso di NCL-L-MSH2-612 è consigliato per il rilevamento della proteina MSH2 in tessuti normali e neoplastici, in aggiunta all'istopatologia convenzionale che si avvale delle colorazioni istochimiche non immunologiche.

Limitazioni generali

L'immunostochimica è un procedimento diagnostico a più passi (multistep) che richiede un'esperienza specifica nella selezione dei reagenti appropriati, nella selezione, fissazione e processazione dei tessuti, nella preparazione di vetrini IHC e nell'interpretazione dei risultati della colorazione.

La colorazione del tessuto dipende dalle modalità di manipolazione e di processazione del tessuto stesso, adottate prima della colorazione. La fissazione, il congelamento, lo scongelamento, il lavaggio, l'essiccazione, il riscaldamento o il sezionamento condotti in modo non corretto, o la contaminazione con altri tessuti o liquidi, possono produrre artefatti, intrappolamento (trapping) anticorpale o risultati falsi negativi. I risultati discordanti possono essere dovuti a variazioni nei metodi di fissazione e inclusione o a irregolarità intrinseche all'interno del tessuto.⁴

Una colorazione di contrasto eccessiva o incompleta può compromettere l'interpretazione dei risultati.

L'interpretazione clinica di un'eventuale colorazione, o della sua assenza, deve avvalersi di studi morfologici e di opportuni controlli ed essere effettuata da patologi qualificati, nel contesto dell'anamnesi clinica del paziente e di altri test diagnostici.

Gli anticorpi forniti da Leica Biosystems Newcastle Ltd vanno utilizzati, come indicato, su sezioni congelate o incluse in paraffina, con specifici requisiti di fissazione. Può manifestarsi un'espressione antigenica inattesa, in particolare nelle neoplasie. L'interpretazione clinica di ogni sezione tissutale colorata va integrata da studi morfologici e dalla valutazione di controlli appropriati.

Riferimenti bibliografici generali

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma. *Modern Pathology*. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2009; 120 (3); 777-782.

Modifiche alla pubblicazione precedente

N/A

Data di pubblicazione

03 maggio 2019

Novocastra™ Flüssiger monoklonaler Maus-Antikörper Mismatch Repair Protein 2 (MSH2)

Produkt-Nr.: NCL-L-MSH2-612

Verwendungszweck

Für In-vitro-Diagnostik.

NCL-L-MSH2 ist für den qualitativen Nachweis von Mismatch-Reparatur-Protein 2-(MSH2)-Molekülen in Paraffinschnitten mittels Lichtmikroskopie vorgesehen. Die klinische Einordnung der Färbung bzw. ihres Fehlens sollte durch morphologische Untersuchungen samt entsprechenden Kontrollen abgerundet und unter Berücksichtigung der klinischen Vorgeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

Verfahrensgrundlage

Immunhistochemische Färbeverfahren (IHC) gestatten die optische Darstellung von Antigenen mittels sequentieller Anwendung eines spezifischen Antikörpers zum Antigen (primärer Antikörper), eines sekundären Antikörpers zum primären Antikörper und eines Enzymkomplexes mit einem chromogenen Substrat, jeweils getrennt durch dazwischen liegende Waschschrte. Die enzymatische Aktivierung des Chromogens führt zu einem sichtbaren Reaktionsprodukt am Ort des Antigens. Die Probe kann dann gegengefärbt und mit einem Deckglas versehen werden. Die Ergebnisse werden mithilfe eines Lichtmikroskops interpretiert und unterstützen die Differentialdiagnose pathophysiologischer Prozesse, die mit einem bestimmten Antigen assoziiert sein könnten.

Klon

79H11

Immunogen

Prokaryotisches rekombinantes Protein, das einer 304-Aminosäureregion des N-Terminus des humanen MSH2-Moleküls entspricht.

Spezifität

Humanes MSH2.

Reagenzzusammensetzung

NCL-L-MSH2-612 ist ein flüssiger Gewebekulturüberstand, der Natriumazid als Konservierungsmittel enthält.

Ig-Klasse

Ig G1

Gesamtproteinkonzentration Total Protein

Chargenspezifische Gesamtproteinkonzentration siehe Angaben auf dem Produktetikett.

Antikörperkonzentration

Größer als oder gleich 45 mg/L laut ELISA-Bestimmung. Chargenspezifische Ig-Konzentration siehe Angaben auf dem Produktetikett.

Gebrauchsempfehlungen

Immunhistochemie in Paraffinschnitten.

Hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Bitte Gebrauchsanweisung für Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9 befolgen.

Empfohlene Verdünnung: 1:80 über einen Zeitraum von 30 Minuten bei 25 °C. Dies ist nur eine Empfehlung, und die Benutzer sollten ihre eigenen optimalen Arbeitsverdünnungen bestimmen.

Visualisierung: Bitte Gebrauchsanweisung für Novolink™ Polymer Detection Systems befolgen. Wenn Sie weitere Produktinformationen oder Unterstützung wünschen, setzen Sie sich bitte mit ihrem Händler vor Ort oder mit der Zweigniederlassung von Leica Biosystems in Verbindung beziehungsweise besuchen Sie die Internetseite von Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

Die Leistungsfähigkeit dieses Antikörpers sollte bestätigt werden, wenn er mit anderen manuellen Färbesystemen oder automatisierten

Plattformen eingesetzt wird.

Lagerung und Stabilität

Bei 2–8 °C lagern. Nicht einfrieren. Nach Gebrauch sofort wieder bei 2–8 °C lagern. Nach Ablauf des Verfallsdatums (auf dem Behälteretikett) darf das Produkt nicht mehr verwendet werden. Lagerbedingungen, die von den oben genannten Bedingungen abweichen, müssen vom Benutzer verifiziert werden.

Probenvorbereitung

Für paraffineingebettete Gewebeschnitte ist das empfohlene Fixativ 10 % neutral gepuffertes Formalin.

Warnhinweise und Sicherheitsmaßnahmen

Dieses Reagenz wurde aus Zellkulturüberstand zubereitet. Das Reagenz ist ein biologisches Produkt und sollte mit entsprechender Vorsicht gehandhabt werden.

Dieses Reagenz enthält Natriumazid. Ein Material Sicherheits-Datenblatt ist auf Anfrage und auf www.LeicaBiosystems.com erhältlich.

Die entsprechenden nationalen und lokalen Bestimmungen und Vorschriften zur Entsorgung potenziell giftiger Komponenten sind einzuhalten.

Vor und nach der Fixierung sind die Proben sowie alle Materialien, die mit ihnen in Kontakt gekommen sind, als potenziell infektiös zu behandeln und daher mit entsprechender Vorsicht zu entsorgen.¹ Reagenzien dürfen niemals mit dem Mund pipettiert werden, und jeglicher Kontakt der Reagenzien und Proben mit Haut und Schleimhäuten ist zu vermeiden. Falls Reagenzien oder Proben mit empfindlichen Bereichen in Kontakt gekommen sind, müssen diese mit reichlich Wasser gespült werden. Ärztlichen Rat einholen. Die mikrobielle Verunreinigung von Reagenzien ist zu minimieren, da ansonsten eine erhöhte unspezifische Färbung auftreten kann. Falls die spezifizierten Inkubationszeiten oder -temperaturen nicht eingehalten werden, kann es zu fehlerhaften Ergebnissen kommen. Jegliche Abweichungen von den angegebenen Werten müssen vom Benutzer verifiziert werden.

Qualitätskontrolle

Unterschiede bei der Gewebeerarbeitung und den technischen Verfahren im Labor des Benutzers können zu signifikanten Schwankungen bei den Ergebnissen führen. Daher ist es wichtig, zusätzlich zu den folgenden Verfahren regelmäßige laborinterne Kontrollen durchzuführen.

Die Kontrollen sollten mit frischen Autopsie-/Biopsie-/chirurgischen Proben vorgenommen werden, die so bald wie möglich und auf dieselbe Weise wie die Patientenprobe(n) in Formalin fixiert, behandelt und in Paraffin eingebettet worden sind.

Positive Gewebekontrolle

Zeigt korrekt vorbereitete Gewebe und korrekte Färbetechniken an.

In jedem Färbelauf sollte für jeden Satz Testbedingungen eine positive Gewebekontrolle durchgeführt werden.

Gewebe mit schwach positiver Färbung ist für die optimale Qualitätskontrolle und den Nachweis kleiner Minderungen in der Reagenzleistung besser geeignet als ein Gewebe mit stark positiver Färbung.²

Als positive Gewebekontrolle wird Darmgewebe empfohlen.

Falls die Positivkontrolle des Gewebes keine Positivfärbung liefert, sollten diese Probenergebnisse als nicht valid betrachtet werden.

Negative Gewebekontrolle

Die negative Gewebekontrolle sollte nach der positiven Gewebekontrolle erfolgen, um die Spezifität der Zielantigenmarkierung durch den primären Antikörper zu verifizieren. Als negative Gewebekontrolle wird Skelettmuskulatur empfohlen.

Alternativ bietet die Vielfalt unterschiedlicher Zelltypen, die in den meisten Gewebeschnitten vorliegen, häufig Stellen für eine negative Kontrolle. Jedoch sollte dies vom Benutzer verifiziert werden.

Liegt eine unspezifische Färbung vor, hat diese gewöhnlich ein diffuses Erscheinungsbild. Eine sporadische Färbung des Bindegewebes kann ebenfalls in Schnitten von übermäßig formalinfixierten Geweben beobachtet werden. Zur Bewertung der Färbegergebnisse intakte Zellen verwenden. Nekrotische oder degenerierte Zellen werden oft unspezifisch gefärbt.³ Falsch-positive Ergebnisse können aufgrund einer nichtimmunologischen Bindung von Proteinen oder Substratreaktionsprodukten beobachtet werden.

In Abhängigkeit von der Art der verwendeten Immunfärbung können solche Ergebnisse auch durch endogene Enzyme wie Pseudoperoxidase (Erythrozyten), endogene Peroxidase (Zytochrom C) oder endogenes Biotin (beispielsweise Leber, Mamma, Gehirn, Niere) hervorgerufen werden. To differentiate

Um eine endogene Enzymaktivität bzw. eine unspezifische Enzymbindung von einer spezifischen Immunreaktivität zu unterscheiden, können zusätzliche Patientengewebe ausschließlich mit Substratchromogen bzw. mit Enzymkomplexen (Avidin-Biotin, Streptavidin, markiertes Polymer) plus Substratchromogen gefärbt werden. Falls es bei der Negativkontrolle zur spezifischen Färbung kommt, sollten diese Probenergebnisse als nicht valid betrachtet werden.

Negative Reagenzkontrolle

Zur Beurteilung einer unspezifischen Färbung und zur besseren Bewertung einer spezifischen Färbung an der Antigenstelle ist mit einem Schnitt jedes Patientenpräparates anstelle des primären Antikörpers eine unspezifische negative Reagenzkontrolle zu verwenden.

Patientengewebe

Die mit NCL-L-MSH2-612 gefärbten Patientenproben müssen zuletzt untersucht werden. Eine positive Färbeintensität ist im Kontext einer unspezifischen Hintergrundfärbung der negativen Reagenzkontrolle zu bewerten. Wie bei jedem immunhistochemischen Test bedeutet ein negatives Ergebnis, dass das Antigen nicht nachgewiesen wurde. Ein negatives Ergebnis bedeutet jedoch nicht notwendigerweise, dass das Antigen in den getesteten Zellen / im getesteten Gewebe nicht vorlag. Falsch negative Reaktionen müssen gegebenenfalls durch Einsatz eines Antikörper-Panels herausgefiltert werden.

Erwartete Ergebnisse

Normale Gewebe

Klon 79H11 deckte das Mismatch-Reparaturprotein 2 (MSH2) in den Zellkernen einiger Gewebe, einschließlich Großhirn, Kleinhirn, Nebenniere, Gebärmutterhalt, Ovarium, Pankreas, Lymphknoten, Hypophyse, Hoden, Schilddrüse, Brust, Milz, Mandel, Thymus, Knochenmark, Lunge, Muskeln, Speiseröhre, Magen, Dünndarm, Dickdarm, Leber, Speicheldrüse, Niere, Prostata, Gebärmutter-schleimhaut, Haut, Nerven, Mesothelium, Augen, Kehlkopf, Nebenschilddrüse und Blase auf. (Anzahl der insgesamt untersuchten Proben von normalem Gewebe = 105).

Anomale Gewebe

Klon 79H11 färbte 5/8 Dickdarmkarzinome (einschließlich 4/4 kolorektale Karzinome, 0/3 bekannte MSH2-negative kolorektale Karzinome und 1/1 muköses Adenokarzinom) 5/5 Gallenblasen-Adenokarzinome, 3/3 Astrozytome, 3/3 Ösophagus-Plattenepithelkarzinome, 3/3 Magen-Adenokarzinome, 3/3 Lungen-Adenokarzinome, 3/3 Pankreas-Adenokarzinome, 3/3 klarzellige Nierenkarzinome, 3/3 Blasen-Übergangszellkarzinome, 3/3 Gebärmutter- und Gebärmutterhals-Plattenepithelkarzinome, 3/3 invasiv-duktales Brustkarzinome, 2/2 papilläre Schilddrüsenkarzinome (Anzahl der insgesamt untersuchten Fälle = 44).

NCL-L-MSH2-612 wird für den Nachweis von Mismatch-Reparaturprotein 2 (MSH2) in normalem und neoplastischem Gewebe als zusätzliches Hilfsmittel zur herkömmlichen Histopathologie unter Verwendung nicht-immunologischer histochemischer Färbemittel empfohlen.

Allgemeine Einschränkungen

Die Immunhistochemie ist ein mehrstufiger diagnostischer Prozess, der eine spezialisierte Ausbildung auf den folgenden Gebieten erfordert: Auswahl der entsprechenden Reagenzien; Gewebeauswahl, -fixierung und -verarbeitung; Vorbereitung des IHC-Objektträgers sowie Bewertung der Färberegebnisse.

Die Gewebefärbung hängt von der Handhabung und Verarbeitung des Gewebes vor dem Färben ab. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erwärmen, Schneiden oder eine Kontamination mit anderen Geweben oder Flüssigkeiten kann zu Artefakten, Antikörper-Trapping oder falsch-negativen Ergebnissen führen. Abweichende Ergebnisse können aufgrund von Unterschieden bei der Fixierung und Einbettung oder intrinsischen Unregelmäßigkeiten im Gewebe selbst entstehen.⁴ Eine exzessive oder unvollständige Gegenfärbung kann die korrekte Bewertung von Ergebnissen gefährden.

Die klinische Einordnung der Färbung bzw. ihres Fehlens sollte durch morphologische Untersuchungen samt entsprechenden Kontrollen abgerundet und unter Berücksichtigung der klinischen Vorgeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

Antikörper von Leica Biosystems Newcastle Ltd sind wie angezeigt für die Verwendung entweder auf gefrorenen oder in Paraffin eingebetteten Schnitten mit spezifischen Fixierungsanforderungen bestimmt. Es kann insbesondere bei Neoplasmen zu einer unerwarteten Antigenexpression kommen. Die klinische Bewertung eines gefärbten Gewebeschnitts muss eine morphologische Analyse und die Auswertung der entsprechenden Kontrollen einschließen.

Literatur - Allgemein

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma. Modern Pathology. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Breast Cancer Research and Treatment. 2009; 120 (3); 777-782.

Änderungen zur vorhergehenden Ausgabe

N/A

Ausgabedatum

03 Mai 2019

Novocastra™ Anticuerpo monoclonal líquido de ratón Mismatch Repair Protein 2 (MSH2) Código del producto: NCL-L-MSH2-612

Uso previsto

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-MSH2-612 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de Mismatch Repair Protein 2 (MSH2). La interpretación clínica de cualquier tinción o de la ausencia de esta debe complementarse con estudios morfológicos usando controles adecuados y debe evaluarla un patólogo cualificado junto con el historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Principio de procedimiento

Las técnicas de tinción inmunohistoquímica (IHC) permiten la visualización de antígenos mediante la aplicación secuencial de un anticuerpo específico dirigido contra el antígeno (anticuerpo primario), un anticuerpo secundario dirigido contra el anticuerpo primario y un complejo enzimático con un sustrato cromogénico, con pasos de lavado intercalados. La activación enzimática del cromógeno produce un producto de reacción visible en el lugar en que se encuentra el antígeno. Luego se puede contrateñir la muestra y cubrirla con un cubreobjetos. Los resultados se interpretan usando un microscopio óptico y son de ayuda en el diagnóstico diferencial de los procesos fisiopatológicos, que pueden estar o no vinculados a un determinado antígeno.

Clon

79H11

Inmunógeno

Proteína procariótica recombinante, correspondiente a una región de 304 aminoácidos del extremo N terminal de la molécula de MSH2 humana.

Especificidad

MSH2 humana.

Composición del reactivo

NCL-L-MSH2-612 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica como conservante.

Clase Ig

Ig G1

Concentración total de proteína Total Protein

Consulte en la etiqueta del vial la concentración total de proteína específica del lote.

Concentración de anticuerpo

Igual o superior a 45 mg/l, según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

Recomendaciones sobre el uso

Inmunohistoquímica con secciones de parafina.

Recuperación de epítomos termoinducida (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Siga las instrucciones de uso de Novocastra Epitope Retrieval pH 9.

Dilución sugerida: 1:80 durante 30 minutos a 25 °C. Esta es tan solo una pauta, y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

Visualización: Siga las instrucciones de uso de Novolink™ Polymer Detection Systems. Para obtener más información sobre el producto o para recibir ayuda, póngase en contacto con su distribuidor local o con la oficina regional de Leica Biosystems, o bien visite el sitio web de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com.

El rendimiento de este anticuerpo se debe validar cuando se utiliza con otros sistemas manuales de tinción o plataformas automatizadas.

Almacenamiento y estabilidad

Almacenar a una temperatura de 2-8 °C. No congelar. Devolver a 2-8 °C inmediatamente después de su uso. No lo utilice después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Cualesquiera condiciones de almacenamiento que no sean las arriba especificadas deben ser verificadas por el usuario.

Preparación de las muestras

El fijador recomendado para secciones de tejido incluidas en parafina es formol tamponado neutro al 10 %.

Advertencias y precauciones

El reactivo se ha preparado a partir del sobrenadante de cultivo celular. Como se trata de un producto de origen biológico, debe manipularse con precaución.

Este reactivo contiene azida sódica. Está disponible una Ficha de información sobre la seguridad del material, previa petición, o en www.LeicaBiosystems.com.

Consulte las normativas nacionales, estatales, provinciales o municipales acerca de cómo desechar cualquier componente potencialmente tóxico.

Las muestras, antes y después de ser fijadas, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manipularse como susceptibles de transmitir una infección, y se deben desechar tomando las precauciones adecuadas.¹ No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y de las membranas mucosas con los reactivos y las muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lávelas con abundante agua. Acuda inmediatamente al médico.

Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.

Cualquier tiempo o temperatura de incubación que no sean los aquí especificados pueden conducir a resultados erróneos. Cualquier cambio de tal naturaleza debe ser validado por el usuario.

Control de calidad

Las diferencias en el procesamiento de los tejidos y en los procedimientos técnicos del laboratorio del usuario pueden producir una variabilidad significativa en los resultados; por ello, es necesario que este lleve a cabo regularmente los controles de su propio laboratorio, además de los siguientes procedimientos.

Los controles deben ser muestras frescas de autopsia, biopsia o quirúrgicas fijadas en formol, procesadas y embebidas en cera de parafina, lo antes posible, de manera idéntica a la utilizada para la muestra o muestras del paciente o pacientes.

Control de tejido positivo

Se utiliza para indicar la preparación correcta de los tejidos y las técnicas de tinción adecuadas.

Debe incluirse un control tisular positivo por cada conjunto de condiciones de ensayo en cada tinción o serie de tinciones realizada.

Un tejido con una tinción positiva débil es más adecuado que un tejido con una tinción positiva intensa para lograr un control de calidad óptimo y para detectar niveles bajos de degradación del reactivo.²

El tejido de control positivo recomendado es el del intestino

Si el control de tejido positivo no muestra tinción positiva, los resultados de las muestras de prueba deben considerarse no válidos.

Control de tejido negativo

Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario. El tejido de control negativo recomendado es músculo esquelético.

Por otra parte, la variedad de diferentes tipos de células presentes en la mayoría de los cortes de tejido ofrece con frecuencia lugares de control negativo, si bien esto debe ser verificado por el usuario.

Si aparece una tinción no específica, esta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conjuntivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.³ También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato.

Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C) o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar

la actividad de las enzimas endógenas o las uniones no específicas de las enzimas de la inmunoreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidin-biotin, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce tinción específica en el control de tejido negativo, los resultados de las muestras del paciente deben considerarse no válidos.

Control de reactivo negativo

Utilice un control de reactivo negativo no específico en lugar del anticuerpo primario con un corte de cada muestra de paciente a fin de evaluar la tinción no específica y obtener una mejor interpretación de la tinción específica en el lugar en que se encuentra el antígeno.

Tejido del paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-MSH2-612 al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, utilice un panel de anticuerpos para identificar las reacciones negativas falsas.

Resultados esperados

Tejidos normales

El clon 79H11 detectó Mismatch Repair Protein 2 (MSH2) en el núcleo de células de múltiples tejidos, como cerebro, cerebelo, glándula suprarrenal, cuello uterino, ovario, páncreas, nódulo linfático, glándula pituitaria, testículo, tiroides, mama, bazo, amígdala, timo, médula ósea, pulmón, músculo, esófago, estómago, intestino delgado, colon, hígado, glándula salival, riñón, próstata, endometrio, piel, nervio, mesotelio, ojo, laringe, paratiroideo y vejiga. (Número total de tejidos evaluados = 105).

Tejidos anormales

El clon 79H11 tiñó 5/8 carcinomas de colon (incluyendo 4/4 carcinomas colorrectales, 0/3 carcinomas colorrectales negativos MSH2 conocidos y 1/1 adenocarcinoma mucinoso) 5/5 adenocarcinomas de la vesícula biliar, 3/3 astrocitos, 3/3 carcinomas de células escamosas del esófago, 3/3 adenocarcinomas de estómago, 3/3 adenocarcinomas pulmonares, 3/3 adenocarcinomas pancreáticos, 3/3 carcinomas renales de células claras, 3/3 carcinomas de células transicionales de la vejiga, 3/3 carcinomas de células escamosas del cuello del útero, 3/3 carcinomas ductales invasivos de la mama, 2/2 carcinomas papilares tiroideos, 2/2 adenocarcinomas prostáticos (número total de casos evaluados = 44).

El NCL-L-MSH2-612 está recomendado para la detección de proteína MSH2 en tejidos normales y neoplásicos, como complemento de la histopatología tradicional con tinciones histoquímicas no inmunológicas.

Limitaciones generales

La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico en varias fases que abarca: la formación especializada en la selección de los reactivos apropiados, la selección, fijación y procesamiento de tejidos, la preparación del portaobjeto para IHC, y la interpretación de los resultados de la tinción.

La tinción de los tejidos depende de la manipulación y el procesamiento del tejido previos a la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento o seccionamiento incorrectos, o la contaminación con otros tejidos o líquidos pueden generar artefactos, atrapamiento del anticuerpo o falsos negativos. La aparición de resultados incoherentes puede deberse a variaciones en los métodos de fijación y de inclusión, o a irregularidades inherentes al tejido.⁴

La tinción de contraste excesiva o incompleta puede dificultar la interpretación correcta de los resultados.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de la ausencia de esta debe complementarse con estudios morfológicos usando controles adecuados y debe evaluarla un patólogo cualificado junto con el historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Los anticuerpos de Leica Biosystems Newcastle Ltd son para utilizarlos, según se indique, con secciones congeladas o embebidas en parafina, con requisitos de fijación específicos. Puede producirse una expresión inesperada del antígeno, especialmente en las neoplasias. La interpretación clínica de cualquier sección de tejido teñida debe incluir un análisis morfológico y la evaluación de los controles apropiados.

Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma. *Modern Pathology*. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2009; 120 (3); 777-782.

Cambios con respecto a la edición anterior

N/A

Fecha de publicación

03 de mayo de 2019

Novocastra™ Anticorpo Monoclonal Líquido de Rato Mismatch Repair Protein 2 (MSH2) Código do produto: NCL-L-MSH2-612

Utilização prevista

Para uso em diagnóstico in vitro.

O NCL-L-MSH2-612 foi concebido para efetuar a identificação qualitativa, da proteína de reparação de erros de emparelhamento 2 (MSH2) por microscopia óptica em cortes em parafina. A interpretação clínica de qualquer coloração, ou da sua ausência, deve ser complementada por estudos morfológicos empregando os devidos controlos e deve ser avaliada por um patologista qualificado dentro do contexto do historial clínico do doente e de outros testes de diagnóstico.

Princípios do procedimento

As técnicas de coloração imunohistoquímica (IHC) permitem que se faça a visualização de antígenos por meio da aplicação sequencial de um anticorpo específico ao antígeno (o anticorpo primário), de um anticorpo secundário ao anticorpo primário e de um complexo enzimático com um substrato cromogénico com etapas de lavagem de permeio. A ativação enzimática do cromogénio resulta num produto de reação visível no local do antígeno. A amostra pode então ser contrastada e coberta com uma lamela. Os resultados são interpretados por meio de um microscópio óptico e ajudam a formular o diagnóstico diferencial de processos fisiopatológicos, os quais podem ou não estar associados a antígenos específicos.

Clone

79H11

Imunogénico

Proteína recombinante procariótica correspondente uma região de 304 aminoácidos do terminal N da molécula MSH2 humana.

Especificidade

Molécula MSH2 humana.

Composição do reagente

NCL-L-MSH2-612 é um sobrenadante líquido da cultura de um tecido contendo azida de sódio como produto conservante.

Classe de Ig

Ig-G1

Concentração total de proteína

Total Protein

Consultar a etiqueta da ampola para determinar a concentração total de proteína do lote específico.

Concentração de anticorpo

Igual ou superior a 45 mg/L, conforme determinado por ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay - Ensaio de imunoabsorção enzimática). Consultar a etiqueta da ampola para determinar a concentração de Ig do lote específico.

Recomendações sobre a utilização

Imunohistoquímica em cortes de parafina.

Recuperação de epitopo induzida por calor (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Siga as instruções de utilização de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

Diluição sugerida: 1:80 durante 30 minutos a 25°C. Esta recomendação serve apenas de orientação, e os utilizadores devem determinar as suas diluições ótimas de trabalho.

Visualização: Siga as instruções de utilização de Novolink™ Polymer Detection Systems. Para mais informações sobre produtos ou suporte, entre em contacto com o distribuidor local ou escritório regional da Leica Biosystems, ou, alternativamente, visitar o sítio web de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

O desempenho deste anticorpo deve ser validado quando utilizado com outros sistemas manuais de coloração ou plataformas automáticas.

Armazenamento e Estabilidade

Armazenar a 2–8 °C. Não congelar. Retomar temperatura de 2–8 °C imediatamente após a utilização. Não utilizar após o prazo de validade indicado no rótulo do recipiente. As condições de armazenamento que diferem das que se encontram especificadas acima devem ser verificadas pelo utilizador.

Preparação das amostras

O fixador recomendado é formol tamponado neutro a 10% para secções de tecido envolvidas em parafina.

Avisos e precauções

Este reagente foi preparado a partir de sobrenadante de cultura celular. Visto ser um produto biológico, deve ser manuseado com o devido cuidado.

Este reagente contém azida sódica. Encontra-se disponível uma Ficha de Dados de Segurança do Material, mediante pedido ou através do site www.LeicaBiosystems.com.

Consultar a legislação aplicável em relação à eliminação de quaisquer componentes potencialmente tóxicos.

As amostras, antes e depois da fixação, bem como todos os materiais expostos às mesmas devem ser manuseados como passíveis de transmitir infeções e eliminados com as devidas precauções.¹ Nunca pipetar os reagentes com a boca e evitar o contacto da pele e das membranas mucosas com os reagentes e amostras. Caso os reagentes ou as amostras entrarem em contacto com áreas sensíveis, lave com água abundante. Procure assistência médica.

Minimize a contaminação microbiana dos reagentes, senão poderá ocorrer um aumento da coloração não específica.

Períodos de incubação ou temperaturas diferentes dos que foram especificados podem originar resultados erróneos. Qualquer alteração deste tipo tem de ser validada pelo utilizador.

Controlo de qualidade

As diferenças no processamento de tecidos e nos procedimentos técnicos no laboratório do utilizador podem resultar em variações significativas nos resultados, requerendo a realização frequente de controlos internos, suplementares aos procedimentos que se seguem.

Os controlos devem ser amostras de autópsia/biopsia/cirurgia, fixadas com formol, processadas e envolvidas em parafina assim que possível, tal como a(s) amostra(s) do doente.

Controlo de tecido positivo

Utilizado para assinalar os tecidos corretamente preparados e as técnicas de coloração adequadas.

Cada conjunto de condições de testes, em cada processo de coloração, deve incluir um controlo de tecido positivo.

Os tecidos com uma coloração positiva fraca são mais indicados do que os têm uma coloração positiva forte para proporcionarem um controlo de qualidade ótimo, bem como para detetar níveis reduzidos de degradação dos reagentes.²

O tecido de controlo positivo recomendado é o tecido dos intestinos.

Se o controlo de tecido positivo não demonstrar uma coloração positiva, os resultados obtidos com as amostras de testes devem ser considerados inválidos.

Controlo de tecido negativo

Deve ser examinado após o controlo de tecido positivo para verificar a especificidade da marcação do antígeno-alvo pelo anticorpo primário. O tecido de controlo negativo recomendado é o músculo esquelético.

Em alternativa, a variedade de diferentes tipos de células presentes na maioria dos cortes de tecido oferece frequentemente locais de controlo negativo, mas tal situação deve ser verificada pelo utilizador.

A coloração não específica, caso ocorra, tem, geralmente, uma aparência difusa. É possível também observar coloração esporádica do tecido conjuntivo em cortes de tecidos fixados com formol em excesso. Devem utilizar-se células intactas para a interpretação de resultados da coloração. Células necróticas ou degeneradas originam muitas vezes uma coloração não específica.³ Os resultados falsos positivos podem ser observados devido à ligação não imunológica de proteínas ou produtos de reação do substrato.

Esses resultados também podem ser causados por enzimas endógenas, como a pseudoperoxidase (eritrócitos), peroxidase endógena (citocromo C) ou biotina endógena (p. ex., fígado, mama, cérebro, rim), dependendo do tipo de imunocoloração usado. Para diferenciação a atividade enzimática endógena ou a ligação não específica de enzimas da imunoreatividade específica, podem corar-se tecidos dos doentes adicionais exclusivamente com substrato cromogénio ou complexos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímero marcado) e substrato-cromogénio, respetivamente. Se ocorrer coloração específica no controlo de tecido negativo, os resultados com as amostras do doente devem ser considerados inválidos.

Controlo de reagente negativo

Utilizar o controlo de reagente negativo não específico em vez do anticorpo primário com uma secção de cada amostra de doente para avaliar a coloração não específica e permitir uma melhor interpretação da coloração específica no local do antígeno.

Tecido do doente

Examinar as amostras do doente coloridas com NCL-L-MSH2-612 em último lugar. A intensidade da coloração positiva deve ser avaliada dentro do contexto de qualquer coloração não específica de fundo do controlo de reagente negativo. Como em qualquer teste imuno-histoquímico, um resultado negativo significa que o antígeno não foi detetado e não que estava ausente nas células/tecidos examinados. Se necessário, deve utilizar-se um painel de anticorpos para identificar reações falso-negativas.

Resultados previstos

Tecidos normais

O clone 79H11 detetou a incompatibilidade de proteínas de reparo 2 (MSH2) nos núcleos das células de vários tecidos, incluindo o cérebro, cerebelo, glândula adrenal, colo do útero, ovário, pâncreas, ganglionar, glândula pituitária, testículos, tireoide, mama, amígdalas, timo, baço, medula óssea, muscular, pulmão, esófago, estômago, intestino delgado, cólon, fígado, glândula salivar, rim, próstata, endométrio, pele, nervo, o mesotélio, olho, paratiroide, laringe e bexiga. (Número total de tecidos normais avaliados = 105).

Tecidos anormais

O clone 79H11 corou 5/8 carcinomas de cólon (incluindo 4/4 carcinomas colorretais, 0/3 carcinomas colorretais negativos conhecidos MSH2 e 1/1 adenocarcinomas mucosos) 5/5 adenocarcinomas da vesícula biliar, 3/3 astrocitomas, 3/3 carcinomas de células escamosas do esófago, 3/3 adenocarcinomas do estômago, 3/3 adenocarcinomas de pulmão, 3/3 adenocarcinomas pancreáticos, 3/3 carcinomas de células claras do rim, 3/3 carcinomas de células de transição da bexiga, 3/3 carcinomas de células escamosas do colo do útero, 3/3 carcinomas ductais de mama invasivos, 2/2 carcinomas papilares da tireoide, 2/2 adenocarcinomas da próstata (número total de casos avaliados = 44).

O NCL-L-MSH2-612 é recomendado para a deteção da proteína MSH2 em tecidos normais e neoplásicos, como auxiliar da histopatologia convencional, através da utilização de corantes histoquímicos não imunológicos.

Limitações gerais

A imunohistoquímica é um processo de diagnóstico em múltiplas etapas que consta de formação especializada na seleção dos reagentes adequados: seleção, fixação e processamento de tecidos; preparação das lâminas de IHC e interpretação dos resultados da coloração.

A coloração dos tecidos depende do seu manuseamento e processamento antes da coloração. A fixação, congelamento, descongelamento, lavagem, secagem, aquecimento ou corte incorretos das amostras ou a sua contaminação com outros tecidos ou fluidos podem produzir artefactos, retenção de anticorpos ou resultados falsos negativos. Os resultados inconsistentes podem dever-se a variações nos métodos de fixação e envolvimento ou a irregularidades inerentes ao tecido.⁴

Uma contrastação excessiva ou incompleta pode comprometer a correta interpretação dos resultados.

A interpretação clínica de qualquer coloração, ou da sua ausência, deve ser complementada por estudos morfológicos empregando os devidos controlos e deve ser avaliada por um patologista qualificado, dentro do contexto do historial clínico do doente e de outros testes de diagnóstico.

Os anticorpos da Leica Biosystems Newcastle Ltd destinam-se a ser utilizados, conforme indicado, em secções de tecido congeladas ou envolvidas em parafina com requisitos de fixação específicos. Pode ocorrer uma expressão inesperada de antígenos, especialmente em neoplasmas. A interpretação clínica de qualquer secção e de tecido colorido deverá incluir a análise morfológica e a avaliação dos controlos apropriados.

Bibliografia - Geral

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma. Modern Pathology. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Breast Cancer Research and Treatment. 2009; 120 (3); 777-782.

Alterações à dição anterior

N/A

Data de Publicação

03 de Maio de 2019

Novocastra™ flytande monoklonal antikropp från mus Mismatch Repair Protein 2 (MSH2)

Produktkod: NCL-L-MSH2-612

Avsedd användning

För in vitro diagnostisk användning.

NCL-L-MSH2-612 är avsedd för kvalitativ identifiering med ljusmikroskopi av Mismatch Repair Protein 2 (MSH2) i paraffinsnitt. Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras med morfologiska studier som använder korrekta kontroller och utvärderas av kvalificerad patolog inom ramen för patientens kliniska anamnes och andra diagnostiska tester.

Testprincip

Immunhistokemiska (IHC) färgningstekniker tillåter visualisering av antigener genom sekventiell tillämpning av en specifik antikropp till antigenen (primär antikropp), en sekundär antikropp till den primära antikroppen och ett enzymkomplex med ett kromogent substrat med inlagda tvättsteg. Den enzymatiska aktiveringen av kromogenet resulterar i en synlig reaktionsprodukt vid antigenområdet. Provet kan sedan kontrastfärgas och förses med täckglas. Resultaten tolkas med användning av ett ljusmikroskop och underlättar differentialdiagnostiken av patofysiologiska processer, vilka kan eller behöver inte associeras med ett visst antigen.

Klon

79H11

Immunogen

Prokaryotiskt rekombinant protein motsvarande 304 aminosyror av den N-terminala regionen av den humana MSH2-molekylen.

Specifitet

Human MSH2.

Reagensinnehåll

NCL-L-MSH2-612 är en flytande vävnadskultursupernatant som innehåller natriumazid som konserveringsmedel.

Ig-klass

Ig G1

Total proteinkoncentration

Total Protein

Se flaskans etikett för specifik total proteinkoncentration för satsen.

Antikropps-koncentration

Större än eller lika med 45 mg/L fastställt genom ELISA. Se flaskans etikett för specifik Ig-koncentration för satsen.

Rekommendationer vid användning

Immunhistokemi på paraffinsnitt.

Värmeinducerad epitopåtervinning (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Följ bruksanvisningen för Novocastra Epitope Retrieval pH 9.

Föreslagen spädning: 1:80 under 30 minuter vid 25 °C. Detta är endast en riktlinje och användare bör själva fastställa den optimala bruksspädningen.

Visualisering: Följ bruksanvisningen i Novolink™ Polymer Detection Systems. För ytterligare produktinformation eller -stöd, kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor, eller besök Leica Biosystems webbplatsen, www.LeicaBiosystems.com

Denna antikropps prestanda ska valideras när den används med andra manuella infärgningssystem eller automatiserade plattformar.

Förvaring och stabilitet

Förvara vid 2–8 °C. Får ej frysas. Återgå till 2–8 °C direkt efter användning. Använd inte efter det utgångsdatum som finns angivet på flaskans etikett. Förvaringsförhållanden som skiljer sig från de ovannämnda måste kontrolleras av användaren.

Preparation av prov

Rekommenderat fixeringsmedel för paraffinbäddade vävnadssnitt är 10 % neutralbuffrat formalin.

Varningar och försiktighet

Reagenset har förberetts från supernatanten av vävnadsodlingar. Eftersom det är en biologisk produkt bör skälig försiktighet iakttas vid hantering.

Detta reagens innehåller natriumazid. Materialsäkerhetsdatablad finns att få på begäran eller från www.LeicaBiosystems.com

För kassering av potentiellt toxiska komponenter hänvisas till nationella eller lokala bestämmelser.

Före och efter fixering bör prover och alla material som har varit utsatta för dem hanteras som om det finns risk för att de kan överföra infektioner och kasseras med iakttagande av försiktighet.¹ Pipettera aldrig reagenser med munnen och se till att huden och slemhinnorna inte kommer i kontakt med reagens och prover. Om reagens eller prover skulle komma i kontakt med känsliga områden bör du tvätta dig med rikliga mängder vatten. Rädgör med läkare.

Minimera mikrobisk kontaminering av reagens annars kan en ökning av ospecifik färgning ske.

Inkubationstider eller -temperaturer som skiljer sig från dem som specificeras kan ge felaktiga resultat. Alla sådana förändringar måste kontrolleras av användaren.

Kvalitetskontroll

Skillnader i vävnadsbehandling och tekniska metoder i användarens laboratorium kan ge stor variation i resultaten vilket kan göra det nödvändigt att genomföra regelbundna interna kontroller utöver följande metoder.

Kontroller bör vara färskva obduktions-/biopsi-/kirurgi prover som snarast möjligt formalinfixeras, bearbetas och paraffinbäddas på samma sätt som patientprover.

Positiv vävnadskontroll

Används för att ange korrekt preparerade vävnader och riktiga färgningstekniker.

En positiv vävnadskontroll bör ingå i varje uppsättning av testförhållanden vid varje färgningskörning.

En vävnad med svag positiv färgning är mer lämplig för optimal kvalitetskontroll och för att upptäcka låga nivåer av reagensdegradering än en vävnad med stark positiv färgning.²

Rekommenderad positiv kontrollvävnad är tarm

Om den positiva vävnadskontrollen inte uppvisar positiv färgning bör resultat med testproverna anses vara ogiltiga.

Negativ vävnadskontroll

Bör undersökas efter den positiva vävnadskontrollen för att fastställa specificiteten för märkningen av målantigenet med den primära antikroppen. Rekommenderad negativ kontrollvävnad är skelettmuskulatur.

Alternativt ger ofta en mängd olika celltyper som finns i de flesta vävnadssnitt negativa kontrollområden men detta bör kontrolleras av användaren.

Icke-specifik färgning, om det förekommer, har vanligtvis ett diffust utseende. Sporadisk färgning av bindväv kan också observeras i snitt från överflödigt formalinfixerade vävnader. Använd intakta celler för tolkning av färgningsresultat. Nekrotiska eller degenererade celler färgas ofta ospecifikt.³ Falskt positiva resultat kan uppstå p.g.a. icke-immunologisk bindning av proteiner eller substratreaktionsprodukter.

De kan också orsakas av endogena enzymer som pseudoperoxidas (erythrocyter), endogent peroxid (cytokrom C) eller endogent biotin (t.ex. lever, bröst, hjärna, njure) beroende på typ av immunfärgning som används. För att skilja

endogen enzymaktivitet eller ospecifik enzymbindning från specifik immunreaktivitet kan ytterligare patientvävnader färgas exklusivt med respektive substratkromogen eller enzymkomplex (avidin-biotin, streptavidin, märkt polymer) och substratreaktionsprodukt. Om specifik färgning sker i den negativa vävnadskontrollen bör resultat med patientprover anses vara ogiltiga.

Negativ reagenskontroll

Använd en ospecifik negativ reagenskontroll istället för den primära antikroppen med ett snitt från varje patientprov för att utvärdera ospecifik färgning och tillåta bättre tolkning av specifik färgning på antigenområdet.

Patientvävnad

Undersök patientprov som färgats med NCL-L-MSH2-612 sist. Positiv färgningsintensitet ska bedömas inom ramen för all ospecifik bakgrundsfärgning av den negativa reagenskontrollen. Som vid alla immunhistokemiska tester betyder ett negativt resultat att antigenet inte upptäcktes och inte att det inte förekom i de analyserade cellerna/vävnaderna. Använd vid behov en panel av antikroppar för att identifiera falskt negativa reaktioner.

Förväntade resultat

Normala vävnader

Klon 79H11 detekterade Mismatch Repair Protein 2 (MSH2) i cellkärnor från ett flertal olika vävnader, bland annat cerebrum, cerebellum, binjura, livmoderhals, äggstock, bukspottskörtel, lymfknotna, hypofys, testikel, sköldkörtel, bröst, mjälte, tonsill, bröst, benmärg, lunga, muskel matstrupe, magsäck, tunntarm, tjocktarm, lever, salivkörtel, njure, prostata, endometrium, hud, nerver, mesothelium, öga, struphuvud, bisköldkörtel och urinblåsa. (Totalt antal utvärderade vävnader = 105).

Onormala vävnader

Klon 79H11 färgade 5/8 tjocktarmskarcinom (inklusive 4/4 kolorektala karcinom, 0/3 kända MSH2-negativa kolorektala karcinom och 1/1 mucinösa adenokarcinom) 5/5 adenokarcinom i urinblåsan, 3/3 astrocytom, 3/3 skivcellskarcinom i esofagus, 3/3 adenokarcinom i magsäcken, 3/3 lungadenokarcinom, 3/3 pankreatiska adenokarcinom, 3/3 clear-cellskarcinom i njure, 3/3 transitional-cell-karcinom i urinblåsan, 3/3 skivcellskarcinom i livmoderhalsen, 3/3 invasiva ductalkarcinom i bröstet, 2/2 papillära sköldkörtelkarcinom, 2/2 prostataadenokarcinom (totalt antal utvärderade fall = 44).

NCL-L-MSH2-612 rekommenderas för detektering av MSH2-protein i normala och neoplastiska vävnader, som tillägg till konventionell histopatologi med användande av icke-immunologiska histokemiska färgstoffer.

Allmänna begränsningar

Immunhistokemi är en diagnostisk process i flera steg som kräver specialiserad utbildning i urvalet av lämpliga reagens, val av vävnad, fixering och bearbetning, förberedelse av IHC-objektglas samt tolkning av färgningsresultaten.

Vävnadsfärgning påverkas av hantering och bearbetning av vävnaden före färgningen. Felaktig fixering, nedfrysning, upptining, tvättning, torkning, uppvärmning, snittning eller kontaminerat av andra vävnader eller vätskor kan framställa artefakter, infångande av antikroppar eller falskt negativa resultat. Motsägelsefulla resultat kan bero på variationer av fixerings- och inbäddningsmetoder eller på naturliga oregelbundenheter i vävnaden.⁴

Överflödigt eller ofullständig kontrastfärgning kan försvåra en korrekt tolkning av resultatet.

Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras med morfologiska studier som använder korrekta kontroller och utvärderas av kvalificerad patolog inom ramen för patientens kliniska anamnes och andra diagnostiska tester.

Antikroppar från Leica Biosystems Newcastle Ltd är till för användning så som anges på antingen frysta eller paraffinbäddade snitt med specifika fixeringskrav. Övrigt antigenuttryck kan ske, speciellt i neoplasmer. Morfologisk analys och utvärdering av lämpliga kontroller måste ingå i den kliniska tolkningen av alla färgade vävnadssnitt.

Bibliografi – allmän

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjj M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma. *Modern Pathology*. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2009; 120 (3); 777-782.

Rättelser av tidigare utgivning

Ej tillämpligt

Utgivningsdatum

03 maj 2019

Υγρό μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού Novocastra™ Mismatch Repair Protein 2 (MSH2) Κωδικός προϊόντος: NCL-L-MSH2-612

Χρήση για την οποία προορίζεται

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

Το NCL-L-MSH2-612 προορίζεται για την ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός της πρωτεΐνης επιδιόρθωσης αταίριαστων ζευγών βάσεων 2 (MSH2) σε τομές παραφίνης. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή της απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες που χρησιμοποιούν σωστούς μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολογοανατόμο.

Αρχή της διαδικασίας

Οι τεχνικές ανοσοϊστοχημικής χρώσης (IHC) επιτρέπουν την οπτικοποίηση των αντιγόνων μέσω της διαδοχικής εφαρμογής ενός ειδικού αντισώματος στο αντιγόνο (πρωτοταγές αντίσωμα), ενός δευτεροταγούς αντισώματος στο πρωτοταγές αντίσωμα και ενός ενζυμικού συμπλόκου με χρωμογόνο υπόστρωμα με παρεμβαλλόμενα βήματα πλύσης. Η ενζυμική ενεργοποίηση του χρωμογόνου έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό ενός ορατού προϊόντος αντίδρασης στη θέση του αντιγόνου. Το δείγμα μπορεί κατόπιν να υποβληθεί σε αντίχρωση και να καλυφθεί με καλυπτρίδα. Τα αποτελέσματα ερμηνεύονται με χρήση μικροσκοπίου φωτός και βοηθούν στη διαφορική διάγνωση παθοφυσιολογικών εξεργασιών, οι οποίες ενδέχεται ή όχι να σχετίζονται με ένα συγκεκριμένο αντιγόνο.

Κλώνος

79H11

Ανοσογόνο

Προκαρμυτική ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη που αντιστοιχεί σε περιοχή 304 αμινοξέων του αμινοτελικού άκρου του μορίου της ανθρώπινης MSH2.

Ειδικότητα

Ανθρώπινη MSH2.

Σύνθεση αντιδραστηρίου

Το NCL-L-MSH2-612 είναι ένα υγρό υπερκείμενο ιστοκαλλιέργειας που περιέχει αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

Τάξη Ig

Ig G1

Ολική συγκέντρωση πρωτεΐνης Total Protein

Για την ολική συγκέντρωση πρωτεΐνης που είναι ειδική για την εκάστοτε παρτίδα, ανατρέξτε στην ετικέτα του φιαλιδίου.

Συγκέντρωση αντισώματος

Μεγαλύτερη ή ίση με 45 mg/l, όπως προσδιορίζεται με ELISA. Για τη συγκέντρωση Ig που είναι ειδική για την εκάστοτε παρτίδα, ανατρέξτε στην ετικέτα του φιαλιδίου.

Συστάσεις για τη χρήση

Ανοσοϊστοχημεία σε τομές παραφίνης.

Ανάκτηση επιτόπου επαγόμενη με θερμότητα (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Ακολουθήστε τις οδηγίες χρήσης του Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

Προτεινόμενη διάλυση: 1:80 για 30 λεπτά σε 25 °C. Παρέχεται ως οδηγός και οι χρήστες θα πρέπει να καθορίζουν τις δικές τους βέλτιστες διαλύσεις εργασίας.

Οπτικοποίηση: Παρακαλούμε ακολουθήστε τις οδηγίες χρήσης του Novolink™ Polymer Detection Systems. Για περισσότερες πληροφορίες για το προϊόν ή για υποστήριξη, επικοινωνήστε με τον τοπικό σας διανομέα ή το περιφερειακό γραφείο της Leica Biosystems ή εναλλακτικά επισκεφθείτε τον ιστότοπο της Leica Biosystems,

www.LeicaBiosystems.com

Η απόδοση του συγκεκριμένου αντισώματος θα πρέπει να επικυρωθεί όταν χρησιμοποιηθεί μαζί με άλλα μη αυτόματα συστήματα χρώσης ή αυτοματοποιημένες πλατφόρμες.

Φύλαξη και σταθερότητα

Φυλάσσετε στους 2–8 °C. Μην καταψύχετε. Επαναφέρετε το προϊόν στους 2–8 °C αμέσως μετά τη χρήση. Μη χρησιμοποιείτε μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του φιαλιδίου. Τυχόν συνθήκες φύλαξης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται παραπάνω πρέπει να επαληθεύονται από τον χρήστη.

Παρασκευή δείγματος

Το συνιστώμενο μονιμοποιητικό είναι ουδέτερο ρυθμιστικό διάλυμα φορμαλίνης 10% για τομές ιστού εγκλεισμένες σε παραφίνη.

Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

Το αντιδραστήριο αυτό έχει παρασκευαστεί από το υπερκείμενο κυτταροκαλλιέργειας. Επειδή είναι βιολογικό προϊόν, θα πρέπει να δίνεται εύλογη προσοχή κατά τον χειρισμό του.

Αυτό το αντιδραστήριο περιέχει αζίδιο του νατρίου. Δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού διατίθεται κατόπιν αιτήματος ή από τη διεύθυνση www.LeicaBiosystems.com.

Συμβουλευτείτε τους ομοσπονδιακούς, πολιτειακούς ή τοπικούς κανονισμούς για απόρριψη τυχόν δυνητικών τοξικών συστατικών. Ο χειρισμός δειγμάτων, πριν και μετά τη μονιμοποίηση, καθώς και όλων των υλικών που έχουν εκτεθεί σε αυτά, θα πρέπει να γίνεται ως εάν ήταν δυνητικά μετάδοσης λοίμωξης και η απόρριψή τους να πραγματοποιείται λαμβάνοντας τις σωστές προφυλάξεις.¹ Μην αναρροφάτε ποτέ με πιπέτα αντιδραστήρια με το στόμα και αποφύγετε την επαφή του δέρματος και των βλεννογόνων με αντιδραστήρια και δείγματα. Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έλθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφθονες ποσότητες νερού. Ζητήστε τη συμβουλή ιατρού.

Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διότι ενδέχεται να συμβεί αύξηση μη ειδικής χρώσης.

Χρόνοι ή θερμοκρασίες επώασης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται ενδέχεται να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα.

Τυχόν τέτοιες μεταβολές πρέπει να επικυρώνονται από τον χρήστη.

Ποιοτικός έλεγχος

Τυχόν διαφορές στην ετερογενεσία των ιστών και τις τεχνικές διαδικασίες στο εργαστήριο του χρήστη ενδέχεται να προκαλέσουν σημαντική μεταβλητότητα στα αποτελέσματα, καθιστώντας αναγκαία την τακτική εκτέλεση εσωτερικών ελέγχων επιπλέον των ακόλουθων διαδικασιών.

Οι μάρτυρες θα πρέπει να είναι φρέσκα δείγματα νεκροψίας/βιοψίας/χειρουργικά δείγματα, τα οποία είναι μονιμοποιημένα σε φορμαλίνη, επεξεργασμένα και εγκλεισμένα σε κηρό παραφίνης, το συντομότερο δυνατό με τον ίδιο τρόπο με το(α) δείγμα(τα) του ασθενούς.

Θετικός μάρτυρας ιστού

Χρησιμοποιείται για να υποδεικνύει σωστά παρασκευασμένους ιστούς και σωστές τεχνικές χρώσης.

Θα πρέπει να περιλαμβάνεται ένας θετικός μάρτυρας ιστού για κάθε σύνολο συνθηκών εξέτασης σε κάθε εκτέλεση χρώσης.

Ένας ιστός με ασθενή θετική χρώση είναι πιο κατάλληλος από έναν ιστό με ισχυρή θετική χρώση για βέλτιστο έλεγχο ποιότητας και για την ανίχνευση πολύ μικρών επιπέδων τυχόν αποδόμησης των αντιδραστηρίων.²

Συνιστάμενος ιστός ως θετικός μάρτυρας είναι το έντερο.

Εάν ο θετικός μάρτυρας ιστού δεν παρουσιάζει θετική χρώση, τα αποτελέσματα με τα δείγματα της εξέτασης θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

Αρνητικός μάρτυρας ιστού

Θα πρέπει να εξετάζεται μετά τον θετικό μάρτυρα ιστού για την επαλήθευση της ειδικότητας της επισήμανσης του αντιγόνου-στόχου από το πρωτοταγές αντίσωμα. Συνιστάμενος ιστός αρνητικού μάρτυρα είναι ο σκελετικός χόνδρος.

Εναλλακτικά, η ποικιλία διαφορετικών κυτταρικών τύπων που υπάρχουν στις περισσότερες τομές ιστών παρέχει συχνά θέσεις αρνητικού μάρτυρα, αλλά αυτό θα πρέπει να επαληθεύεται από τον χρήστη.

Μη ειδική χρώση, εάν υπάρχει, έχει συνήθως διάχυτη εμφάνιση. Ενδέχεται επίσης να παρατηρηθεί σποραδική χρώση του συνδεδειγμένου ιστού σε τομές από ιστούς που έχουν μονιμοποιηθεί με υπερβολική ποσότητα φορμαλίνης. Χρησιμοποιείτε άθικτα κύτταρα για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της χρώσης. Νεκρωτικά ή εκφυλισμένα κύτταρα παρουσιάζουν συχνά μη ειδική χρώση.³ Ενδέχεται να παρατηρηθούν ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω μη ανοσολογικής δέσμευσης των πρωτεϊνών ή των προϊόντων αντίδρασης του υποστρώματος.

Ενδέχεται επίσης να προκληθούν από ενδογενή ένζυμα, όπως η ψευδοϊπεροξειδάση (ερυθροκύτταρα), η ενδογενής υπεροξειδάση (κυτόχρωμα C) ή η ενδογενής βιοτίνη (π.χ., ήπαρ, μαστός, εγκέφαλος, νεφρός) ανάλογα με τον τύπο ανοσοχρώσης που χρησιμοποιείται. Για τη διαφοροποίηση

της ενδογενούς ενζυμικής δραστηριότητας ή της μη ειδικής δέσμευσης των ενζύμων από ειδική ανοσοαντιδραστικότητα, είναι δυνατό να χρωματιστούν αποκλειστικά επιπλέον ιστοί ασθενών με χρωμογόνο υποστρώματος ή ενζυμικά σύμπλοκα (αβιδίνη-βιοτίνη, στρεπταβιδίνη, σημασμένο πολυμερές) και υπόστρωμα-χρωμογόνο, αντίστοιχα. Εάν παρουσιαστεί ειδική χρώση στον αρνητικό μάρτυρα ιστού, τα αποτελέσματα με τα δείγματα ασθενούς θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

Αρνητικός μάρτυρας αντιδραστήριου

Χρησιμοποιείτε έναν μη ειδικό αρνητικό μάρτυρα αντιδραστήριου αντί του πρωτοταγούς αντισώματος με μια τομή κάθε δείγματος ασθενούς για την αξιολόγηση μη ειδικής χρώσης και για να επιβεβαιωθεί η καλύτερη ερμηνεία της ειδικής χρώσης στη θέση του αντιγόνου.

Ιστός ασθενούς

Εξετάστε τελευταία τα δείγματα ασθενούς που έχουν χρωματιστεί με το NCL-L-MSH2-612. Η ένταση της θετικής χρώσης θα πρέπει να εκτιμάται στο πλαίσιο τυχόν μη ειδικής χρώσης υποβάθρου του αρνητικού μάρτυρα αντιδραστήριου. Όπως συμβαίνει με οποιαδήποτε ανοσοϊστοχημική εξέταση, ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το αντιγόνο δεν ανιχνεύθηκε, όχι ότι το αντιγόνο δεν υπήρχε στα κύτταρα/στον ιστό που εξετάστηκε. Εάν είναι απαραίτητο, χρησιμοποιήστε μια σειρά αντισωμάτων για την αναγνώριση ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων.

Αναμενόμενα αποτελέσματα

Ο κλώνος φυσιολογικών ιστών

79H11 ανίχνευσε την πρωτεΐνη επιδιόρθωσης αταίριαστων ζευγών βάσεων 2 (MSH2) στον πυρήνα κυττάρων διαφόρων ιστών, στους οποίους συμπεριλαμβάνονται ο εγκέφαλος, η παρεγκεφαλίδα, τα επινεφρίδια, ο τράχηλος της μήτρας, οι ωθήκες, το πάγκρεας, ο λεμφαδένας, η υπόφυση, οι όρχις, ο θυρεοειδής, ο μαστός, ο σπλήνας, οι αμυγδαλές, ο θύμος αδένας, ο μυελός των οστών, ο πνεύμονας, ο μύς, ο οισοφάγος, ο στόμαχος, το λεπτό έντερο, το κόλον, το ήπαρ, οι σιελογόνοι αδένες, οι νεφροί, ο προστάτης, το ενδομήτριο, το δέρμα, τα νεύρα, το μεσοθήλιο, τα μάτια, ο λάρυγγας, οι παραθυρεοειδείς και η ουροδόχος κύστη. (Συνολικός αριθμός ιστών που αξιολογήθηκαν = 105).

Μη φυσιολογικοί ιστοί

που χρωμάτισε ο κλώνος 79H11 5/8 καρκινώματα του κόλου (συμπεριλαμβανομένου 4/4 κολοορθικών καρκινωμάτων, 0/3 γυναικών αρνητικών κολοορθικών καρκινωμάτων MSH2 1/1 βλενώδους αδενοκαρκινώματος) 5/5 αδενοκαρκινώματα της χοληδόχου κύστης, 3/3 αστροκύτταμα, 3/3 ακανθοκυτταρικά καρκινώματα του οισοφάγου, 3/3 αδενοκαρκινώματα του στομάχου, 3/3 αδενοκαρκινώματα των πνευμόνων, 3/3 παγκρεατικά αδενοκαρκινώματα, 3/3 διαγυκοκυτταρικά καρκινώματα του νεφρού, 3/3 καρκινώματα της ουροδόχου κύστης από το μεταβατικό επιθήλιο, 3/3 ακανθοκυτταρικών καρκινωμάτων της ουροδόχου κύστης, 3/3 διηθητικά, πορογενή καρκινώματα του μαστού, 2/2 θηλώδη καρκινώματα του θυρεοειδούς, 2/2 αδενοκαρκινώματα του προστάτη (συνολικός αριθμός των περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 44).

Το NCL-L-MSH2-612 συνιστάται για την ανίχνευση της πρωτεΐνης MSH2 σε φυσιολογικό και νεοπλασματικό ιστό, ως συμπλήρωμα της συμβατικής ιστοπαθολογίας χρησιμοποιώντας μη ανοσολογικές ιστοχημικές χρώσεις.

Γενικοί περιορισμοί

Η ανοσοϊστοχημεία είναι μια διαγνωστική διεργασία πολλαπλών βημάτων, η οποία αποτελείται από ειδικευμένη εκπαίδευση στην επιλογή των κατάλληλων αντιδραστηρίων, επιλογή ιστού, μονιμοποίηση και επεξεργασία, προετοιμασία της πλάκας IHC και ερμηνεία των αποτελεσμάτων της χρώσης.

Η χρώση του ιστού εξαρτάται από τον χειρισμό και την επεξεργασία του ιστού πριν από τη χρώση. Τυχόν εσφαλμένη μονιμοποίηση, κατάψυξη, απόψυξη, πλύση, στέγνωμα, θέρμανση, τομή ή μόλυνση με άλλους ιστούς ή υγρά ενδέχεται να παράγει μορφώματα, παγίδευση αντισώματος ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Τυχόν ασυνεπή αποτελέσματα ενδέχεται να οφείλονται σε παραλλαγές των μεθόδων μονιμοποίησης και εγκλεισμού ή σε εγγενείς ανωμαλίες εντός του ιστού.⁴

Τυχόν υπερβολική ή ατελής αντίχρωση ενδέχεται να διακυβευθεί τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή της απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες που χρησιμοποιούν σωστούς μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολογοανατόμο.

Τα αντισώματα που παρέχονται από την Leica Biosystems Newcastle Ltd προορίζονται για χρήση, όπως υποδεικνύεται, είτε σε κατεψυγμένες είτε σε εγκλεισμένες σε παραφίνη τομές, με ειδικές απαιτήσεις μονιμοποίησης. Ενδέχεται να παρουσιαστεί μη αναμενόμενη έκφραση αντιγόνου, ειδικά σε νεοπλασμάτα. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρωματισμένης τομής ιστού πρέπει να περιλαμβάνει μορφολογική ανάλυση και την αξιολόγηση των κατάλληλων μαρτύρων.

Βιβλιογραφία - Γενική

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavi M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma. Modern Pathology. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Breast Cancer Research and Treatment. 2009; 120 (3); 777-782.

Τροποποιήσεις στην προηγούμενη έκδοση

M/Δ

Ημερομηνία έκδοσης

03 Μαΐου 2019

Novocastra™ Flydende Murint Monoklonalt Antistof Mismatch Repair Protein 2 (MSH2)

Produktkode: NCL-L-MSH2-612

Tilsligtet brug

Til in vitro-diagnostisk anvendelse.

NCL-L-MSH2-612 er beregnet til kvalitativ identifikation med lysmikroskopi af Mismatch Repair Protein 2 (MSH2) i paraffinsnit. Den kliniske tolkning af farvning eller fravær deraf skal komplementeres af morfologiske undersøgelser med brug af passende kontroller og bør bedømmes inden for konteksten af patientens kliniske historie og andre diagnostiske test foretaget af en kvalificeret patolog.

Procedureprincip

Immunhistokemiske (IHC) farvningsteknikker muliggør visualisering af antigener via sekventiel påføring af et specifikt antistof på antigenet (det primære antistof), et sekundært antistof på det primære antistof og et enzymkompleks med et kromogent substrat med mellemiggende vasketrin. Den enzymatiske aktivering af kromogenet resulterer i et synligt reaktionsprodukt på antigenstedet. Præparatet kan derefter kontrastfarves og tildækkes med dækglas. Resultaterne tolkes ved brug af et lysmikroskop og hjælper til at stille en differentialdiagnose af patofysiologiske processer, som kan eller ikke kan være forbundet med et specifikt antigen.

Klon

79H11

Immunogen

Prokaryotisk rekombinant protein, der svarer til 304 aminosyrer af det N-terminale område af det humane MSH2-molekyle.

Specificitet

Humant MSH2.

Reagenssammensætning

NCL-L-MSH2-612 er en flydende vævskultursupernatant indeholdende natriumazid som konserveringsmiddel.

Ig-klasse

Ig G1

Total proteinkoncentration

Total Protein

Den partispesifikke totale proteinkoncentration kan findes på hætteglassets etiket.

Antistofkoncentration

Større end eller lig med 45 mg/l som bestemmer med ELISA. Den partispesifikke Ig-koncentration kan findes på hætteglassets etiket.

Anbefalinger vedrørende brug

Immunhistokemi på paraffinsnit.

Varmeinduceret epitodemaskering (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Følg venligst brugsanvisningen til Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 9.

Foreslået fortynding: 1:80 i 30 minutter ved 25 °C. Dette er kun vejledende, og brugerne skal bestemme deres egne optimale arbejdsopløsninger.

Visualisering: Følg brugsanvisningen til Novolink™ Polymer Detection Systems. For yderligere produktinformation eller support kan du kontakte din lokale forhandler eller regionskontoret til Leica Biosystems, eller du kan besøge Leica Biosystems' hjemmeside på www.LeicaBiosystems.com

Udførelsen af dette antistof bør valideres, når den anvendes sammen med andre manuelle farvningssystemer eller automatiserede platforme.

Opbevaring og stabilitet

Opbevares ved 2–8 °C. Må ikke nedfryses. Returner til 2–8 °C umiddelbart efter brug. Må ikke anvendes efter udløbsdatoen, der er angivet på hætteglassets etiket. Andre opbevaringsforhold end dem, der er specificeret herover, skal verificeres af brugeren.

Klargøring af prøver

Det anbefalede fikseringsmiddel er 10 % neutralbufferet formalin til paraffin-indlejrede vævssnit.

Advarsler og forholdsregler

Reagenset er fremstillet fra supernatantens cellekultur. Da det er et biologisk produkt, skal der udvises rimelig omhu, når det håndteres.

Reagenset indeholder natriumazid. Et Materialesikkerhedsdataark kan rekvireres eller findes på www.LeicaBiosystems.com

Bortskaffelse af potentielt toksiske komponenter skal ske i henhold til statslig eller lokal lovgivning.

Præparater, både før og efter fiksering, og alle materialer, som eksponeres for dem, skal håndteres som værende i stand til at overføre infektion og bortskaffes efter passende forholdsregler.¹ Pipettér aldrig reagenser med munden, og undgå, at reagenser og præparater kommer i kontakt med hud og slimhinder. Hvis reagenser eller præparater kommer i kontakt med følsomme områder, skal disse vaskes med rigelige mængder vand. Søg lægehjælp.

Mikrobiel kontamination af reagenser skal minimeres for at undgå en øget ikke-specifik farvning.

Inkuberingstider eller temperaturer, der er anderledes end de anførte, kan medføre fejlagtige resultater. Enhver ændring heraf skal valideres af brugeren.

Kvalitetskontrol

Forskelle i vævsbehandling og tekniske procedurer i brugerens laboratorium kan medføre en signifikant variation i resultaterne, der nødvendiggør regelmæssig udførelse af interne kontroller foruden følgende procedurer.

Kontrollerne skal være autopsi/biopsi/kirurgiske prøver, der formalin-fikseres, behandles og paraffinvoxs-indstøbes så hurtigt som muligt på samme måde som patientprøven/patientprøverne.

Positiv vævskontrol

Anvendes til visning af korrekt præparerede væv og korrekte farvningsteknikker.

Der skal inkluderes én positiv vævskontrol for hvert sæt af testbetingelser i hver farvningskørsel.

Et væv med svag positiv farvning er mere egnet end et væv med kraftig positiv farvning til optimal kvalitetskontrol og til detektion af mindre grader af reagensdegradering.²

Anbefalet positivt kontrolvæv er tarm

Hvis den positive vævskontrol ikke viser positiv farvning, bør resultaterne fra patientprøverne betragtes som ugyldige.

Negativ vævskontrol

Skal undersøges efter den positive vævskontrol for at verificere specificiteten af mærkningen af målantigenet ved hjælp af det primære antistof. Anbefalet væv til negativ kontrol er skeletmuskel.

Alternativt giver varieteten af forskellige celletyper, der er til stede i de fleste vævssnit, ofte negative kontrolsteder, men dette bør verificeres af brugeren.

Hvis der forekommer uspecifik farvning, har den ofte en diffus fremtoning. Sporadisk farvning af bindevæv kan også forekomme i snit fra kraftigt formalinfikserede væv. Brug intakte celler til tolkning af farvningsresultater. Nekrotiske eller degenererede celler farves ofte uspecifikt.³ Falsk positive resultater kan forekomme på grund af ikke-immunologisk binding af proteiner eller substratreaktionsprodukter.

De kan også skyldes endogene enzymer såsom pseudoperoxidase (erythrocytter), endogen peroxidase (cytochrom C) eller endogen biotin (f.eks. lever, bryst, hjjerne, nyre) afhængigt af den anvendte type immunfarvning. For at differentiere endogen enzymaktivitet eller ikke-specifik binding af enzymer fra specifik immunreaktivitet kan ekstra patientvæv farves eksklusivt med henholdsvis substratkromogen eller enzymkomplekser (avidin-biotin, streptavidin, mærkede polymer) og substratkromogen. Hvis der forekommer specifik farvning i den negative vævskontrol, bør resultaterne af patientprøverne betragtes som ugyldige.

Negativ reagenskontrol

Brug en uspecifik negativ reagenskontrol i stedet for det primære antistof sammen med et snit af hver patientprøve for at vurdere uspecifik farvning og åbne mulighed for en bedre tolkning af specifik farvning i antigenet.

Patientvæv

Undersøg patientprøver farvet med NCL-L-MSH2-612 sidst. Intensiteten af positiv farvning skal vurderes på baggrund af eventuel uspecifik baggrundsfarvning af den negative reagenskontrol. Som ved alle immunhistokemiske tests betyder et negativt resultat, at antigenet ikke blev påvist, ikke at antigenet var fraværende i de analyserede celler eller det analyserede væv. Brug om nødvendigt et panel af antistoffer til at identificere falske negative reaktioner.

Forventede resultater

Normale Væv

Klon 79H11 detekterede Mismatch repair protein 2 (MSH2) i kernerne fra celler fra flere væv, herunder cerebrum, cerebellum, binyren, livmoderhalsen, æggestok, bugspytkirtel, lymfeknude, hypofyse, testis, skjoldbruskkirtlen, bryst, milt, mandel, tymus, knoglemarv, lunge, muskel, spiserør, mave, tyndtarm, tyktarm, lever, spytkirtel, nyrer, prostata, endometrium, hud, nerve, mesothelium, øje, strubehoved, parathyroid og blære. (Samlet antal væv evalueret = 105).

Unormale Væv

Klon 79H11 farvede 5/8 coloncarcinomer (inklusive 4/4 kolorektale carcinomer, 0/3 kendte MSH2 negative kolorektale carcinomer og 1/1 mucinøs adenocarcinom) 5/5 galdeblære adenocarcinomer, 3/3 astrocytomer, 3/3 esophageal squamous cellcarcinomer, 3/3 mave adenocarcinomer, 3/3 lunge adenocarcinomer, 3/3 pancreas adenocarcinomer, 3/3 nyretarm cellecarcinomer, 3/3 blære overgangscellecarcinomer, 3/3 uterin cervical pladecellecarcinomer, 3/3 invasiv brystduktal carcinomer, 2/2 skjoldbruskkirtel-papillære carcinomer, 2/2 prostataadenocarcinomer (totalt antal tilfælde evalueret = 44).

NCL-L-MSH2-612 anbefales til påvisning af MSH2 protein i normale og neoplastiske væv, som et hjælpemiddel til traditionel histopatologi ved brug af ikke-immunologiske histokemiske farvninger.

Generelle begrænsninger

Immunhistokemi er en flertrins-diagnostisk proces, der består af specialiseret træning i valget af passende reagenser; vævsvalg, fiksering og forarbejdning; præparering af IHC-objektglasset og tolkning af farvningsresultaterne.

Vævsfarvning afhænger af håndteringen og behandlingen af vævet før farvningen. Ukorrekt fiksering, frysning, optøning, vask, tørring, opvarmning, skæring eller kontaminering med andre væv eller væsker kan frembringe artefakter, antistofindfangning eller falske negative resultater. Inkonsekvente resultater kan skyldes variationer i fikserings- og indlejningsmetoder eller til iboende uregelmæssigheder i vævet.⁴

Overdreven eller ufuldstændig modstandsdygtighed kan true korrekt fortolkning af resultaterne.

Den kliniske tolkning af en eventuel farvning eller fravær heraf skal suppleres med morfologiske undersøgelser ved anvendelse af passende kontroller og skal evalueres af en kvalificeret patolog på baggrund af patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests. Antistoffer fra Leica Biosystems Newcastle Ltd er til brug, som angivet, på enten frosne eller paraffin-indstøbte snit med specifikke fikseringskrav. Uventet antigenekspresion kan forekomme, især i neoplasmer. Den kliniske tolkning af et farvet vævssnit skal inkludere en morfologisk analyse og en evaluering af passende kontroller.

Bibliografi – Generel

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma. Modern Pathology. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Breast Cancer Research and Treatment. 2009; 120 (3); 777-782.

Ændringer til tidligere udgave

N/A

Udgivelsesdato

03 maj 2019

Novocastra™ Liquide Monoklonaal Murien Antilichaam Mismatch Repair Protein 2 (MSH2)

Productcode: NCL-L-MSH2-612

Beoogd gebruik

Voor diagnostisch in vitro gebruik.

NCL-L-MSH2-612 is bedoeld voor de kwalitatieve identificatie, met behulp van lichtmicroscopie, van Mismatch Repair Protein 2 (MSH2) in paraffinecoupes. De klinische interpretatie van een kleuring of de afwezigheid hiervan moet worden aangevuld met morfologische studies en de juiste controles. Ook moeten er evaluaties worden uitgevoerd binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests uitgevoerd door een bevoegd patholoog.

Principe van de procedure

Immunohistochemische (IHC) kleuringstechnieken maken het mogelijk om antigenen te visualiseren via de sequentiële toepassing van een specifiek antilichaam op het antigeen (primaire antilichaam), een secundair antilichaam op het primaire antilichaam en een enzymcomplex met een chromogeen substraat met ingevoegde wasstappen. De enzymatische activering van het chromogeen resulteert in een zichtbaar reactieproduct op de antigeenplaats. Het monster kan dan worden tegengekleurd en met een dekglasje worden bedekt. De resultaten worden geïnterpreteerd met behulp van een lichtmicroscop en helpen bij de differentiële diagnose van pathofysiologische processen, die al dan niet met een bepaald antigeen kunnen worden geassocieerd.

Kloon

79H11

Immunogeen

Prokaryotisch recombinant-eiwit dat overeenkomt met een gebied van 304 aminozuren van de N-terminus van het humane MSH2-molecuul.

Specificiteit

Humaan MSH2.

Reagensamenstelling

NCL-L-MSH2-612 is een vloeibaar supernatant uit weefselweek met natriumazide als conserveringsmiddel.

Ig-klasse

Ig G1

Totale eiwitconcentratie

Total Protein

Zie het etiket van de flacon voor de totale eiwitconcentratie van de partij.

Antilichaamconcentratie

Groter dan of gelijk aan 45 mg/l zoals bepaald door ELISA. Zie het etiket van de flacon voor de totale Ig-concentratie van de partij.

Aanbevelingen voor het gebruik

Immunohistochemie op paraffinecoupes.

Warme-geïnduceerd epitooferstel (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Volg de instructies voor het gebruik in Novocastra Epitope Retrieval pH 9.

Voorgestelde verdunning: 1:80 gedurende 30 minuten bij 25 °C. Dit is een richtsnoer en gebruikers moeten zelf de voor hen optimale werkverdunning bepalen.

Visualisatie: Volg de instructies voor het gebruik in de Novolink™ Polymer Detection Systems. Voor verdere productinformatie of advies neem contact op met uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems of bezoek in plaats daarvan de LEICA Biosystems-website: www.LeicaBiosystems.com

De prestaties van dit antilichaam moeten worden gevalideerd bij gebruik met andere handmatige kleuringssystemen of geautomatiseerde platformen.

Opslag en stabiliteit

Bewaren bij 2–8 °C. Niet invriezen. Direct na gebruik weer bij 2–8 °C opslaan. Niet gebruiken na de vervaldatum die op het etiket van de flacon staat. Andere dan de hierboven genoemde opslagcondities moeten door de gebruiker worden geverifieerd.

Specimenpreparatie

Het aanbevolen fixeringsmiddel is 10% neutraal gebufferde formaline voor in paraffine ingebedde weefselcoupes.

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

Dit reagens is bereid uit het supernatant van celweek. Aangezien dit een biologisch product is, moet redelijke voorzichtigheid worden betracht bij het hanteren ervan.

Dit reagens bevat natriumazide. Een veiligheidsinformatieblad is verkrijgbaar op aanvraag of op www.LeicaBiosystems.com
Raadpleeg de nationale, regionale en plaatselijke voorschriften voor het afvoeren van potentieel giftige componenten.

Monsters, zowel voor als na de fixatie, en alle materialen die aan de monsters zijn blootgesteld, moeten als infectieus materiaal worden beschouwd en moeten worden afgevoerd onder inachtneming van de juiste voorzorgsmaatregelen.¹ Pipetteer reagentia nooit met de mond en vermijd dat de huid en slijmvliezen in aanraking komen met reagentia en monsters. Indien reagentia of monsters in aanraking komen met gevoelige gebieden, spoel deze dan overvloedig met water. Raadpleeg een arts.

Minimaliseer de kans op microbiële contaminatie van reagentia, want dit kan de niet-specifieke kleuring verhogen.

Andere incubatietijden of temperaturen dan hierin vermeld, kunnen onjuiste resultaten opleveren. Dergelijke wijzigingen moeten door de gebruiker worden gevalideerd.

Kwaliteitscontrole

Verschillen in weefselbewerking en technische procedures in het laboratorium van de gebruiker kunnen tot aanzienlijke variabiliteit in de resultaten leiden, waardoor het nodig is om regelmatig interne controles uit te voeren als aanvulling op de volgende procedures.

Controles zijn verse autopsie-/biopsie-/chirurgische specimen die zo snel mogelijk en op dezelfde manier als het monster of de monsters van de patiënt zijn gefixeerd in formaline, bewerkt en ingebed in paraffinewas.

Positieve weefselcontrole

Wordt gebruikt om aan te geven dat weefsels correct geprepareerd zijn en dat passende kleuringstechnieken zijn gebruikt.

Voor elke set testvoorwaarden in elke kleuringrun moet één positieve weefselcontrole worden opgenomen.

Voor optimale kwaliteitscontrole en detectie van lichte degradatie van het reagens is een weefsel met zwakke positieve kleuring meer geschikt dan een weefsel met sterke positieve kleuring.²

Aanbevolen positief controleweefsel is darm.

Als de positieve weefselcontrole geen positieve kleuring vertoont, moeten de resultaten die met testspecimens zijn verkregen als ongeldig worden beschouwd.

Negatieve weefselcontrole

De negatieve weefselcontrole moet na de positieve weefselcontrole worden onderzocht om de specificiteit van de labeling van het doelantigeen door het primaire antilichaam te verifiëren. Aanbevolen negatieve weefselcontrole is skeletspier.

Aan de andere kant levert de verscheidenheid aan diverse celtypen die in de meeste weefselcoupes aanwezig zijn, vaak negatieve controlelocaties op, maar dit moet wel worden geverifieerd door de gebruiker.

Niet-specifieke kleuring, indien aanwezig, ziet er doorgaans diffuus uit. Een sporadische kleuring van bindweefsel kan ook worden waargenomen in coupes van overmatig in formaline gefixeerde weefsels. Gebruik intacte cellen voor het interpreteren van kleuringresultaten. Necrotische of gedegenererde cellen kleuren vaak niet-specifiek.³ Fout-positieve resultaten kunnen optreden als gevolg van niet-immunologische binding van eiwitten of substraatreactieproducten.

Ze kunnen ook worden veroorzaakt door endogene enzymen zoals pseudoperoxidase (erythrocyten), endogene peroxidase (cytochrom c) of endogeen biotine (bv. lever, borst, hersenen, nier), afhankelijk van het gebruikte type immunokleuring. Om activiteit van endogene enzymen of niet-specifieke binding van enzymen te onderscheiden van specifieke immunoreactiviteit, kunnen aanvullende patiëntweefsels worden gekleurd met respectievelijk uitsluitend substraatchromogeen of enzymcomplexen (avidine-biotine, streptavidine, gelabeld polymer) en substraatchromogeen. Als er specifieke kleuring optreedt in de negatieve weefselcontrole, moeten resultaten met de patiëntmonsters als ongeldig worden beschouwd.

Negatieve reagenscontrole

Gebruik een niet-specifieke negatieve reagenscontrole van het primaire antilichaam met een coupe van elk patiëntmonster om niet-specifieke kleuring te evalueren en specifieke kleuring op de antigeenlocatie beter te kunnen interpreteren.

Patiëntweefsel

Onderzoek de patiëntmonsters die met NCL-L-MSH2-612 zijn gekleurd het laatst. De positieve kleuringsintensiteit moet worden geëvalueerd binnen de context van niet-specifieke achtergrondkleuring van de negatieve reagenscontrole. Zoals bij elke immunohistochemische test betekent een negatief resultaat dat het antigeen niet is gedetecteerd. Het betekent niet dat het antigeen afwezig was in de onderzochte cellen of het onderzochte weefsel. Gebruik zo nodig een panel van antilichamen om fout-negatieve reacties te identificeren.

Verwachte resultaten **Normale weefsels**

Kloon 79H11 detecteerde het mismatch reparatie eiwit 2 (MSH2) in de celkernen van verscheidene weefsels, waaronder de grote hersenen, de kleine hersenen, bijnier, baarmoederhals, eierstok, alveesklier, lymfeklier, hypofyse, zaadbal, schildklier, borst, milt, keelamandelen, thymusklier, beenmerg, long, spier, slokdarm, maag, dunne darm, dikke darm, lever, speekselklier, nier, prostaat, baarmoederslijmvlies, huid, zenuw, mesothel, oog, strottenhoofd, bijschildklier en blaas. (Totaal aantal beoordeelde weefsels = 105.)

Abnormale weefsels

Kloon 79H11 verkleurde 5/8 dikke darm carcinomen (waaronder 4/4 colorectaal carcinoom, 0/3 bekend MSH2 negatief colorectaal carcinoom en 1/1 mucineus adenocarcinoom), 5/5 galblaascarcinomen, 3/3 astrocytomen, 3/3 plaveiselcelcarcinomen van de slokdarm, 3/3 maagadenocarcinomen, 3/3 longadenocarcinomen, 3/3 alveesklieradenocarcinomen, 3/3 nierenelcarcinomen, 3/3 transitionele celcarcinomen van de blaas, 3/3 plaveiselcelcarcinomen van de baarmoeder, 3/3 invasieve ductale borstcarcinomen, 2/2 papillaire schildklieradenocarcinomen, 2/2 prostaatadenocarcinomen (totaal aantal beoordeelde casussen = 44).

NCL-L-MSH2-612 wordt aanbevolen voor het detecteren van MSH2-eiwit in normale en neoplastische weefsels, als aanvulling op conventionele histopathologie waarbij niet-immunologische histochemische kleuringen worden gebruikt.

Algemene beperkingen

Immunohistochemie (IHC) is een diagnostisch meerstapsproces waarvoor een gespecialiseerde opleiding nodig is in het kiezen van de juiste reagentia, het selecteren, fixeren en bewerken van weefsel, het prepareren van IHC-objectglasjes en het interpreteren van de kleuringresultaten.

Weefselkleuring is afhankelijk van de manier waarop het weefsel vóór de kleuring wordt behandeld en bewerkt. Verkeerd fixeren, invriezen, ontdoeien, wassen, drogen, verwarmen, snijden of contaminatie met andere weefsels of vloeistoffen kan tot artefacten,

insluiting van antilichamen of fout-negatieve resultaten leiden. Inconsistente resultaten kunnen te wijten zijn aan variaties in de fixatie- en inbeddingsmethodes, of aan intrinsieke onregelmatigheden in het weefsel.⁴

Een te sterke of onvolledige tegenkleuring kan een juiste interpretatie van de resultaten bemoeilijken of onmogelijk maken.

De klinische interpretatie van een kleuring of de afwezigheid hiervan moet worden aangevuld met morfologische studies en de juiste controles. Ook moeten er evaluaties worden uitgevoerd binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests uitgevoerd door een bevoegd patholoog.

Antilichamen van Leica Biosystems Newcastle Ltd zijn bedoeld voor gebruik, zoals aangegeven, op bevroren of in paraffine ingebedde coupes die een specifieke fixatie vereisen. Er kan onverwachte antigeenexpressie optreden, met name bij neoplasma's. De klinische interpretatie van gekleurde weefselcoupes moet een morfologische analyse en de evaluatie van overeenkomstige controles bevatten.

Literatuurlijst - algemeen

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma. *Modern Pathology*. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2009; 120 (3); 777-782.

Aanpassingen ten opzichte van de vorige uitgave

N.v.t.

Datum uitgave

03 mei 2019

Novocastra™ flytende murint monoklonalt antistoff Mismatch Repair Protein 2 (MSH2)

Produktkode: NCL-L-MSH2-612

Tiltenkt bruk

Til in vitro-diagnostisk bruk.

NCL-L-MSH2-612 skal brukes til kvalitativ identifisering med lysmikroskopieiring av mismatch-reparasjonsprotein 2 (MSH2) i parafinsnitt. Den kliniske tolkningen av en farging eller uteblitt farging skal suppleres av morfologiske studier ved bruk av riktige kontroller og skal evalueres av en kvalifisert patolog innenfor sammenhengen av pasientens sykehistorie og andre diagnostiske tester.

Prinsipp for prosedyren

Teknikker for immunhistokjemisk (IHC) farging muliggjør visualisering av antigener via sekvensiell applikasjon av et spesifikt antistoff på antigenet (primært antistoff), et sekundært antistoff på det primære antistoffet og et enzymkompleks med et kromogensubstrat med mellomliggende vasketrinn. Den enzymatiske aktiveringen av kromogenet resulterer i et synlig reaksjonsprodukt på antigenstedet. Prøvematerialet kan deretter kontrastfarges og påføres dekkglass. Resultatene tolkes ved hjelp av et lysmikroskop og bidrar til differensialdiagnosen for patofysiologiske prosesser, som kan være tilknyttet et spesielt antigen eller ikke.

Klon

79H11

Immunogen

Prokaryotisk rekombinant protein svarende til 304 aminosyrer på den N-terminale delen av humant MSH2-molekyl.

Spesifisitet

Humant MSH2.

Reagenssammensetning

NCL-L-MSH2-612 er en flytende vevskultursupernatant som inneholder natriumazid som konserveringsmiddel.

Ig-klasse

Ig G1

Total proteinkonsentrasjon Total Protein

Se etiketten på hetteglasset for partispesifikk totalproteinkonsentrasjon.

Antistoffkonsentrasjon

Større enn eller lik 45 mg/l som fastslått av ELISA. Se etiketten på hetteglasset for partispesifikk Ig-konsentrasjon.

Anbefalinger for bruk

Immunhistokjemi på parafinsnitt.

Varmeindusert epitop demaskering (HIER-demaskering): Følg bruksanvisningen for Novocastra epitop demaskering pH 9.

Foreslått fortykning: 1:80 i 30 minutter ved 25 °C. Dette er kun veiledende, og brukerne bør fastslå egne optimale fortykninger for sitt arbeid.

Visualisering: Følg bruksanvisningen for Novolink™ Polymer Detection Systems. Hvis du ønsker ytterligere produktinformasjon eller -støtte, kan du kontakte din lokale forhandler eller regionkontoret til Leica Biosystems, eller du kan besøke Leica Biosystems' nettsted på www.LeicaBiosystems.com

Ytelsen til dette antistoffet bør valideres når det brukes med andre systemer for manuell farging eller automatiserte plattformer.

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevares ved 2–8 °C. Skal ikke fryses. Returner til 2–8 °C umiddelbart etter bruk. Må ikke brukes etter utløpsdatoen som er angitt på etiketten på hetteglasset. Andre oppbevaringsforhold enn de som er angitt ovenfor, må verifiseres av brukeren.

Forberedelse av prøvematerialet

Anbefalt fiksativ er 10 % nøytralbufret formalin for parafininnstøpte vevsnitt.

Advarsler og forholdsregler

Denne reagensen ble fremstilt fra supernatanten fra cellekultur. Ettersom det er et biologisk produkt, må det utvises rimelig forsiktighet når det håndteres.

Denne reagensen inneholder natriumazid. Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på forespørsel eller tilgjengelig fra www.LeicaBiosystems.com. Se lokale, regionale eller statlige forskrifter for avfallshåndtering av potensielt toksiske komponenter.

Prøvemateriale, før og etter fiksering, og alle materialer som utsettes for dem, skal håndteres som smittefarlige og avhendes etter egnede forholdsregler.¹ Pipetter aldri reagenser via munnen og unngå kontakt med hud og slimhinner med reagenser og prøver. Hvis reagenser eller prøvematerialer kommer i kontakt med følsomme områder, skyl med rikelige mengder vann. Oppsøk lege.

Minimer mikrobiell kontaminering av reagenser, ellers kan det forekomme en økning i uspesifikk farging.

Andre inkuberingsstider eller temperaturer enn de som er spesifisert, kan gi feilaktige resultater. Enhver slik endring må valideres av brukeren.

Kvalitetskontroll

Forskjeller i vevprosessering og tekniske prosedyrer i brukerens laboratorium kan frembringe signifikant variasjon i resultatene og gjør det påkrevd med regelmessige interne ytelseskontroller i tillegg til følgende prosedyrer.

Kontroller skal være ferske prøver fra obduksjon/biopsi/kirurgi, som er formalinfiksert, behandlet og parafinvoksinntøpt så snart som mulig på samme måte som pasientprøven(e).

Positivt kontrollvev

Brukes for å indikere riktig klargjorte vev og riktige fargingsteknikker.

Ett positivt kontrollvev bør inkluderes for hvert sett med testbetingelser i hver fargerunde.

Svakt positivt farget vev er mer egnet enn kraftig positivt farget vev til optimal kvalitetskontroll og påvisning av små nivåer reagensnedbrytning.²

Anbefalt positivt kontrollvev er tarm.

Hvis det positive kontrollvevet ikke gir positiv farging, skal resultater med testprøvene betraktes som ugyldige.

Negativt kontrollvev

Skal undersøkes etter det positive kontrollvevet for å verifisere spesifisiteten i merkingen av målantigenet med det primære antistoffet. Anbefalt negativt kontrollvev er skjelettmuskulatur.

Alternativt gir variasjonen av forskjellige celletyper som kan finnes i de fleste vevsnitt ofte rom for negativ kontroll, men dette må verifiseres av brukeren.

Uspesifikk farging, hvis dette forekommer, har vanligvis et diffust utseende. Sporadisk farging av bindevev vil også kunne observeres i vevsnitt som er fiksert i for mye formalin. Bruk intakte celler til tolkning av fargingsresultater. Nekrotiske eller degenererte celler farger ofte ikke-spesifikt.³ Falske positive resultater kan sees på grunn av ikke-immunologisk binding av proteiner eller substratreaksjonsprodukter.

De kan også forårsakes av endogene enzymer slik som pseudoperoksidase (erytrocytter), endogen peroksidase (cytokrom C) eller endogent biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) avhengig av type immunfarging som brukes. For å differensiere endogen enzymaktivitet eller ikke-spesifikk binding av enzymer fra spesifikk immunreaktivitet kan ekstra pasientvev farges eksklusivt med henholdsvis substratkromogen eller enzymkomplekser (avidin-biotin, streptavidin, merket polymer) og substratkromogen. Hvis det forekommer spesifikk farging i det negative kontrollvevet, skal resultater med pasientprøvene betraktes som ugyldige.

Negativ reagenskontroll

Bruk en uspesifikk negativ reagenskontroll i stedet for det primære antistoffet med et snitt av hver pasientprøve for å evaluere uspesifikk farging og gi bedre mulighet for tolkning av den spesifikke fargingen på antigenstedet.

Pasientvev

Undersøk pasientprøver farget med NCL-L-MSH2-612 sist. Positiv fargingsintensitet skal vurderes i lys av eventuell uspesifikk bakgrunnsfarging i den negative reagenskontrollen. På samme måte som for alle andre immunhistokjemiske tester betyr et negativt resultat at antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet ikke var til stede i cellene / det analyserte vevet. Om nødvendig, skal det brukes et antistoffpanel til å identifisere falske negative reaksjoner.

Forventede resultater

Normale vev

Klon 79H11 detekterte mismatch-reparasjonsprotein 2 (MSH2) i kjernene av celler fra flere vev, inkludert cerebrum, cerebellum, binyre, livmorhals, eggstokk, bukspyttkjertel, lymfenode, hypofyse, testikkel, skjoldbruskkjertel, bryst, milt, mandel, tymus, beinmarg, lunge, muskel, spiserør, magesekk, tynntarm, tykktarm, lever, spyttkjertel, nyre, prostata, endometrium, hud, nerve, mesothelium, øye, strupehode, biskjoldbruskkjertel og blære. (Totalt antall evaluerte vev = 105).

Unormale vev

Klon 79H11 farget 5/8 tykktarmkarsinomer (inkludert 4/4 kolorektale karsinomer, 0/3 kjente MSH2-negative kolorektale karsinomer og 1/1 mukinøs adenokarsinom) 5/5 galleblære-adenokarsinomer, 3/3 astrocytomer, 3/3 skiveepitelkarsinomer i spiserøret, 3/3 adenokarsinomer i magesekken, 3/3 lungeadenokarsinomer, 3/3 adenokarsinomer i bukspyttkjertelen, 3/3 klarcellekarsinomer i nyren, 3/3 overgangsepitelkarsinomer i blæren, 3/3 skiveepitelkarsinomer i livmorhalsen, 3/3 invasive brystductalkarsinomer, 2/2 papillær tyroidkarsinomer, 2/2 prostata adenokarsinomer (total antall vurderte tilfeller = 44).

NCL-L-MSH2-612 anbefales for deteksjon av MSH2-protein i normale og neoplastiske vev, og som tillegg til konvensjonell histopatologi med bruk av ikke-immunologiske histokjemiske farger.

Generelle begrensninger

Immunhistokjemi er en flertrinns diagnostisk prosess som krever spesialisert opplæring i valg av egnede reagenser, valg, fiksering og behandling av vev, klargjøring av IHC-objektglass og tolkning av fargingsresultater.

Vevfarging er avhengig av håndteringen og behandlingen av vevet før det farges. Uriktig fiksering, dypfrysing, opptining, vasking, tørking, oppvarming, snitting eller kontaminering med annet vev eller væsker kan frembringe artefakter, farging av antistoff eller falske negative resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes variasjoner i fikserings- og innstøpingsmetoder eller uregelmessigheter i vevet.⁴ Overdreven eller ufullstendig kontrastfarging kan hindre riktig tolkning av resultater.

Den kliniske tolkningen av en farging eller uteblitt farging skal suppleres av morfologiske studier ved bruk av riktige kontroller og skal evalueres av en kvalifisert patolog innenfor sammenhengen av pasientens sykehistorie og andre diagnostiske tester.

Antistoffer fra Leica Biosystems Newcastle Ltd er til bruk, som indisert, på enten frosne eller parafininnstøpte snitt med spesifikke fikseringskrav. Det kan forekomme uventet antigenuttrykk, spesielt i neoplasmer. Den kliniske tolkningen av ethvert farget vevsnitt må inkludere morfologisk analyse og evaluering av egnede kontroller.

Bibliografi – generell

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma. Modern Pathology. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Breast Cancer Research and Treatment. 2009; 120 (3); 777-782.

Endringer på tidligere utgave

I/A

Utstedelsesdato

03 mai 2019

Novocastra™ Likit Fare Monoklonal Antikoru Mismatch Repair Protein 2 (MSH2)

Ürün Kodu: NCL-L-MSH2-612

Kullanım Amacı

In vitro diagnostik kullanım içindir.

NCL-L-MSH2-612, parafin seksiyonlarında Yanlış Eşleşme Tamir Proteini 2'nin (MSH2) ışık mikroskopisi ile nitel belirlenmesi için amaçlanmıştır. Herhangi bir boyamanın veya boyama yokluğunun klinik yorumu, morfolojik çalışmalar ve uygun kontrollerle tamamlanmalıdır ve nitelikli bir patolog tarafından hastanın klinik öyküsü ve diğer tanı testleri bağlamında değerlendirilmelidir.

Prosedür İlkesi

İmmünohistokimyasal (IHC) boyama teknikleri, antijene ardışık olarak belirli bir antikoron uygulanması (birincil antikor), birincil antikora ikincil bir antikoron uygulanması ve aralardaki yıkama adımları ile, antijenlerin kromojenik substratı bir enzim kompleksi yoluyla görselleştirilmesine olanak tanır. Kromojenin enzimle etkinleştirilmesi, antijen alanında gözle görülür bir tepkiye yol açar. Örnek daha sonra karşıt boyanabilir ve lamelle örtülebilir. Sonuçlar bir ışık mikroskopu kullanılarak yorumlanır ve belirli bir antijen ile ilişkili olabilecek veya olmayabilecek patofizyolojik süreçlerin ayırtıcı tanısına yardımcı olur.

Klon

79H11

İmmünojen

İnsan MSH2 molekülünün N uç bölgesindeki 304 amino aside karşılık gelen prokaryotik rekombinant protein.

Spesifiklik

İnsan MSH2.

Reaktif Bileşimi

NCL-L-MSH2-612, prezervatif olarak sodyum azit içeren supernatant bir likit doku kültürüdür.

Ig Sınıfı

Ig G1

Toplam Protein Konsantrasyonu

Total Protein

Lota özgü toplam protein konsantrasyonu için flakon etiketine başvurun.

Antikor Konsantrasyonu

ELISA tarafından belirlendiği gibi 45 mg/L'ye eşit veya bu değerden yüksek. Lota özgü Ig konsantrasyonu için flakon etiketine başvurun.

Kullanım Önerileri

Parafin kesitlerinde immünohistokimya.

Isı İndüklü Epitop Alımı (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Lütfen, Novocastra Epitope Retrieval pH 9 için kullanma talimatını takip edin.

Önerilen dilüsyon: 25°C'de 30 dakika süreyle 1:80. Bu, kılavuz olarak verilmiştir ve kullanıcılar kendi optimal çalışma seyrettilerini belirlemelidir.

Görselleştirme: Lütfen Novolink™ Polymer Detection Systems'in kullanma talimatını izleyin. Ürünle ilgili daha fazla bilgi veya destek için yerel distribütörünüzle veya Leica Biosystems bölge ofisiyle iletişime geçebilirsiniz ya da bunun yerine Leica Biosystems Web sitesini ziyaret edebilirsiniz: www.LeicaBiosystems.com

Bu antikoron performansı, diğer manuel boyama sistemleriyle veya otomatik platformlarla birlikte kullanıldığında doğrulanmalıdır.

Saklama ve Stabilite

2-8°C'de saklayın. Dondurmayın. Kullanımdan hemen sonra 2-8°C'ye geri alın. Flakon etiketinde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın. Yukarıda belirtilenler dışında saklama koşulları kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Örnek Hazırlama

Önerilen fiksatif, parafine gömülmüş doku kesitleri için %10 nötr tamponlu formalindir.

Uyarılar ve Önlemler

Bu reaktif, hücre kültürü supernatanından hazırlanmıştır. Biyolojik bir ürün olduğundan, elleçleme sırasında makul düzeyde dikkatli olunmalıdır.

Bu reaktif sodyum azid içerir. Malzeme Güvenlik Bilgileri Formu talep üzerine sağlanmaktadır ve www.LeicaBiosystems.com sitesinde mevcuttur.

Olası toksik bileşenlerin atılması ile ilgili yerel, bölgesel veya ulusal düzenlemelere başvurun.

Fiksasyon öncesinde ve sonrasında numuneler ve bunlara maruz kalmış tüm materyallere enfeksiyon bulaştırılabilirliği gibi davranılması ve bunların uygun numunelerle atılmaları gerekir.¹ Reaktifleri asla ağız yoluyla pipetlemeyin ve cildin ve mukoz membranların reaktifler ve örneklerle temasından kaçının. Reaktifler veya örnekler hassas bölgelere temas ederse bol miktarda suyla yıkayın. Tıbbi yardım isteyin.

Reaktiflerin mikrobiyal kontaminasyonunu minimize edin, aksi takdirde spesifik olmayan boyamada artış meydana gelebilir. Belirtilenler dışındaki inkübasyon süreleri veya sıcaklıklar hatalı sonuçlara yol açabilir. Bu tür değişiklikler kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Kalite Kontrol

Kullanıcı laboratuvarında doku işleme ve teknik prosedürlerdeki farklılıklar sonuçlarda, aşağıdaki prosedürlere ek olarak kurum içi kontrollerin düzenli performansını gerektiren anlamlı değişkenliğe yol açabilir.

Kontroller, hasta numunesinde/numunelerinde yapıldığı gibi mümkün olan en kısa sürede dondurulan formalinle fikse edilmiş, parafin mumuna gömülmüş, taze otopsi numuneleri/biyopsi numuneleri/cerrahi örnekler olmalıdır.

Pozitif Doku Kontrolü

Doğru hazırlanmış dokuları ve uygun boyama tekniklerini belirtmek için kullanılır.

Her boyama döngüsünde her test koşulu setine bir pozitif doku kontrolü dahil edilmelidir.

En iyi kalite kontrolünü sağlamak ve küçük ölçekli reaktif bozulmalarını saptamak için zayıf pozitif boyama yapılmış bir doku, güçlü pozitif boyama yapılmış bir dokudan daha uygundur.²

Önerilen pozitif kontrol dokusu bağırsaktır

Pozitif doku kontrolü pozitif boyama göstermezse test örneklerinin sonuçları geçersiz kabul edilmelidir.

Negatif Doku Kontrolü

Primer antikor tarafından hedef antijenin etiketlenmesinin spesifikliğini doğrulamak için, pozitif doku kontrolünden sonra incelenmelidir. Önerilen negatif kontrol dokusu iskelet kasıdır.

Alternatif olarak, doku kesitlerinin çoğunda bulunan farklı hücre tipi çeşitleri sıklıkla negatif kontrol bölgeleri sunar ancak bu kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Olduğu durumda, spesifik olmayan boyamanın görünümü genelde diffüzdür. Aşırı formalin fiksasyonlu dokulardan kesitlerde bağ dokusunun sporadik boyanması da görülebilir. Boyama sonuçlarının yorumlanması için intakt hücreler kullanın. Nekrotik veya dejenere hücreler sıklıkla nonspesifik şekilde boyanır.³ Proteinler veya substrat reaksiyon ürünlerinin immünohistokimyasal boyanması nedeniyle yalancı pozitif sonuçlar görülebilir.

Bu sonuçlar ayrıca, kullanılan immün-boyaya bağlı olarak psödoperoksidaz (eritrositler), endojen peroksidaz (sitokrom C) veya endojen biotin (örn. karaciğer, meme, beyin, böbrek) gibi endojen enzimlerden de kaynaklanabilir. .

Endojen enzim aktivitesini veya spesifik olmayan enzim bağlanmasını spesifik immünoreaktiviteden ayırmak için ek hasta dokuları sırasıyla sadece substrat kromojen veya enzim kompleksleri (avidin-biotin, streptavidin, etiketli polimer) ve substrat kromojen ile boyanabilir. Negatif doku kontrolünde spesifik boyanma olursa hasta örneklerinin sonuçları geçersiz kabul edilmelidir.

Negatif Reaktif Kontrolü

Spesifik olmayan boyamayı değerlendirmek ve antijen bölgesinde spesifik boyanmayı daha iyi yorumlayabilmek için her hasta örneği kesitinde primer antikor yerine spesifik olmayan bir negatif reaktif kontrolü kullanın.

Hasta Dokusu

NCL-L-MSH2-612 ile boyanmış hasta numunelerini en son inceleyin. Pozitif boyama yoğunluğu, negatif reaktif kontrolünün spesifik olmayan herhangi bir arka plan boyanması bağlamında değerlendirilmelidir. Her immünohistokimyasal testte olduğu gibi negatif bir sonuç antijenin saptanmadığı anlamına gelir, antijenin miktar tayinine tabi tutulan hücrelerde/dokuda bulunmadığı anlamına gelmez. Gerekirse yanlış negatif reaksiyonların belirlenmesi için antikor paneli kullanın.

Öngörülen Sonuçlar

Normal Dokular

Clone 79H11, serebrum, serebellum, böbreküstü bezi, uterin serviks, yumurtalık, pankreas, lenf nodülü, hipofiz bezi, testis, tiroid bezi, meme, dalak, bademcik, timüs, kemik iliği, akciğer, kas, yemek borusu, mide, ince bağırsak, kolon, karaciğer, tükürük bezi, böbrek, prostat, endometriyum, deri, sinir, mezotelyum, göz, larinks, paratiroid ve mesane de dahil olmak üzere çeşitli doku hücrelerinin çekirdeğinde Yanlış eşleşme tamir proteini 2'yi (MSH2) tespit etti. (Değerlendirilen toplam doku sayısı = 105).

Anormal Dokular

Clone 79H11, 5/8 kolon karsinomu (4/4 kolorektal karsinom, 0/3 bilinen MSH2 negatif kolorektal karsinom ve 1/1 müsinöz adenokarsinom), 5/5 safra kesesi adenokarsinomu, 3/3 astrositomaz, 3/3 özofageal skuamöz hücreli karsinom, 3/3 mide adenokarsinomu, 3/3 akciğer adenokarsinomu, 3/3 pankreas adenokarsinomu, 3/3 böbrek berrak hücreli karsinomu, 3/3 mesane transizyonel hücreli karsinomu, 3/3 uterin servikal skuamöz hücreli karsinomlar, 3/3 invaziv meme duktal karsinomu, 2/2 tiroid papiller karsinom, 2/2 prostat adenokarsinomu boyamıştır (Değerlendirilen toplam vaka sayısı = 44).

NCL-L-MSH2-612, immünohistokimyasal boyamalar kullanılarak yapılan geleneksel histopatolojiye ek olarak normal ve neoplastik dokularda MSH2 proteinin saptanması için önerilir.

Genel Sınırlamalar

İmmünohistokimya; uygun reaktiflerin seçimi, doku seçimi, fiksasyonu ve işlenmesi, IHC lamının hazırlanması ve boyama sonuçlarının yorumlanması alanlarında özel eğitimden oluşan, çok adımlı bir diagnostik süreçtir.

Doku boyama, boyama öncesinde dokunun kullanımına ve işlenmesine bağlıdır. Uygun olmayan fiksasyon, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit alma veya diğer dokular veya sıvılarla kontaminasyon artefaktlara, antikor tutulmasına veya yanlış negatif sonuçlara yol açabilir. Tutarsız sonuçlar, fiksasyonu ve gömme yöntemlerindeki değişikliklerden ya da dokunun yapısından kaynaklanan düzensizliklerden kaynaklanabilir.⁴

Aşırı ya da tam olmayan karşı boyama, sonuçların düzgün yorumlanmasını olumsuz etkileyebilir.

Herhangi bir boyamanın veya boyama yokluğunun klinik yorumu, morfolojik çalışmalar ve uygun kontrollerle tamamlanmalıdır ve nitelikli bir patolog tarafından hastanın klinik öyküsü ve diğer tanı testleri bağlamında değerlendirilmelidir.

Leica Biosystems Newcastle Ltd'in antikorları, belirtilen şekilde, özel fiksasyonu gereklilikleriyle parafine gömülü veya dondurulmuş kesitler üzerinde kullanılır. Özellikle neoplazmlarda beklenmeyen antijen ekspresyonu oluşabilir. Özellikle herhangi bir doku kesitinin klinik yorumu, morfolojik analizi ve uygun kontrollerin değerlendirilmesini içermelidir.

Kaynakça - Genel

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma. *Modern Pathology*. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2009; 120 (3); 777-782.

Önceki Sayıya Göre Değişiklikler

N/A

Düzenlenme Tarihi

03 Mayıs 2019

Novocastra™ Течно мише моноклонално антитяло Mismatch Repair Protein 2 (MSH2)

Код на продукта: NCL-L-MSH2-612

Предназначение

За употреба при *in vitro* диагностика.

NCL-L-MSH2-612 е предназначено за качествено идентифициране посредством оптична микроскопия на Mismatch Repair Protein 2 (MSH2) в парафинови срези. Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания с помощта на подходящи контроли и трябва да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

Принцип на процедурата

Техниките на имунохистохимично (ИHC) оцветяване позволяват визуализация на антигени чрез последователно приложение на специфично антитяло на антигена (първично антитяло), вторично антитяло на първичното антитяло и ензимен комплекс с хромогенен субстрат, с междинни стъпки на промиване. Ензимното активиране на хромогена води до видим реакционен продукт на мястото на антигена. След това може да се направи контраоцветяване на спесимена и да се постави покривно стъкло. Резултатите се интерпретират с използване на оптичен микроскоп и са в помощ при диференциалната диагностика на патолофизиологични процеси, които може да са или да не са свързани с определен антиген.

Клонинг

79H11

Имуноген

Прокариотен рекомбинантен протеин, съответстващ на 304 аминокиселинен регион в N-края на човешката MSH2 молекула.

Специфичност

Човешки MSH2.

Състав на реагента

NCL-L-MSH2-612 е течен супернатант от тъканна култура, съдържащ натриев азид като консервант.

Имуноглобулинов клас

Ig G1

Концентрация на общ протеин

Total Protein

Вижте етикета на флакона относно специфичната за партидата концентрация на общ протеин.

Концентрация на антитела

По-висока или равна на 45 mg/L, както е определено от ELISA. Вижте етикета на флакона за специфичната за партидата концентрация на имуноглобулин.

Препоръки за употреба

Имунохистохимия върху парафинови срези.

Термично индуцирано извличане на епитоп (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Спазвайте инструкциите за употреба, приложени към Novocastra Epitope Retrieval pH 9.

Предложение за разреждане: 1:80 за 30 минути при температура 25°C. Това е дадено като указание, като потребителите трябва сами да определят техни собствени оптимални работни разреждания.

Визуализация: Спазвайте инструкциите за употреба, приложени към Novolink™ Polymer Detection Systems. За допълнителна информация за продукта или помощ се свържете с вашия местен дистрибутор или с регионалния офис на Leica Biosystems, а също така може да посетите уеб сайта на Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com

Действието на това антитяло трябва да бъде валидирано при употреба с други мануални системи за оцветяване или автоматизирани платформи.

Съхранение и стабилност

Да се съхранява при температура 2 – 8°C. Да не се замразява. Да се върне на температура 2 – 8°C веднага след употреба. Да не се използва след срока на годност, отбелязан върху етикета на флакона. Други условия на съхранение, освен посочените по-горе, трябва да бъдат проверени от потребителя.

Подготовка на спесимени

Препоръчителният фиксиращ разтвор е неутрален буфериран формалин 10% за тъканни срези, вградени в парафин.

Предупреждения и предпазни мерки

Този реагент е приготвен от супернатант от клетъчна култура. Тъй като е биологичен продукт, необходимо е повишено внимание при работа с него.

Този реагент съдържа натриев азид. Информационният лист за безопасност на материалите може да се получи при поискване или е на разположение от www.LeicaBiosystems.com

Консултирайте се с федералните, държавните или местните регламенти относно изхвърлянето на потенциално токсични компоненти.

Всички спесимени преди и след фиксация, както и всички материали, изложени на тях, трябва да се третираат като възможни преносители на инфекция и да се изхвърлят, като се вземат правилни предпазни мерки.¹ Никога не пипайте реагенти с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реагенти и спесимени. При контакт на реагенти или спесимени с чувствителни зони измийте зоните с обилно количество вода. Потърсете медицинска помощ.

Свеждайте до минимум микробната контаминация на реагентите, в противен случай може да се появи увеличаване на неспецифичното оцветяване.

Инкубационни времена или температури, различни от посочените, могат да доведат до грешни резултати. Всички подобни промени трябва да бъдат валидирани от потребителя.

Качествен контрол

Различията в обработката на тъканите и техническите процедури в лабораторията на потребителя могат да доведат до значително вариране на резултатите, налагащо редовно извършване на вътрешен контрол в допълнение към следните процедури.

Контролите трябва да са свежи спесимени, взети по време на аутопсия/биопсия/операция, фиксирани във формалин, обработени и вградени в парафинов восък, възможно най-бързо, по същия начин като пробата(ите) на пациента(ите).

Позитивна тъканна контрола

Използва се, за да се покажат правилно приготвени тъкани и правилни техники на оцветяване.

Една позитивна тъканна контрола трябва да бъде включена за всеки сет с тестови условия при всяка серия проби за оцветяване.

Тъкан със слабо позитивно оцветяване е по-подходяща от тъкан със силно позитивно оцветяване за оптимален качествен контрол и за откриване на по-малки нива на деградация на реагента.²

Препоръчителната тъкан за позитивна контрола е чревна

Ако позитивната тъканна контрола не показва позитивно оцветяване, резултатите от спесимените, включени в теста, трябва да се считат за невалидни.

Негативна тъканна контрола

Трябва да се изследва след позитивната тъканна контрола, за да се провери специфичността на белязването на таргетния антиген от първичното антияло. Препоръчителната тъкан за негативна контрола е скелетен мускул.

Алтернативно, разнообразието от различни видове клетки, присъстващи в повечето тъкани срези, често предлага места за негативна контрола, но това трябва да се провери от потребителя.

Неспецифичното оцветяване, ако присъства, обикновено е дифузно на вид. Спорадично оцветяване на съединителна тъкан може да се наблюдава и в части от прекомерно фиксирани във формалин тъкани. Използвайте интактни клетки за интерпретация на резултатите от оцветяването. Некротичните или дегенериралите клетки често се оцветяват неспецифично.³ Може да се видят фалшиво положителни резултати поради неимунологично свързване на протеини или реакционни продукти на субстрата.

Те може да са причинени и от ендогенни ензими като псевдопероксидаза (еритроцити), ендогенна пероксидаза (цитохром C) или ендогенен biotin (напр. черен дроб, гърда, мозък, бъбрек) в зависимост от типа на използваното имуно оцветяване. За диференциране на

ендогенна ензимна активност или неспецифично ензимно свързване от специфична имунна реактивност, ексклузивно може да се оцветят допълнителни тъкани от пациента, съответно със субстрат-хромоген или с ензимни комплекси (avidin-biotin, стрептавидин, маркиран полимер) и субстрат-хромоген. Ако се появи специфично оцветяване в негативната тъканна контрола, резултатите от спесимените на пациентите трябва да се считат за невалидни.

Негативна контрола на реагента

Използвайте неспецифична негативна контрола на реагента, вместо първичното антияло, със срез от всеки спесимен на пациента, за да се направи оценка на неспецифичното оцветяване и да се даде по-добра интерпретация на специфичното оцветяване на мястото на антигена.

Тъкан от пациента

Спесимените на пациенти, оцветени с NCL-L-MSH2-612, трябва да се изследват последни. Наситеността на позитивното оцветяване трябва да бъде оценена в контекста на всяко неспецифично фоново оцветяване на негативната контрола на реагента. Както при всеки имуохистохимичен тест, един негативен резултат означава, че антигенът не е открит, а не че антигенът отсъства в анализиранияте клетки/тъкан. Ако се налага, използвайте панел от антитела за идентифициране на фалшиво негативни реакции.

Очаквани резултати

Нормални тъкани

Клонинг 79N11 открива Mismatch repair protein 2 (MSH2) в ядрата на клетки от множество тъкани, включително главен мозък, малък мозък, надбъбречна жлеза, маточна шийка, яйчник, панкреас, лимфен възел хипофизна жлеза, тестис, щитовидна жлеза, млечна жлеза, далак, тонзили, тимус, костен мозък, бял дроб, мускули, хранопровод, стомах, тънки черва, ободно черво, черен дроб, сплочена жлеза, бъбрек, простата, ендометриум, кожа, нерв, мезотелиум, око, ларинкс, паразитовидна жлеза и пикочен мехур. (Общ брой на оценените тъкани = 105).

Абнормни тъкани

Клонинг 79N11 оцветява 5/8 карцинома на ободното черво (включително 4/4 колоректални карцинома, 0/3 известни MSH2 негативни колоректални карцинома и 1/1 муцинозен аденокарцином), 5/5 аденокарцинома на жлъчния мехур, 3/3 астроцитомата, 3/3 плоскоклетъчни карцинома на хранопровода, 3/3 аденокарцинома на стомаха, 3/3 белодробни аденокарцинома, 3/3 аденокарцинома на панкреаса, 3/3 светлоклетъчни карцинома на бъбрека, 3/3 преходноклетъчни карцинома на пикочния мехур, 3/3 плоскоклетъчни карцинома на маточната шийка, 3/3 инвазивни дуктални карцинома на млечната жлеза, 2/2 папиларни карцинома на щитовидната жлеза, 2/2 аденокарцинома на простатата (общ брой на оценените случаи = 44).

NCL-L-MSH2-612 се препоръчва за откриване на MSH2 протеин в нормални и неопластични тъкани като допълнение към конвенционалната хистопатология с използване на имунологични хистохимични оцветявания.

Общи ограничения

Имунохистохимията е многостъпков диагностичен процес, който се състои от специализирано обучение за избор на подходящи реагенти, избор на тъкани, фиксация и обработка, подготовка на предметното стъкло за имунохистохимия и интерпретация на резултатите от оцветяването.

Тъканното оцветяване зависи от боравенето с тъканта и нейната обработка преди оцветяването. Неправилната фиксация, замразяване, размразяване, промиване, изсушаване, затопляне, срязване или контаминацията с други тъкани или течности може да причини поява на артефакти, блокиране на антителата или фалшиво негативни резултати. Несъответстващите резултати може да се дължат на вариации в методите на фиксация и вграждане или на присъща нерегулярност в тъканта.⁴ Прекомерното или непълно контраоцветяване може да попречи на правилната интерпретация на резултатите.

Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания с помощта на подходящи контроли и трябва да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

Антителата от Leica Biosystems Newcastle Ltd са предназначени за употреба, както е указано, върху замразени или вградени в парафин срези със специфични изисквания за фиксация. Възможно е да настъпи неочаквана антигенна експресия, особено при неоплазми. Клиничната интерпретация на всеки оцветен тъканен срез трябва да включва морфологичен анализ и оценката на подходящи контроли.

Библиография – основна

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma. Modern Pathology. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Breast Cancer Research and Treatment. 2009; 120 (3); 777-782.

Изменения на предишно издание

Не е приложимо

Дата на издаване

03 Май 2019

Novocastra™ folyékony, egér eredetű monoklonális antitest Mismatch Repair Protein 2 (MSH2)

Termékkód: NCL-L-MSH2-612

Alkalmazási terület

In vitro diagnosztikai használatra.

Az NCL-L-MSH2-612 a Mismatch Repair Protein 2 (MSH2) fénymikroszkóppal végzett kvalitatív azonosítására szolgál paraffinos metszetekben. Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését megfelelő kontrollokat használó morfológiai vizsgálatokkal kell kiegészíteni, valamint az értékelést a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

Az eljárás elve

Az immunhisztokémiai (immunohistochemical, IHC) megfestési technikák az antigén elleni specifikus antitest (elsődleges antitest), az elsődleges antitest elleni másodlagos antitest és egy enzim kromogén szubsztráttal alkotott komplexének egymás után következő alkalmazásán keresztül, közbeiktatott mosási lépések mellett lehetővé teszik az antigének megjelenítését. A kromogén enzimaktiválása látható reakcióterméket eredményez az antigén helyén. Ezután a minta kontrasztfesthető és lefedhető. Az eredmények fénymikroszkóp használatával értelmezhetők, majd segítségül használhatók a patofiziológias folyamatok differenciáldiagnózisa során, amely folyamatok az esetek egy részében konkrét antigénhez kapcsolódnak.

Klón

79H11

Immunogén

A humán MSH2 molekula N-terminális régiója 304 aminosavból álló szakaszának megfelelő prokarióta rekombináns fehérje.

Specifitás

Humán MSH2.

A reagens összetétele

Az NCL-L-MSH2-612 egy, a tartósítószerként nátrium-azidot tartalmazó folyékony szövetkultúra felülújszója.

Ig-osztály

Ig G1

Összfehérje-koncentráció

Total Protein

A sarzsspecifikus összfehérje-koncentrációt lásd az üveg címkéjén.

Antitest-koncentráció

Legalább 45 mg/l ELISA módszerrel meghatározva. A sarzsspecifikus Ig-koncentrációt lásd az üveg címkéjén.

Felhasználási javaslatok

Immunhisztokémia paraffinos metszeteken.

Hőindukált epitópfeltárás (heat induced epitope retrieval, HIER): Kövesse a Novocastra Epitope Retrieval pH 9 termék használati útmutatóját.

Javasolt hígítás: 1 : 80 arányban, 30 percen át, 25 °C-on. Az adatok csak útmutatásul szolgálnak, a felhasználóknak kell meghatározniuk saját optimális munkaadataikat.

Megjelenítés: Kövesse a Novolink™ Polymer Detection Systems rendszerekben történő használatra vonatkozó utasításokat. További termékinformációért vagy támogatásért forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához, vagy keresse fel a Leica Biosystems weboldalt (www.LeicaBiosystems.com).

Az antitest teljesítményét más manuális festési rendszerekkel vagy automatizált platformokkal történő felhasználás esetén validálni kell.

Tárolás és stabilitás

2–8 °C-on tárolandó. Tilos lefagyasztani. Felhasználás után azonnal tegye vissza 2–8 °C közötti hőmérsékletre. Ne használja az üveg címkéjén feltüntetett lejárati dátum után. A fentiekben előírtaktól eltérő tárolási feltételeket a felhasználónak ellenőriznie kell.

A minták előkészítése

A javasolt fixálószer a paraffinba ágyazott szövetmetszeteknél 10%-os, semleges pufferolású formalin.

Figyelmeztetések és óvintézkedések

Ez a reagens a sejt-kultúra felülújszójából készült. Mivel biológiai termék, kezelésekor ésszerű körültekintéssel kell eljárni.

Ez a reagens nátrium-azidot tartalmaz. Az anyagbiztonsági adatlapot igény esetén rendelkezésre bocsátjuk, illetve elérhető a www.LeicaBiosystems.com weboldalon is.

Minden potenciálisan toxikus összetevő ártalmatlanításával kapcsolatban kövesse a szövetségi, állami és helyi előírásokat.

A mintákat fixálás előtt és után, valamint az azoknak kitett minden anyagot úgy kell kezelni, mintha fertőzőképes volna, és megfelelő körültekintéssel kell ártalmatlanítani. ¹ Soha ne pipettázza szájával a reagenseket, és kerülendő a bőr, valamint a nyálkahártyák érintkezése a reagensekkel és mintákkal. Ha a reagensek vagy a minták érzékeny területtel érintkeznek, bő vízzel mossa le az érintett területet. Forduljon orvoshoz.

Minimálisra kell csökkenteni a reagensek mikrobiális szennyeződését, különben megnövekedhet a nem specifikus festődés.

A megadottaktól eltérő inkubációs idők és hőmérsékletek hibás eredményekhez vezethetnek. A felhasználónak minden ilyen jellegű változtatást validálnia kell.

Minőség-ellenőrzés

A felhasználó laboratóriumában alkalmazott szövETFeldolgozási és technikai eljárások eltérései jelentős különbséget okozhatnak az eredményekben, ami az alábbi eljárásokon túl belső kontrollok rendszeres futtatását teszi szükségessé.

Kontrollként friss boncolási/biopsziás/sebészeti mintákat kell használni, amelyeket a lehető leghamarabb a betegmintákkal megegyező módon kell formalinban fixálni, feldolgozni és paraffinvaszba ágyazni.

Poszítív szövETFekontroll

A megfelelő szövETF-előkészítés és festési technikák ellenőrzésére használatos.

Minden tesztelési körülménygyűtes esetében és minden megfestési sorozatban kell alkalmazni egy pozitív szövETFekontrollt.

A gyenge pozitív festődésű szövETF alkalmasabb az optimális minőség-ellenőrzés, valamint az alacsonyabb szinten történő reagensbomlás észlelése szempontjából, mint az erős pozitív festődésű szövETF.²

A javasolt pozitív kontrollszövETF a bél.

Ha a pozitív szövETFekontroll nem mutat pozitív festődést, a vizsgált minták eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

Negatív szövETFekontroll

A pozitív szövETFekontroll után azért kell megvizsgálni, hogy a vizsgált antigén elsődleges antitest segítségével történő jelölésének specifikusságát ellenőrizni lehessen. A javasolt negatív kontrollszövETF a vázium.

Ezenkívül a legtöbb szövETFmetszetben jelen lévő különböző sejtípusok gyakran használhatók negatív kontrollként, de ezeket a felhasználónak kell ellenőriznie.

Ha van nem specifikus festődés, az rendszerint diffúz megjelenésű. A formalinban túlfixált szövETFekből származó metszeteknél a kötőszövETF szórányos festődése is megfigyelhető. A festési eredmények értelmezésére ép sejteket használjon. Az elhalt vagy degenerálódott sejtek gyakran nem specifikusan festődnek meg.³ Hamis pozitív eredmények jelentkezhetnek a fehérvérsejtek vagy a szubsztrát reakciótermékeinek a nem immunológiai kötődése miatt.

Az alkalmasított immunfestés típusától függően hamis pozitív eredményeket okozhatnak olyan endogén enzimek is, mint a pszeudoperoxidáz (vörösvérsejtek), az endogén peroxidáz (citokróm C), illetve az endogén biotin (pl. máj, emlő, agy, vese). Az endogén enzim aktivitásának, vagy az enzimek nem specifikus kötődésének a specifikus immunreakciótól való megkülönböztetésére további betegszövETFek festhetők kizárólag szubsztrátromogénnel, vagy enzimmolekulákkal (avidin-biotin, sztreptavidin, jelölt polimer) és szubsztrátromogénnel. Ha a negatív szövETFekontroll specifikus festődést mutat, a betegminták eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

Negatív reagenskontroll

A nem specifikus festődés kiértékeléséhez és az antigén helyén létrejövő specifikus festődés jobb értelmezéséhez minden betegminta esetén egy metszetben alkalmazzon az elsődleges antitest helyett nem specifikus negatív reagenskontrollt.

BetegszövETF

Végül pedig vizsgálja meg az NCL-L-MSH2-612-vel festett betegmintákat. A pozitív festődés intenzitását a negatív reagenskontroll esetleges nem specifikus háttérfestődésének viszonylatában értékelje. Mint minden immunhisztokémiai vizsgálatnál, a negatív eredmény azt jelenti, hogy az antigén nem volt kimutatható, nem pedig azt, hogy az antigén nem volt jelen a vizsgált sejtekben/szövETFben. Szükség esetén az álnegatív reakciók azonosítására használjon antitestpanelt.

Várható eredmények

Normál szövETFek

A 79H11-es klón kimutatta a Mismatch repair protein 2-t (MSH2) több szövETF sejtjeinek sejtmagjában, beleértve a következőket: nagyagy, kisagy, mellékvese, méhnyak, petefészek, hasnyálmirigy, nyirokcsomó, agyalapi mirigy, here, pajzsmirigy, emlő, lép, mandula, csecsemőmirigy, csontvelő, tüdő, izom, nyelöcső, gyomor, vékonybél, vastagbél, máj, nyálmirigy, vese, prosztata, endometrium, bőr, ideg, mesothelium, szem, gége, mellékpajzsmirigy és hólyag. (Vizsgált szövETFek összesített száma = 105).

Kóros szövETFek

A 79H11-es klón 5/8 vastagbél karcinómát (beleértve 4/4 kolorektális karcinómát, 0/3 ismert MSH2-negatív kolorektális karcinómát és 1/1 mucinózus adenokarcinómát), 5/5 epehólyag adenokarcinómát, 3/3 asztrocitómát, 3/3 nyelöcső-pikkelysejt karcinómát, 3/3 gyomor adenokarcinómát, 3/3 tüdő adenokarcinómát, 3/3 hasnyálmirigy adenokarcinómát, 3/3 vese-világossejt karcinómát, 3/3 hólyag-átmeneti sejt karcinómát, 3/3 méhnyak-pikkelysejt karcinómát, 3/3 invazív emlővezeték karcinómát, 2/2 pajzsmirigy papilláris karcinómát, 2/2 prosztata adenokarcinómát festett meg (vizsgálat esetek összesített száma = 44).

Az NCL-L-MSH2-612 az MSH2 fehérje detektálására ajánlott normális és neoplasziás szövETFekben, a nem immunológiai hisztokémiai festést használó hagyományos kórszövETFtan kiegészítéseként.

Általános korlátozások

Az immunhisztokémia több lépésből álló diagnosztikai folyamat, amely a következőket foglalja magában: speciális képzés alapján a megfelelő reagensek kiválasztása; a szövETFek kiválasztása, fixálása és feldolgozása; az IHC tárgylemez előkészítése; és a festési eredmények értelmezése.

A szövETF festődése függ a szövETF festés előtti kezelésétől és feldolgozásától. A nem megfelelő fixálás, a fagyasztás, olvasztás, mosás, szárítás, melegítés, metszetkészítés, illetve a más szövETFekkel vagy folyadékokkal történő szennyezés műtermékeket, az antitestek befogását, illetve álnegatív eredményeket okozhat. Ellenmondó eredményekhez vezethetnek a fixálási vagy beágyazási módszerek eltérései, illetve a szövETF eredendő rendelkezései.⁴

A túlzott vagy hiányos kontrasztfestés ronthatja az eredmények megfelelő értelmezését.

Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését megfelelő kontrollokat használó morfológiai vizsgálatokkal kell kiegészíteni, valamint az értékelést a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

A Leica Biosystems Newcastle Ltd által biztosított antitestek specifikus fixálási követelmények mellett, az utasításoknak megfelelően fagyasztott vagy paraffinba ágyazott metszeteken történő felhasználásra szolgálnak. Időnként váratlan antigén-expresszió fordulhat elő, különösen daganatok esetében. Bármely festett szövetmetszet klinikai értelmezéséhez morfológiai elemzést is kell végezni, és ki kell értékelni a megfelelő kontrollokat.

Bibliográfia – általános

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma. *Modern Pathology*. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2009; 120 (3); 777-782.

Módosítások az előző változathoz képest

nincs

Kiadás dátuma

03 május 2019

Anticorp monoclonal lichid de șoarece Novocasta™ Mismatch Repair Protein 2 (MSH2) Cod produs: NCL-L-MSH2-612

Utilizare prevăzută

Pentru diagnosticare in vitro.

NCL-L-MSH2-612 este destinat identificării calitative, prin intermediul microscopiei optice, a Proteinei de de Reparare a Erorilor de Replicare 2 (MSH2) în secțiunile de parafină. Interpretarea clinică a oricărei colorări sau a absenței acesteia trebuie completată cu studii morfologice utilizând controale adecvate și trebuie evaluată în contextul istoricului clinic al pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

Principiul procedurii

Tehnicile de colorare imunohistochimică (IHC) permit vizualizarea antigenilor prin aplicarea secvențială a unui anumit anticorp pe antigen (anticorp primar), a unui anticorp secundar pe anticorpul primar și a unui complex enzimatic cu un substrat cromogen, cu etape de spălare intercalate. Activarea enzimatică a cromogenului duce la un produs de reacție vizibil la locul aplicării antigenului. Specimenul poate fi apoi contracolorat și acoperit cu lamelă. Rezultatele sunt interpretate folosind un microscop optic și ajută la diagnosticul diferențial al proceselor patofiziologice, care pot sau nu să fie asociate cu un anumit antigen.

Clonă

79H11

Imunogen

Antigen procariot recombinant, corespunzând unei regiuni cu 304 aminoacizi a terminalului N al proteinei MSH2 umane.

Specificitate

MSH2 umană.

Compoziția reactivului

NCL-L-MSH2-612 este un supernatant de cultură tisulară lichid care conține azidă de sodiu drept conservant.

Clasa Ig

Ig G1

Concentrație proteină totală

Total Protein

Consultați eticheta flaconului pentru concentrația proteinelor totale specifică lotului.

Concentrație anticorpi

Mai mare sau egală cu 45 mg/L, așa cum este determinată prin ELISA. Consultați eticheta flaconului pentru concentrația Ig specifică lotului.

Recomandări privind utilizarea

Imunohistochimie pe secțiuni de parafină.

Recuperarea indusă de căldură a epitopilor (HIER): Urmați instrucțiunile de utilizare din Novocasta Epitope Retrieval Solution pH 9.

Diluție sugerată: 1:80 timp de 30 de minute la 25 °C. Aceste informații sunt furnizate cu rol de îndrumare, iar utilizatorii trebuie să-și stabilească singuri propriile diluții de lucru optime.

Vizualizare: Respectați instrucțiunile de utilizare din Novolink™ Polymer Detection Systems. Pentru mai multe informații despre produs sau asistență, luați legătura cu distribuitorul dvs. local sau cu biroul regional al Leica Biosystems sau, ca alternativă, vizitați site-ul web al Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

Performanța acestui anticorp trebuie validată atunci când este utilizat cu alte sisteme de colorare manuală sau alte platforme automatizate.

Depozitare și stabilitate

A se depozita la 2–8 °C. A nu se congela. A se returna la 2–8 °C imediat după utilizare. A nu se utiliza după data expirării indicată pe eticheta flaconului. Alte condiții de depozitare decât cele specificate mai sus trebuie verificate de către utilizator.

Pregătirea specimenului

Fixativul recomandat este formalină tamponată neutră 10% pentru secțiunile de țesut încorporate în parafină.

Avertismente și precauții

Acest reactiv a fost pregătit din supernatantul culturii celulare. Întrucât este un produs biologic, trebuie să se acționeze cu prudență rezonabilă la manipularea sa.

Acest reactiv conține azidă de sodiu. O Fișă tehnică de securitate a materialului este disponibilă la cerere sau poate fi obținută de pe site-ul www.LeicaBiosystems.com

Consultați reglementările naționale, județene sau locale pentru informații privind eliminarea la deșeură a oricăror componente cu potențial toxic.

Probele, înainte și după fixare, precum și toate materialele expuse la acestea, trebuie manevrate ca și când ar avea potențialul de a transmite infecții și trebuie eliminate luând măsurile de precauție adecvate.¹ Nu pipetați niciodată reactivii pe gură și evitați contactul reactivilor și probelor cu pielea și membranele mucoase. Dacă reactivii sau probele vin în contact cu suprafețele sensibile, spălați cu apă din abundență. Solicitați asistență medicală.

Reduceți la minimum contaminarea microbiană a reactivilor, în caz contrar poate apărea o creștere a colorației nespecifice.

Timpii sau temperaturile de incubație care diferă de valorile specificate pot genera rezultate eronate. Orice astfel de modificări trebuie validate de către utilizator.

Controlul calității

Diferențele în ceea ce privește procesarea țesutului și procedurile tehnice în laboratorul utilizatorului pot cauza o variabilitate semnificativă a rezultatelor, necesitând efectuarea cu regularitate de controale interne, în plus față de următoarele proceduri.

Probele de control trebuie să fie probe proaspete de autopsie/biopsie/chirurgicale, fixate în formalină, procesate și încorporate în ceară de parafină cât mai curând posibil și în aceeași manieră ca și eșantioanele pacientului.

Țesutul de control pozitiv

Folosit pentru a indica țesuturile pregătite corect și tehnicile de colorație adecvate.

O probă de țesut de control pozitiv trebuie să fie inclusă pentru fiecare set de condiții de testare în fiecare etapă de colorare.

Un țesut cu colorație pozitivă slabă este mai adecvat decât un țesut cu colorație pozitivă puternică în vederea unui control optim al calității și pentru a detecta nivelurile minore de degradare a reactivului.²

Țesutul de control pozitiv recomandat este cel intestinal.

Dacă țesutul de control pozitiv nu demonstrează colorația pozitivă, rezultatele obținute cu acele probe de testare trebuie considerate nevalide.

Țesutul de control negativ

Trebuie examinat după țesutul de control pozitiv pentru a verifica specificitatea informațiilor de etichetare ale antigenului țintă în funcție de anticorpurii primari. Țesutul de control negativ recomandat este mușchiul scheletic.

Ca alternativă, varietatea de tipuri diferite de celule prezente în majoritatea secțiunilor tisulare oferă frecvent locuri de control negativ, dar acest lucru trebuie verificat de către utilizator.

Colorația nespecifică, dacă este prezentă, are, de obicei, un aspect difuz. Colorația sporadică a țesutului conjunctiv poate fi observată, de asemenea, în secțiuni de țesuturi fixate în mod excesiv în formalină. Folosiți celule intacte pentru interpretarea rezultatelor de colorație. Celulele necrotice sau degenerate se colorează deseori într-un mod nespecific.³ Se pot observa rezultate fals pozitive ca urmare a legării non-immunologice a proteinelor sau produșilor de reacție ai substratului.

Acestea pot fi cauzate, de asemenea, de enzimele endogene, precum pseudoperoxidaza (eritrocite), peroxidaza endogenă (citocromul C) sau biotina endogenă (de exemplu, ficat, sân, creier, rinichi), în funcție de tipul de imunocolorare folosit. Pentru a diferenția activitatea enzimelor endogene sau legarea nespecifică a enzimelor de imunoreactivitatea specifică, pot fi colorate țesuturi suplimentare de la pacient numai cu substrat-cromogen sau, respectiv, complexe enzimatic (avidină-biotină, streptavidină, polimer etichetat) și substrat-cromogen. În cazul în care colorația specifică are loc în țesutul de control negativ, rezultatele obținute pe eșantioanele pacientului trebuie să fie considerate nevalide.

Reactivul de control negativ

Folosiți un reactiv de control negativ nespecific în locul anticorpurii primare cu o secțiune din fiecare specimen al pacientului pentru a evalua colorația nespecifică și a permite o mai bună interpretare a colorării specifice la situl antigenului.

Țesutul pacientului

Examinați probele pacientului colorate cu NCL-L-MSH2-612 ultimele. Intensitatea colorației pozitive trebuie evaluată în contextul oricărei colorații de fundal nespecifice a reactivului de control negativ. La fel ca în cazul oricărui test imunohistochimic, un rezultat negativ înseamnă că antigenul nu a fost detectat, și nu că antigenul a fost absent în celulele/țesuturile analizate. Dacă este necesar, folosiți un panel de anticorpi pentru identificarea reacțiilor fals negative.

Rezultate așteptate

Țesuturi normale

Clona 79H11 a detectat Proteina de Reparație a Erorilor de Replicare 2 (MSH2) în nucleele celulelor de la mai multe țesuturi, incluzând encefal, creierul, glandă suprarenală, col uterin, ovar, pancreas, ganglion limfatic, glandă pituitară, testicul, glanda tiroidă, sân, splină, amigdală, timus, măduva osoasă, plămân, mușchi, esofag, stomac, intestin subțire, colon, ficat, glandă salivară, rinichi, prostată, endometru, piele, nerv, mezoteliu, ochi, laringe, paratiroidă și vezică. (Numărul total al țesuturilor evaluate = 105).

Țesuturi anormale

Clona 79H11 a colorat 5/8 carcinoame de colon (incluzând 4/4 carcinoame colorectale, 0/3 carcinoame colorectale cunoscute MSH2 negative și 1/1 adenocarcinom mucinos) 5/5 adenocarcinoame ale vezicii biliare, 3/3 astrocitoame, 3/3 carcinoame esofagiene cu celule scuamoase, 3/3 adenocarcinoame ale stomacului, 3/3 adenocarcinoame pulmonare, 3/3 adenocarcinoame pancreatice, 3/3 carcinoame renale cu celule clare, 3/3 carcinoame ale vezicii cu celule tranzitionale, 3/3 carcinoame de col uterin cu celule scuamoase, 3/3 carcinoame mamare ductale invazive, 2/2 carcinoame tiroide papilare, 2/2 adenocarcinoame ale prostatei (număr total de cazuri evaluate = 44).

NCL-L-MSH2-612 este recomandat pentru detectarea proteinei MSH2 în țesuturile normale și neoplazice, ca adjuvant al histopatologiei convenționale, utilizând coloranți histochimici non-immunologici.

Limitări generale

Imunohistochimia este un proces de diagnostic cu mai multe etape, care constă din instruirea specializată în ceea ce privește alegerea reactivilor adecvați; alegerea, fixarea și procesarea țesutului; prepararea lamei IHC; și interpretarea rezultatelor de colorație.

Colorația tisulară depinde de manipularea și procesarea țesutului înainte de colorație. Fixarea, congelarea, dezghețarea, spălarea, uscarea, încălzirea, secționarea necorespunzătoare sau contaminarea cu alte țesuturi ori fluide pot cauza artefacte, captura anticorpilor sau rezultate fals negative. Rezultatele inconsecvente pot fi atribuite diferențelor în ceea ce privește metodele de fixare și încorporare, ori neregularităților inerente ale țesutului.⁴

Contracolorarea excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea adecvată a rezultatelor.

Interpretarea clinică a oricărei colorări sau a absenței acesteia trebuie completată cu studii morfologice utilizând controale adecvate și trebuie evaluată în contextul istoricului clinic al pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

Anticorpii de la Leica Biosystems Newcastle Ltd sunt destinați utilizării, conform indicațiilor, fie pe secțiuni congelate, fie pe secțiuni încorporate în parafină cu cerințe de fixare specifice. Poate apărea expresia neașteptată a antigenului, în special în neoplasme. Interpretarea clinică a oricărei secțiuni tisulare colorate trebuie să includă analiza morfologică și evaluarea probelor de control adecvate.

Bibliografie - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway colorectal carcinoma. *Modern Pathology*. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2009; 120 (3); 777-782.

Amendamente la ediția anterioară

N/A

Data publicării

03 mai 2019

Жидкая форма моноклональных антител мыши Novocastra™ Mismatch Repair Protein 2 (MSH2)

Код продукта: NCL-L-MSH2-612

Предусмотренное применение

Для диагностики in vitro.

Препарат NCL-L-MSH2-612 предназначен для качественного определения белка Mismatch Repair Protein 2 (MSH2) в парафиновых срезах методом световой микроскопии. Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями с надлежащим контролем и должна быть оценена квалифицированным патологом с учетом анамнеза пациента и других диагностических тестов.

Принцип процедуры

Иммуногистохимические (ИГХ) методы окрашивания позволяют визуализировать антигены путем последовательного связывания специфического антитела с антигеном (первичное антитело), вторичного антитела с первичным антителом и ферментного комплекса с хромогенным субстратом. Между этими этапами выполняется промежуточная промывка. Ферментная активация хромогена приводит к образованию видимого продукта реакции в месте расположения антигена. После этого образцы можно подвергать контрастному окрашиванию и заключить под покровную пленку. Интерпретацию результатов выполняют под световым микроскопом и используют для дифференциальной диагностики патофизиологических процессов, которые могут быть связаны или не связаны с конкретным антигеном.

Клон

79H11

Иммуноген

Прокариотный рекомбинантный белок, соответствующий региону 304 аминокислот N-концевого домена молекулы MSH2 человека.

Специфичность

MSH2 человека.

Состав реактива

NCL-L-MSH2-612 является супернатантом жидкой культуры тканей, содержащим азид натрия в качестве консерванта.

Класс иммуноглобулинов

Ig G1

Общая концентрация белка Total Protein

Общая концентрация белка в каждой партии указана на этикетке флакона.

Концентрация антитела

Концентрация выше или эквивалентна 45 мг/л при определении методом ИФА. Общая концентрация иммуноглобулина в каждой партии указана на этикетке флакона.

Рекомендации по применению

Иммуногистохимическое окрашивание парафиновых срезов.

Тепловая демаскировка эпитопа (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Выполняйте инструкцию по применению, прилагаемую к препарату Novocastra Epitope Retrieval pH 9.

Рекомендуемое разведение: 1:80 в течение 30 минут при температуре 25 °С. Данная информация носит рекомендательный характер, и пользователям следует самостоятельно определять оптимальные рабочие разведения.

Визуализация: Выполняйте инструкцию по применению, прилагаемую к Novolink™ Polymer Detection Systems. Для получения дополнительной информации о продукции и технической поддержке обратитесь к местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems либо, в качестве альтернативы, посетите веб-сайт компании Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

В случае применения этого антитела с другими ручными системами окрашивания или автоматизированными платформами следует выполнять валидацию его рабочих параметров.

Хранение и стабильность

Хранить при температуре 2–8 °С. Не замораживать. После использования немедленно вернуть на хранение при температуре 2–8 °С. Не использовать после указанной на этикетке флакона даты истечения срока годности. Условия хранения, отличающиеся от указанных выше, должны быть проверены пользователем.

Подготовка образцов

Для приготовления залитых в парафин срезов тканей рекомендуется фиксация в 10 % нейтральном забуференном формалине.

Предупреждения и меры предосторожности

Этот реактив был изготовлен из супернатанта культуры клеток. При обращении с этим продуктом, как и с другими биологическими продуктами, следует соблюдать разумную осторожность.

Этот реактив содержит азид натрия. Паспорт безопасности химической продукции предоставляется по запросу или доступен на сайте: www.LeicaBiosystems.com

По вопросам утилизации любых возможно токсических компонентов выполняйте требования федеральных, региональных или местных нормативных документов.

Образцы (до и после фиксации) и все контактирующие с ними материалы следует считать способными к передаче инфекции, и при их удалении в отходы следует соблюдать надлежащие меры предосторожности.¹ Никогда не набирайте реактивы в пилетку ртом. Избегайте контакта реактивов и образцов с кожей и слизистыми оболочками. В случае контакта реактивов или образцов чувствительными зонами промойте их большим количеством воды. Обратитесь за медицинской помощью.

Сведите к минимуму микробное загрязнение реактивов во избежание усиления неспецифического окрашивания.

Инкубация при сроках и температурах, отличных от указанных в инструкции, может дать ошибочные результаты. Любые подобные изменения должны быть валидированы пользователем.

Контроль качества

Различия в методах обработки тканей и технических процедурах, выполняемых в лаборатории пользователя, могут привести к существенной вариативности результатов, в связи с чем требуется регулярное выполнение внутрилабораторных контролей в дополнение к указанным ниже процедурам.

В качестве контролей следует использовать свежие образцы, полученные при аутопсии, биопсии или хирургических процедурах, фиксированные в формалине, обработанные и как можно скорее залитые в парафин так же, как были обработаны полученные у пациентов образцы.

Положительный контроль ткани

Применяется для проверки правильности подготовки тканей и методов окрашивания.

В каждый набор условий теста при каждом цикле окрашивания следует включать один срез ткани для положительного контроля.

Для оптимального контроля и обнаружения небольшой степени снижения качества реактива более подходит ткань со слабым положительным окрашиванием, чем ткань с сильным положительным окрашиванием.²

Кишечник является тканью, которую рекомендуется использовать в качестве положительного контроля.

Если после положительного контроля ткани положительное окрашивание отсутствует, результаты, полученные с исследуемыми образцами, считаются недействительными.

Отрицательный контроль ткани

Этот тест необходимо выполнять после положительного контроля ткани для проверки специфичности мечения целевого антигена первичным антителом. В качестве отрицательного контроля рекомендуется использовать ткани скелетных мышц.

Кроме того, разнообразные типы клеток для отрицательного контроля можно часто найти в большинстве срезов тканей, однако такие препараты должны быть проверены пользователем.

Неспецифическое окрашивание, если оно присутствует, обычно выглядит диффузным. В срезах тканей, избыточно фиксированных формалином, можно также иногда увидеть окрашивание соединительной ткани. Для интерпретации результатов окрашивания используйте интактные клетки. Некротизированные или разрушенные клетки часто окрашиваются неспецифически.³ Неиммунное связывание белков или продуктов реакции с субстратом может привести к ложноположительным результатам.

Такие же результаты могут быть связаны с эндогенными ферментами, например псевдопероксидазой (в эритроцитах), эндогенной пероксидазой (цитохром С) или эндогенным биотином (например, в печени, молочной железе, головном мозге или почке) в зависимости от типа использованного иммунного окрашивания. Чтобы отличить

активность эндогенных ферментов или неспецифическое связывание ферментов от специфической иммунореактивности, можно выполнить окрашивание дополнительных тканей пациента исключительно хромогенным субстратом или ферментными комплексами (авидин-биотин, стрептавидин, меченый полимер) и хромогенным субстратом соответственно. При наличии специфического окрашивания в отрицательном контроле ткани результаты исследования полученных у пациентов образцов считаются недействительными.

Отрицательный контроль реактива

Для оценки неспецифического окрашивания и лучшей интерпретации специфического окрашивания в области связывания антигена, исследуя срезы каждого образца, взятого у пациента, вместо первичных антител используйте реактив, служащий в качестве неспецифического отрицательного контроля.

Ткань, полученная у пациента

Исследуйте образцы взятой у пациента ткани, которые окрашены с помощью NCL-L-MSH2-612, в последнюю очередь. Интенсивность положительного результата окрашивания следует оценивать с учетом любого неспецифического фонового окрашивания реактива, представляющего собой отрицательный контроль. Как и при любом иммуногистохимическом исследовании, отрицательный результат означает необнаружение антигена, но не его отсутствие в исследованных клетках или ткани. При необходимости следует использовать панель антител для выявления ложноотрицательных реакций.

Ожидаемые результаты

Нормальные ткани

Клон 79Н11 обнаружил белок Mismatch repair protein 2 (MSH2) в ядрах клеток различных тканей, включая мозг, мозжечок, надпочечники, шейку матки, яичники, поджелудочную железу, лимфатические узлы, гипофиз, яички, щитовидную железу, молочную железу, селезенку, миндалины, вилочковую железу, косный мозг, легкие, мышцы, пищевод, желудок, тонкий кишечник, толстый кишечник, печень, слюнную железу, почки, простату, эндометрий, кожу, нервы, мезотелий, глаза, гортань, параситовидную железу и мочевой пузырь. (Общее число образцов исследованных тканей = 105).

Патологические измененные ткани

Клон 79Н11 окрасил 5/8 случаев карциномы толстого кишечника (включая 4/4 случая колоректальной карциномы, 0/3 случаев известных MSH2-отрицательной колоректальной карциномы и 1/1 случая муцинозной аденокарциномы) 5/5 случаев аденокарциномы желчного пузыря, 3/3 случая астроцитомы, 3/3 случаев плоскоклеточного рака пищевода, 3/3 случаев аденокарциномы желудка, 3/3 случаев аденокарциномы легкого, 3/3 случаев аденокарциномы поджелудочной железы, 3/3 случаев светлоклеточной карциномы почек, 3/3 случаев переходно-клеточной карциномы мочевого пузыря, 3/3 случаев плоскоклеточной карциномы шейки матки, 3/3 случаев метастатической инвазивной карциномы протоков молочной железы, 2/2 случаев папиллярной карциномы щитовидной железы, 2/2 случаев аденокарциномы простаты (общее число исследованных случаев = 44).

NCL-L-MSH2-612 рекомендуется для обнаружения белка MSH2 в нормальных и опухолевых тканях в качестве дополнения к обычным гистопатологическим исследованиям с неиммунным гистохимическим окрашиванием.

Общие ограничения

Иммуногистохимическое исследование является многоэтапным диагностическим процессом, требующим специальных навыков в выборе надлежащих реактивов; выборе, фиксации и обработке тканей; приготовлении среза с ИГХ препаратом; интерпретации результатов окрашивания.

Окрашивание тканей зависит от обращения с тканями и их обработки перед окрашиванием. Неправильные процедуры фиксации, замораживания, оттаивания, промывки, сушки, нагрева, приготовления срезов, а также загрязнение другими тканями или жидкостями могут приводить к артефактам, захвату антител или ложноотрицательным результатам. Противоречивые результаты могут быть обусловлены различиями методов фиксации и заливки препарата или присущей тканям внутренней неравномерностью структуры.⁴

Чрезмерное или неполное контрастирование может негативно отразиться на точности интерпретации результатов.

Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями с надлежащим контролем и должна быть оценена квалифицированным патологом с учетом анамнеза пациента и других диагностических тестов.

Изготовленные компанией Leica Biosystems Newcastle Ltd антитела предназначены, как указано выше, для применения на замороженных или залитых в парафин срезах и требуют выполнения конкретных требований по фиксации. Возможна непредвиденная экспрессия антигена, особенно в опухолях. Клиническая интерпретация любого окрашенного среза ткани должна включать морфологический анализ и оценку соответствующих контролей.

Литература — общая

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma. Modern Pathology. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Breast Cancer Research and Treatment. 2009; 120 (3); 777-782.

Дополнения к предыдущему выпуску

Н/Д

Дата выпуска

03 Май 2019

Novocastra™ Płynne mysie przeciwciało monoklonalne Mismatch Repair Protein 2 (MSH2)

Kod produktu: NCL-L-MSH2-612

Przeznaczenie

Do diagnostyki in vitro.

NCL-L-MSH2-612 jest przeznaczony do jakościowej identyfikacji za pomocą mikroskopii świetlnej białka mechanizmów naprawy 2 (MSH2) w skrawkach parafinowych. Kliniczną interpretację barwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocenę powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

Zasady postępowania

Metody barwienia immunohistochemicznego (IHC) umożliwiają wizualizację antygenów dzięki zastosowaniu – po kolei – swoistego przeciwciała przeciwko antygenowi (przeciwciała pierwszorzędowego), przeciwciała drugorzędowego przeciwko przeciwciału pierwszorzędowemu i kompleksu enzymu z substratem chromogennym z etapami przemycania. Aktywacja enzymatyczna chromogenu prowadzi do wytworzenia widocznego produktu reakcji w miejscu antygeny. Następnie można wykonać barwienie kontrastowe próbki i zakryć ją szkiełkiem nakrywkowym. Wyniki są interpretowane przy użyciu mikroskopu świetlnego i pomagają w diagnostyce różnicowej procesów patofizjologicznych, które mogą mieć związek z określonym antygenem.

Klon

79H11

Immunogen

Prokariotyczny antygen rekombinowany odpowiadający regionowi 304 aminokwasu N-końcowego ludzkiej cząsteczki MSH2.

Swoistość

Ludzkie MSH2.

Skład odczynnika

NCL-L-MSH2-612 jest płynnym supernatantem hodowli tkankowej zawierającym azydek sodu jako substancję konserwującą.

Klasa Ig (immunoglobulina)

Ig G1

Całkowite stężenia białka

Total Protein

Całkowite stężenie białka w danej serii podano na etykiecie fiołki.

Stężenie przeciwciał

Większe lub równe 45 mg/L oznaczone za pomocą testu ELISA. Stężenie Ig w danej serii podano na etykiecie fiołki.

Zalecenia dotyczące stosowania

Badanie immunohistochemiczne skrawków parafinowych.

Ciepłe odmaskowanie epitopu (HIER): Należy postępować zgodnie z instrukcją stosowania załączoną do roztworu Novocastra Epitope Retrieval pH 9.

Sugerowane rozcieńczenie: 1:80 przez 30 minut w temperaturze 25 °C. Te informacje stanowią jedynie wskazówkę – użytkownicy powinni sami określić swoje optymalne rozcieńczenie robocze.

Wizualizacja: Należy postępować zgodnie z instrukcją stosowania podaną w produktach Novolink™ Polymer Detection Systems. Dodatkowe informacje i wsparcie można uzyskać, kontaktując się z lokalnym dystrybutorem, ewentualnie należy odwiedzić stronę internetową Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

W przypadku stosowania innych ręcznych systemów barwienia lub zautomatyzowanych platform skuteczność przeciwciała należy potwierdzić.

Przechowywanie i trwałość

Przechowywać w temperaturze 2-8 °C. Nie zamrażać. Niezwłocznie po użyciu ponownie umieścić w temperaturze 2-8 °C. Nie używać po upływie daty ważności podanej na etykiecie fiołki. Przechowywanie w warunkach innych od wskazanych powyżej wymaga weryfikacji użytkownika.

Przygotowanie próbek

Zalecanym utrwalaczem jest 10-procentowa obojętna buforowana formalina do zatopionych w parafinie skrawków tkankowych.

Ostrzeżenia i środki ostrożności

Odczynnik został przygotowany z supernatantu hodowli tkankowej. Ponieważ jest to produkt biologiczny, podczas jego używania należy zachować odpowiednie środki ostrożności.

Ten odczynnik zawiera azydek sodu. Karta charakterystyki jest udostępniana na żądanie lub można ją pobrać ze strony www.LeicaBiosystems.com

Wszelkie potencjalnie toksyczne składniki należy utylizować zgodnie z krajowymi lub lokalnymi przepisami.

Próbki, przed i po utwaleniu oraz wszystkie materiały mające z nimi kontakt należy traktować jako potencjalnie zakaźne i utylizować przy zachowaniu odpowiednich środków ostrożności.¹ Nigdy nie pobierać odczynników ustami oraz unikać kontaktu odczynników i próbek badanych ze skórą i błonami śluzowymi. W razie kontaktu odczynników lub próbek ze szczególnie narażonymi miejscami przemyć miejsce kontaktu dużą ilością wody. Należy zasięgnąć porady lekarza.

Chronić odczynniki przed skażeniem drobnoustrojami, ponieważ może ono doprowadzić do zwiększonego barwienia niespecyficznego. Zastosowanie okresów inkubacji i temperatur innych niż te podano w instrukcji może spowodować błędne wyniki. Wszelkie zmiany tego typu muszą zostać zweryfikowane przez użytkownika.

Kontrola jakości

Różnice w przetwarzaniu tkanek i procedurach technicznych w laboratorium użytkownika mogą doprowadzić do znacznej zmienności wyników, co oznacza konieczność dodatkowego przeprowadzania regularnych kontroli wewnętrznych.

Kontrole należy przeprowadzać jak najszybciej na świeżych próbkach z autopsji/biopsji/operacji chirurgicznej utwalonych, przetworzonych i zatopionych w parafinie, taką samą metodą, jaką badane są pobrane tkanki.

Tkankowa kontrola pozytywna

Stosowana w celu wskazania prawidłowo przygotowanych tkanek i prawidłowych technik barwienia.

W każdej serii barwienia każdy zestaw warunków testowych powinien uwzględniać jedną tkankową kontrolę pozytywną.

Dla optymalnej kontroli jakości i do wykrywania niewielkich poziomów degradacji odczynników bardziej odpowiednia jest tkanka o słabym pozytywnym wybarwieniu niż tkanka o silnym pozytywnym wybarwieniu.²

Tkankowa kontrola pozytywna powinna obejmować jellito.

Jeśli tkankowa kontrola pozytywna nie wykaże odpowiedniego barwienia pozytywnego, wyniki testu przeprowadzonego na próbkach pobranych od pacjenta należy uznać za nieważne.

Tkankowa kontrola negatywna

Należy ją wykonać po tkankowej kontroli pozytywnej, aby sprawdzić swoistość znakowania docelowego antygeny przez przeciwciała pierwszorzędowe. Tkankowa kontrola negatywna powinna obejmować mięśnie szkieletowe.

Ewentualnie tkankowa kontrola negatywna może obejmować różne typy komórek obecne w większości skrawków tkankowych, jednak powinno to zostać zweryfikowane przez użytkownika.

Barwienie niespecyficzne, jeżeli jest obecne, zwykle ma charakter rozproszony. Na skrawkach wykonanych z materiału tkankowego nadmiernie utwalonego w formalinie można również zaobserwować sporadyczne barwienie tkanki łącznej. Do interpretacji wyników barwienia należy używać nieuszkodzonych komórek. Komórki martwicze lub zdegenerowane często powodują niespecyficzne barwienie.³ Wyniki fałszywie dodatnie mogą pojawić się w następstwie nieimmunologicznego wiązania białek lub produktów reakcji substratów.

Mogą być również spowodowane przez enzymy endogenne, takie jak pseudoperoksydaza (erytrocyty), peroksydaza endogenna (cytochrom C) lub biotylna endogenna (np. wątroba, sutki, mózg, nerki), w zależności od zastosowanego barwnika immunohistochemicznego. Aby odróżnić

endogenną aktywność enzymatyczną lub niespecyficzne wiązanie enzymów od swoistej immunoreaktywności, można wykonać barwienie dodatkowej tkanki pobranej od pacjenta wyłącznie przy pomocy substratu chromogennego lub kompleksu enzymatycznego (awidyna-biotyna, streptawidyna, znakowany polimer) i substratu chromogennego. Jeśli w trakcie tkankowej kontroli negatywnej nastąpi barwienie niespecyficzne, wyniki testu przeprowadzonego na próbkach pobranych od pacjenta należy uznać za nieważne.

Negatywna kontrola odczynnika

Aby przeprowadzić ocenę barwienia niespecyficznego oraz umożliwić lepszą interpretację barwienia specyficznego na każdym skrawku z próbki pobranej od pacjenta należy przeprowadzić nieswoistą kontrolę negatywną odczynnika w miejscu wiązania przeciwciała pierwszorzędowego.

Tkanka pacjenta

Próbki pobrane od pacjenta barwione NCL-L-MSH2-612 należy badać jako ostatnie. Intensywność barwienia pozytywnego należy oceniać w kontekście ewentualnego barwienia niespecyficznego tła w negatywnej kontroli odczynnika. Tak jak w wszystkich innych badaniach immunohistochemicznych wynik ujemny oznacza, że antygen nie został wykryty, co jednak nie oznacza, że jest on nieobecny w badanych komórkach/tkankach. W razie konieczności do identyfikacji reakcji fałszywie negatywnych należy wykorzystać panel przeciwciał.

Oczekiwane wyniki

Tkanki prawidłowe

Klon 79H11 wykrył białka mechanizmów naprawy 2 (MSH2) w jądrach komórek z wielu tkanek, w tym mózgu, mózdzku, nadnerczy, szyjki macicy, jajnika, trzustki, węzła chłonnego, przysadki mózgowej, jądra, tarczycy, piersi, śledziony, migdałka, grasicy, szpiku kostnego, płuca, mięśni, przełyku, żołądka, jelita cienkiego, okrężnicy, wątroby, ślinianki, nerki, prostaty, błony śluzowej macicy, skóry, nerwów, mezotelium, oka, krtani, przytarczyc i pęcherza. (Całkowita liczba zbadanych tkanek = 105).

Tkanki patologiczne

Klon 79H11 wybarwił 5/8 raków okrężnicy (w tym 4/4 raki jelita grubego, 0/3 znanych raków jelita grubego MSH2 ujemnych i 1/1 gruczolakoraka śluzowego), 5/5 gruczolakoraków pęcherzyka żółciowego, 3/3 gwiaździaکی, 3/3 raki płaskonabłonkowe przełyku, 3/3 gruczolakoraki żołądka, 3/3 gruczolakoraki płuca, 3/3 gruczolakoraki trzustki, 3/3 raki jasnokomórkowe nerki, 3/3 raki przejściowokomórkowe pęcherza moczowego, 3/3 raki płaskonabłonkowe macicy, 3/3 raki inwazyjne przewodowe sutka, 2/2 raki brodawkowate tarczycy, 2/2 gruczolakoraki gruczołu krokowego (całkowita liczba ocenionych przypadków = 44).

Test NCL-L-MSH2-612 jest zalecany do wykrywania białka MSH2 w tkankach zdrowych i rakowych, jako uzupełnienie konwencjonalnego badania histopatologicznego opartego na nieimmunologicznym barwieniu histochemicznym.

Ograniczenia ogólne

Badanie immunohistochemiczne to wieloetapowy proces diagnostyczny, który wymaga specjalistycznego szkolenia w zakresie doboru odpowiednich odczynników i tkanek, utrwalań i przetwarzania tkanek, przygotowywania preparatów immunohistochemicznych (IHC) oraz interpretacji wyników barwienia.

Barwienie tkanek zależy od postępowania z tkanką i jej przetwarzania przed barwieniem. Nieprawidłowe utwalanie, zamrażanie, rozmrażanie, przemywanie, suszenie, podgrzewanie, ścinanie skrawków lub skażenie innymi tkankami lub płynami może powodować artefakty, zatrzymywanie przeciwciał lub wyniki fałszywie negatywne. Niespójne wyniki mogą wynikać z różnic w metodach utwalania i zatapiań lub nieprawidłowości związanej z tkanką.⁴

Nadmierne lub niepełne barwienie kontrastowe może negatywnie wpływać na właściwą interpretację wyników.

Kliniczną interpretację barwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocena powinna przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

Przeciwciała firmy Leica Biosystems Newcastle Ltd są przeznaczone do badania skrawków zamrożonych lub zatopionych w parafinie, które utwalono zgodnie z określonymi wymogami. Może wystąpić nieoczekiwana ekspresja antygeny, szczególnie w przypadku nowotworów. Interpretacja kliniczna wybarwionych skrawków musi obejmować analizę morfologiczną oraz ocenę przeprowadzoną w ramach odpowiednich kontroli.

Piśmiennictwo - ogólne.

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma. *Modern Pathology*. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2009; 120 (3); 777-782.

Zmiany wprowadzone do poprzedniego wydania

n/d

Data publikacji

03 maja 2019

Tekoče mišje monoklonsko protiteleso Novocastra™

Mismatch Repair Protein 2 (MSH2)

Koda izdelka: NCL-L-MSH2-612

Predvidena uporaba

Za *diagnostično uporabo in vitro*.

Izdelek NCL-L-MSH2-612 je namenjen kakovostni opredelitvi proteina za popravljanje neujemanja 2 (MSH2) v parafinskih rezinah z uporabo svetlobne mikroskopije. Klinično razlago obarvanja ali njegove odsotnosti morajo dopolnjevati morfološke študije ustreznih kontrolnih vzorcev, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

Načelo postopka

Imunohistokemijske (IHC) tehnike barvanja omogočajo vizualizacijo antigenov z izvajanjem zaporednega nanosa - z vmesnimi koraki izpiranja - specifičnega protitelesa na antigen (primarno protiteleso), sekundarnega protitelesa na primarno protiteleso in encimskega kompleksa s kromogenim substratom. Encimska aktivacija kromogena povzroči vidno reakcijo izdelka na mestu antigena. Tak vzorec lahko nato nasprotno barvamo in pokrijemo s krovnim stekelcem. Rezultate nato obdelamo s pomočjo svetlobnega mikroskopa in jih uporabimo pri diferencialni diagnozi patološko-fizioloških procesov, ki so morda povezani z določenim antigenom ali pa tudi ne.

Klon

79H11

Imunogen

Prokariotski rekombinantni protein, ki ustreza območju aminokislinske 304 na N-končnem delu človeške molekule MSH2.

Specifičnost

Človeški MSH2

Sestava reagenta

NCL-L-MSH2-612 je supernatant kulture tkiva v tekoči obliki, ki vsebuje natrijev azid kot konzervans.

Razred Ig

Ig G1

Skupna koncentracija beljakovin

Total Protein

Skupna koncentracija beljakovin v določeni seriji je navedena na nalepki na viali.

Koncentracija protiteles

Višja ali enaka 45 mg/l, določena s testom ELISA. Za koncentracijo Ig določene serije glejte nalepko na viali.

Priporočila za uporabo

Imunohistokemija parafinskih rezin.

Toplotno pridobivanje epitopa (HIER): Upoštevajte navodila za uporabo v raztopini za pridobivanje epitopov Novocastra Epitope Retrieval pH 9.

Predlagano redčenje: 1 : 80, 30 minut pri 25 °C. To so samo priporočene smernice; uporabniki naj določijo svoje lastne najučinkovitejše delovne razredčine.

Vizualizacija: Sledite navodilom za uporabo v sistemih za zaznavanje polimerov Novolink™ Polymer Detection Systems. Za dodatne informacije o izdelku ali podporo se obrnite na svojega lokalnega distributerja ali regionalno pisarno družbe Leica Biosystems, lahko pa obiščete tudi spletno mesto družbe Leica Biosystems na naslovu www.LeicaBiosystems.com.

Učinkovitost tega protitelesa je treba potrditi, kadar ga uporabljate z drugimi sistemi za ročno barvanje ali avtomatiziranimi okolji.

Shranjevanje in stabilnost

Hraniti pri temperaturi 2–8 °C. Ne zamrzujte. Takoj po uporabi ohladite na temperaturo 2–8 °C. Ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti, ki je naveden na nalepki na viali. Uporabnik naj preveri pogoje shranjevanja, ki se razlikujejo od zgoraj navedenih.

Priprava vzorcev

Priporočena fiksna raztopina je 10-% formalin v nevtralnem pufru za tkivne rezine, vstavljene v parafin.

Opozorila in previdnostni ukrepi

Vir priprave tega reagenta je supernatant celične kulture. Ker je to biološki izdelek, je treba z njim ravnati z ustreznno skrbnostjo.

Ta reagent vsebuje natrijev azid. Varnostni list je na voljo na zahtevo ali na spletnem mestu www.LeicaBiosystems.com.

Sledite zveznim, državnim ali lokalnim predpisom za odstranjevanje katerih koli morebitno strupenih sestavin.

Pred fiksacijo in po njej morate z vzorci in vsemi materiali, s katerimi so prišli v stik, rokovati tako, kot da lahko prenašajo okužbe, pri njihovem odstranjevanju pa sledite ustreznim previdnostnim ukrepom.¹ Nikoli ne pipetirajte reagentov z usti in pazite, da reagenti in vzorci ne pridejo v stik s kožo in sluznicami. Če reagenti ali vzorci pridejo v stik z občutljivimi deli, jih izperite z obilo vode. Poiščite zdravniško pomoč.

Pazite, da ne pride do mikrobne okužbe reagentov, saj lahko povzroči nespecifično barvanje.

Če uporabite čas ali temperature inkubacije, ki se razlikujejo od navedenih, lahko pridobite napačne rezultate. Uporabnik mora validirati morebitne spremembe.

Kontrola kakovosti

Razlike pri obdelavi tkiva in tehničnih postopkih v laboratoriju uporabnika lahko vodijo do precejšnje variabilnosti rezultatov, kar zahteva redne interne kontrole učinkovitosti poleg spodaj navedenih postopkov.

Kontrolni vzorci morajo biti sveži vzorci, pridobljeni z obdukcijo/biopsijo/kirurškim posegom, fiksirani s formalinom, obdelani in shranjeni v parafinskem vosku kakor hitro je mogoče ter na isti način, kot vzorci bolnikov.

Pozitivni kontrolni vzorci tkiva

Uporabite jih za opredelitev pravilno pripravljenih tkiv in ustreznih tehnik barvanja.

Pri vsakem postopku barvanja morate vsakemu sklopu preizkusnih pogojev dodati en pozitiven kontrolni vzorec tkiva.

Za kar najboljšo kontrolo kakovosti in boljše zaznavanje manjših stopenj razkroja reagenta je bolj primerno uporabiti tkivo z blagim pozitivnim obarvanjem kot tkivo z močnim pozitivnim obarvanjem.²

Za pozitivni kontrolni vzorec tkiva priporočamo črevo.

Če pozitivni kontrolni vzorci tkiva ne pokažejo pozitivnega obarvanja, rezultate preizkusnih vzorcev zavrzite kot neveljavne.

Negativni kontrolni vzorci tkiva

Pregledati jih morate po pregledu pozitivnih kontrolnih vzorcev tkiva, da preverite specifičnost oznake ciljnega antigena glede na primarno protiteleso. Za negativno kontrolo tkiva priporočamo tkivo skeletnih mišic.

Drugače pa se kot negativni kontrolni vzorci pogosto uporablja vrsta različnih celic, ki so prisotne v večini rezin tkiv, vendar pa mora tako uporabo preveriti uporabnik.

Nespecifično barvanje, če je prisotno, je običajno razpršeno. Opazite lahko tudi posamično obarvanje vezivnega tkiva v rezinah tkiv, kot posledica premočnega fiksiranja s formalinom. Za razlago rezultatov obarvanja uporabite nespremenjene celice. Obarvanje nekrotičnih ali degeneriranih celic je pogosto nespecifično.³ Lažno pozitivni rezultati se lahko pojavijo zaradi ne-immunološke vezave proteinov ali reakcijskih substrat izdelkov.

Povzročijo jih lahko tudi endogeni encimi, kot so psevdo-peroksidaza (eritrociti), endogena peroksidaza (citokrom C) ali endogeni biotin (npr. jetra, dojke, možgani, ledvice), odvisno od vrste uporabljenega imunskega barvila. Če želite razlikovati

endogeno aktivnost encimov ali nespecifično vezavo encimov od specifične imunske reaktivnosti, lahko barvate dodatna tkiva bolnika izključno s kromogenom za substrat ali encimskimi kompleksi (avidin-biotin, streptavidin, označeni polimer) oziroma s kromogenom za substrat. Če pride do specifičnega obarvanja negativnih kontrolnih vzorcev tkiva, morate rezultate vzorcev bolnika zavreči kot neveljavne.

Negativni kontrolni reagent

Za oceno nespecifičnega barvanja in boljšo razlago specifičnega obarvanja na antigenskem mestu uporabite nespecifični negativni kontrolni reagent namesto primarnega protitelesa z eno rezino vsakega vzorca bolnika.

Bolnikovo tkivo

Nazadnje preglejte bolnikove vzorce, obarvane z izdelkom NCL-L-MSH2-612. Intenzivnost pozitivnega obarvanja ocenite v okviru morebitnega nespecifičnega obarvanja ozadja z negativnim kontrolnim reagentom. Tako kot pri vseh imunohistokemijskih preizkusih negativen rezultat pomeni, da antigen ni bil zaznan, ne pa tudi, da je antigen odsoten v testiranih celicah/tkivih. Po potrebi uporabite nabor protiteles za opredelitev napačnih negativnih reakcij.

Pričakovani rezultati

Normalna tkiva

Klon 79H11 je zaznal protein za popravljanje neujemanja 2 (MSH2) v jedrih celic različnih tkiv, vključno z možgani, malimi možgani, nadledvično žlezo, materničnim vratom, jajčniki, trebušno slinavko, bezgavkami, hipofizo, testisi, ščitnico, dojkami, vranico, tonzilo, prižljcem, kostnim mozgom, pljuči, mišicami, požiralnikom, želodcem, tankim črevesom, debelim črevesom, jetri, slinavkami, ledvicami, prostato, endometrijem, kožo, žilci, mezotelijem, očmi, grlom, obščitnico in mehurjem. (Skupno število ocenjenih tkiv = 105).

Nenormalna tkiva

Klon 79H11 je obarval 5/8 karcinomov kolona (vključno s 4/4 kolorektalnih karcinomov, 0/3 znanih na MSH2 negativnih kolorektalnih karcinomov in 1/1 mucinoznega adenokarcinoma), 5/5 adenokarcinomov žolčnika, 3/3 astrocitomov, 3/3 ploščatoceličnih karcinomov požiralnika, 3/3 adenokarcinomov želodca, 3/3 adenokarcinomov pljuč, 3/3 adenokarcinomov trebušne slinavke, 3/3 jasnoceličnih karcinomih ledvic, 3/3 karcinomov prehodnih celic sečnega mehurja, 3/3 karcinomov skvamoznih celic materničnega vratu, 3/3 invazivnih duktalnih karcinomov dojke, 2/2 papilarnih karcinomov ščitnice, 2/2 adenokarcinomov prostate (skupno število ocenjenih primerov = 44).

Izdelek NCL-L-MSH2-612 se priporoča za zaznavanje proteina MSH2 v normalnih in neoplastičnih tkivih, kot dodatna analiza konvencionalni histopatologiji z uporabo neimunoloških histokemičnih barvil.

Splošne omejitve

Imunohistokemija je diagnostični postopek z več koraki, ki zahteva specializirano usposabljanje za izbiro ustreznih reagentov, izbiro, fiksiranje in obdelavo tkiv, pripravo IHC preparata in razlago rezultatov obarvanja.

Obarvanje tkiva je odvisno od rokovanja s tkivom in njegovo obdelavo pred barvanjem. Nepravilno fiksiranje, zamrzovanje, odtajanje, izpiranje, sušenje, segrevanje, rezanje ali okužba z drugimi tkivi ali tekočinami lahko povzroči nastanek artefaktov, lovljenje protitelesa ali lažne negativne rezultate. Nedosledni rezultati so lahko posledica razlik pri metodah fiksacije in priprave ali pa so del nepravilnosti tkiva samega.⁴

Prekomerno ali nepopolno nasprotno barvanje lahko neugodno vpliva na pravilno razlago rezultatov.

Klinično razlago obarvanja ali odsotnosti tega marajo dopolnjevati morfološke študije ustreznih kontrolnih vzorcev, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

Protitelesa družbe Leica Biosystems Newcastle Ltd so namenjena uporabi, kot je navedeno, na zamrznjenih ali v parafin vstavljenih rezinah z določeni zahtevami za fiksacijo. Lahko pride do nepričakovanega izražanja antigena, zlasti pri neoplazmah. Pri klinični razlagi obarvane rezine tkiva morate upoštevati morfološko analizo in oceno ustreznih kontrol.

Splošna literatura

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma. *Modern Pathology*. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2009; 120 (3); 777-782.

Dodatki in spremembe k prejšnji izdaji

Ni na voljo

Datum izdaje

03 maj 2019

Tekutá myši monoklonální protilátka Novocastra™

Mismatch Repair Protein 2 (MSH2)

Kód výrobku: NCL-L-MSH2-612

Zamýšlené použití

Pro diagnostické použití in vitro.

NCL-L-MSH2-612 je určen ke kvalitativnímu stanovení mismatch repair proteinu 2 (MSH2) světelnou mikroskopií na parafinových řezech. Klinickou interpretaci jakéhokoliv barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfoloickým vyšetřením s použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

Princip metody

Imunohistochemické (IHC) barvicí techniky umožňují vizualizaci antigenů pomocí sekvenční aplikace specifické protilátky proti antigenu (primární protilátka), sekundární protilátky proti primární protilátce a enzymového komplexu s chromogenním substrátem s interponovanými omývacími kroky. Enzymatická aktivace chromogenu má za následek viditelnou reakci produktu v místě antigenu. Vzorek pak může být kontrastně nabarven a překryt krycím sklíčkem. Výsledky se interpretují ve světlém mikroskopu; jsou pomůckou v diferenciální diagnostice patofyziologických procesů, které mohou, ale nemusí, souviset s příslušným antigenem.

Klon

79H11

Imunogen

Prokaryotický rekombinantní protein odpovídající oblasti s 304 aminokyselinami v blízkosti N-koncovky lidské molekuly MSH2.

Specifita

Lidský MSH2.

Složení reagentie

NCL-L-MSH2-612 je tekutý supernatant z tkáňové kultury obsahující jako konzervační prostředek azid sodný.

Třída Ig

Ig G1

Koncentrace celkového proteinu

Total Protein

Koncentrace celkového proteinu specifická pro šarži je uvedena na štítku na lahvičce.

Koncentrace protilátek

45 mg/l nebo vyšší, stanovená metodou ELISA. Koncentrace imunoglobulinu (Ig) specifická pro šarži je uvedena na štítku na lahvičce.

Doporučení k použití

Imunohistochemické vyšetření na parafinových řezech.

Teplem indukované odmaskování epitopu (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Postupujte podle pokynů k použití k roztoku Novocastra Epitope Retrieval pH 9.

Doporučené ředění: 1 : 80 po dobu 30 minut při 25 °C. Toto doporučení je uvedeno jako vodítko; uživatelé musí stanovit vlastní optimální pracovní ředění.

Vizualizace: Postupujte podle návodu k použití k systémům Novolink™ Polymer Detection Systems. Další informace o produktu nebo podporu si vyžádejte od místního distributora nebo regionální kanceláře společnosti Leica Biosystems nebo navštivte internetové stránky společnosti Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com.

Výkon této protilátky je třeba validovat, pokud se používá s jinými systémy pro ruční barvení nebo na automatických platformách.

Skladování a stabilita

Skladujte při teplotě 2–8 °C. Nezmrazujte. Okamžitě po použití vraťte do teploty 2–8 °C. Nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na štítku na lahvičce. Podmínky skladování jiné než výše uvedené musí uživatel validovat.

Příprava vzorku

Fixační roztok doporučený pro řezy tkáně zalité v parafínu je 10% formalin pufovaný na neutrální pH.

Varování a bezpečnostní opatření

Tato reagentie byla připravena ze supernatantu z buněčné kultury. Protože jde o biologický produkt, je nutno manipulaci s ní věnovat náležitou pozornost.

Tato reagentie obsahuje azid sodný. Bezpečnostní list materiálu je k dispozici na požádání nebo na webu www.LeicaBiosystems.com. Údaje o likvidaci jakýchkoli potenciálně toxických komponent prostudujte ve federálních, státních nebo místních nařízeních.

Se vzorky, před fixací i po fixaci, a se všemi materiály jim vystavenými, je nutno zacházet, jako by mohly způsobit přenos infekce, a likvidovat je s náležitými bezpečnostními opatřeními.* Reagentie nikdy nepipetujte ústy a zabraňte styku reagentií a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagentie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody. Vyhledejte lékařskou pomoc.

Minimalizujte mikrobiální kontaminaci reagentií, mohlo by dojít ke zvýšení výskytu nespecifického barvení.

Inkubační doby nebo teploty jiné než předepsané mohou vést k chybným výsledkům. Všechny takové změny musí být uživatelem validovány.

Kontrola jakosti

Rozdíly ve zpracování tkání a v technických postupech v laboratoři uživatele mohou způsobit významnou variabilitu výsledků, což vyžaduje kromě níže uvedených postupů i pravidelné provádění kontrol v laboratoři.

Kontroly musí být čerstvé pitevni/biopsické/operační vzorky co nejdříve fixované formálním, zpracované a zalité do parafinového vosku, stejným způsobem jako vzorek/vzorky pacienta.

Pozitivní tkáňová kontrola

Používá se k průkazu správně připravených tkání a správných barvicích technik.

V každém barvicím cyklu musí být použita jedna pozitivní tkáňová kontrola pro každý soubor testovacích podmínek.

Pro optimální kontrolu jakosti a k detekci menšího stupně degradace reagentie je vhodnější tkáň se slabým pozitivním barvením než tkáň se silným pozitivním barvením.²

Doporučená pozitivní tkáňová kontrola je střevo.

Pokud pozitivní tkáňová kontrola nevykazuje pozitivní barvení, musí být výsledky testovaných vzorků považovány za neplatné.

Negativní tkáňová kontrola

Musí být vyšetřena po pozitivní tkáňové kontrole k ověření specificity označení cílového antigenu primární protilátkou. Doporučená negativní tkáňová kontrola je kosterní sval.

Alternativně často představuje místa negativní kontroly řada různých typů buněk přítomných ve většině tkáňových řezů, to ale musí uživatel validovat.

Nespecifické barvení, je-li přítomno, má obvykle difúzní vzhled. V řezech ze tkání nadměrně fixovaných formálním může být také zjištěno sporadické barvení pojivové tkáně. K interpretaci výsledků barvení použijte neporušené buňky. Nekrotické nebo degenerované buňky se často barví nespecificky.³ Falešně pozitivní výsledky mohou být důsledkem neimunologické vazby proteinů nebo produktů reakčního substrátu.

Mohou být také způsobeny endogenními enzymy, jako je např. pseudoperoxidáza (erythrocyty), endogenní peroxidáza (cytochrom C) nebo endogenní biotin (např. játra, prs, mozek, ledviny), podle typu použitého imunobarviva. K odlišení

aktivit endogenních enzymů či nespecifické vazby enzymů od specifické imunoreaktivity mohou být barveny další tkáně pacienta výlučně chromogenním substrátem, případně enzymovými komplexy (avidin-biotin, streptavidin, značený polymer) a chromogenním substrátem. Pokud dojde v negativní tkáňové kontrole ke specifickému barvení, musí být výsledky vzorků pacienta považovány za neplatné.

Negativní reagenční kontrola

K vyhodnocení nespecifického barvení a umožnění lepší interpretace specifického barvení v místě antigenu použijte na řezu z každého vzorku pacienta nespecifickou negativní reagenční kontrolu místo primární protilátky.

Tkáň pacienta

Nakonec vyšetřete vzorky pacienta barvené pomocí NCL-L-MSH2-612. Intenzita pozitivního barvení musí být zhodnocena v kontextu se vším nespecifickým barvením pozadí u negativní reagenční kontroly. Jako u každého imunohistochemického vyšetření, negativní výsledek znamená, že antigen nebyl zjištěn, nikoli, že antigen není ve vyšetřovaných buňkách/tkáňích přítomen. V případě potřeby použijte k identifikaci falešně negativních reakcí panel protilátek.

Očekávané výsledky

Normální tkáň

Klon 79H11 detekoval mismatch repair protein 2 (MSH2) v jádrech buněk z různých tkání, včetně mozku, mozečku, nadledvinové žlázy, děložního krčku, vaječniku, pankreatu, lymfatických uzlin, hypofýzy, varlete, štítné žlázy, prsu, sleziny, tonzily, thymu, kostní dřevě, plíc, svalů, jícnu, žaludku, tenkého střeva, hrubého střeva, jater, slinné žlázy, ledviny, prostaty, endometria, kůže, nervů, mesothelu, oka, laryngu, přišitné žlázy a močového měchýře. (Celkový počet vyšetřených tkání = 105).

Abnormální tkáň

Klon 79H11 barvil 5/8 adenokarcinomů hrubého střeva (včetně 4/4 kolorektálních karcinomů, 0/3 známých MSH2-negativních kolorektálních karcinomů a 1/1 mucinózního adenokarcinomu), 5/5 adenokarcinomů žlučníku, 3/3 astrocytomů, 3/3 jícnových spinocelulárních karcinomů, 3/3 adenokarcinomů žaludku, 3/3 adenokarcinomů plíc, 3/3 adenokarcinomů pankreatu, 3/3 světlóbuněčných karcinomů ledvin, 3/3 karcinomů přechodného epitelu močového měchýře, 3/3 spinocelulárních karcinomů děložního krčku, 3/3 invazivních duktálních karcinomů prsu, 2/2 papilárních karcinomů štítné žlázy, 2/2 adenokarcinomů prostaty (celkový počet vyšetřených případů = 44).

NCL-L-MSH2-612 se doporučuje k detekci proteinu MSH2 v normálních a neoplastických tkáních, jako doplněk ke konvenční histopatologii s použitím neimunologických histochemických nátěrů.

Obecná omezení

Imunohistochemické vyšetření je víceokrový diagnostický proces, který spočívá ve specializovaném školení ve výběru vhodných reagentů, výběru, fixaci a zpracování tkání; přípravě imunohistochemického IHC sklíčka; a v interpretaci výsledků barvení.

Barvení tkáně závisí na manipulaci s tkání a jejím zpracování před barvením. Nesprávným postupem při fixaci, zmrazení, rozmrazení, omývání, sušení, zahřívání, krájení řezů nebo kontaminací jinými tkáněmi či tekutinami mohou vzniknout artefakty, může dojít k vychytávání protilátek nebo k falešně negativním výsledkům. Nekonzistentní výsledky mohou být důsledkem odchylek ve fixačních metodách a metodách zalití v konzervačním médiu, nebo přirozených odchylek ve tkáni.⁴

Nadměrně nebo nedostatečně kontrastní barvení může narušit správnou interpretaci výsledků.

Klinickou interpretaci jakéhokoliv barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfologickým vyšetřením s použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

Protílátky společnosti Leica Biosystems Newcastle Ltd se používají, jak bylo uvedeno, u zmrazených nebo u parafinových řezů se specifickými požadavky na fixaci. Může dojít k expresi neočekávaných antigenů, zejména u nádorů. Klinická interpretace jakéhokoliv barveného tkáňového řezu musí zahrnovat morfologickou analýzu a zhodnocení příslušných kontrol.

Literatura - všeobecná

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma. Modern Pathology. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Breast Cancer Research and Treatment. 2009; 120 (3); 777-782.

Opravy předchozího vydání

–

Datum vydání

03 květen 2019

Tekutá myšia monoklonálna protilátka Novocastra™

Mismatch Repair Protein 2 (MSH2)

Kód produktu: NCL-L-MSH2-612

Zamýšľané použitie

Na diagnostické použitie in vitro.

NCL-L-MSH2-612 slúži na kvalitatívnu identifikáciu proteínu systému „mismatch repair“ 2 (MSH2) v parafínových rezoch pomocou svetelného mikroskopu. Klinická interpretácia akéhokoľvek farbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými vyšetreniami za použitia zodpovedajúcich kontrol. Výsledky je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a iných diagnostických testov vedených kvalifikovaným patológom.

Princíp postupu

Techniky imunohistochemického (IHC) zafarbenia umožňujú vizualizáciu antigénov sekvenčnou aplikáciou špecifickej protilátky proti antigénu (primárna protilátka), sekundárnej protilátky proti primárnej protilátke a enzymatického komplexu s chromogénnym substrátom. Medzi jednotlivými krokmi prebieha premývanie. Enzymatická aktivácia chromogénu vytvára v mieste antigénu viditeľné produkty reakcie. Môžete doplniť kontrastné zafarbenie vzorky a zakryť ju krycím sklíčkom. Výsledky sa interpretujú pomocou svetelného mikroskopu a napomáhajú pri diferenciálnej diagnostike patofyziologických procesov, ktoré môžu, ale nemusia byť spojené s určitým antigénom.

Klon

79H11

Imunogén

Prokaryotický rekombinantný proteín zodpovedajúci oblasti s 304 aminokyselinami N-koncovky ľudskej molekuly MSH2.

Špecificita

Ľudský MSH2.

Zloženie činidla

NCL-L-MSH2-612 je tekutý supernatant na tkanivovú kultiváciu obsahujúci azid sodný ako konzervačnú látku.

Trieda Ig

Ig G1

Celková koncentrácia proteínov Total Protein

Celkovú koncentráciu proteínov špecifickú pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

Koncentrácia protilátok

Vyššia alebo rovná 45 mg/l podľa ELISA. Koncentráciu Ig špecifickú pre šaržu nájdete na štítku fľaštičky.

Odporúčania na použitie

Imunohistochemia parafínových rezov.

Záchyt epitopov s tepelnou indukciou (HIER): Postupujte podľa návodu na použitie systému Novocastra Epitope Retrieval pH 9.

Odporúčané riedenie: 1 : 80 po dobu 30 minút pri teplote 25 °C. Táto hodnota je orientačná, používatelia si musia stanoviť svoje vlastné optimálne pracovné riedenia.

Vizualizácia: Postupujte podľa návodu na použitie systémov Novolink™ Polymer Detection Systems. Ďalšie informácie o produkte alebo podporu vám poskytne váš miestny distribútor alebo lokálne zastúpenie spoločnosti Leica Biosystems. Takisto môžete navštíviť internetovú stránku spoločnosti Leica Biosystems:

www.LeicaBiosystems.com

Funkčnosť tejto protilátky je nutné validovať pri použití s inými manuálnymi systémami farbenia alebo automatizovanými platformami.

Uskladnenie a stabilita

Skladujte pri teplote 2 – 8 °C. Nezmrazujte. Okamžite po použití vráťte do teploty 2 – 8 °C. Nepoužívajte po uplynutí dátumu expirácie uvedeného na štítku fľaštičky. Iné než vyššie uvedené podmienky skladovania si vyžadujú validáciu používateľom.

Príprava vzorky

Odporúčaný fixačný prípravok je 10 % neutrálny pufovaný formalín pre bločky tkaniva zaliate do parafínu.

Varovania a bezpečnostné opatrenia

Toto činidlo bolo pripravené zo supernatantu bunkovej kultúry. Keďže ide o biologický produkt, pri manipulácii je nutné vynaložiť zodpovedajúcu starostlivosť.

Toto činidlo obsahuje azid sodný. Materiálový bezpečnostný list je k dispozícii na požiadanie alebo na stránke www.LeicaBiosystems.com. Likvidáciu prípadných potenciálne toxických súčastí definujú federálne, štátne alebo miestne predpisy.

So vzorkami pred fixáciou a po nej a všetkými materiálmi, ktoré s nimi prišli do kontaktu, je nutné manipulovať ako s potenciálne infekčnými a zlikvidovať ich pri dodržaní zodpovedajúcich bezpečnostných opatrní. Činidlá nikdy nepipetujte ústami a zabráňte kontaktu činidiel a vzoriek s kožou a sliznicami. Ak sa činidlá alebo vzorky dostanú do kontaktu s citlivými oblasťami, umyte ich veľkým množstvom vody. Vyhľadajte lekársku pomoc.

Minimalizujte mikrobiálnu kontamináciu činidiel. V opačnom prípade môže dôjsť k zvýšeniu nešpecifického zafarbenia.

Nedodržanie predpísaných inkubačných dób alebo teplôt môže viesť k nesprávnym výsledkom. Všetky takéto zmeny si vyžadujú validáciu používateľom.

Kontrola kvality

Rozdiely v spracovaní tkaniva a technických postupoch v laboratóriu používateľa môžu viesť k významnému kolísaniu výsledkov, čo si vyžaduje, okrem nasledujúcich postupov, aj pravidelné interné kontroly. Kontroly by mali byť čerstvé pitevné/bioptické/chirurgické vzorky fixované čo najskôr formálnom a spracované zaliatím do parafínu rovnakým spôsobom ako vzorky pacienta.

Pozitívna kontrola tkanivom

Identifikuje správne pripravené tkanivá a správne techniky zafarbenia.

Každá súprava testových podmienok v každom cykle zafarbenia musí obsahovať jednu pozitívnu kontrolu tkanivom.

Tkanivo so slabým pozitívnym farbením je pre optimálnu kontrolu kvality a na detekciu slabšej degradácie činidla vhodnejšie než tkanivo so silným pozitívnym farbením.²

Odporúčané tkanivo na pozitívnu kontrolu je črevo

Ak pozitívna kontrola tkanivom nebude vykazovať pozitívne zafarbenie, výsledky testovaných vzoriek je nutné považovať za neplatné.

Negatívna kontrola tkanivom

Nutné vyšetriť po pozitívnej kontrole tkanivom s cieľom overiť špecifickosť značenia cieľového antigénu primárnou protilátkou. Odporúčané tkanivo na negatívnu kontrolu je kostrový sval.

Ako negatívnu kontrolu je možné použiť aj rôzne typy buniek prítomné vo väčšine tkanivových rezov, takýto postup si však vyžaduje validáciu používateľom.

Prípadné nešpecifické farbenie má obvykle difúzny vzhľad. V rezoch tkanív silne fixovaných formálnom môže byť pozorované sporadické farbenie spojiva. Na interpretáciu výsledkov farbenia používajte intaktné bunky. Nekrotické alebo degenerované bunky sa často farbja nešpecificky.³ Falošne pozitívne výsledky môžu byť pozorované v dôsledku neimunologickej väzby proteínov alebo produktov reakcie substrátu. Môžu byť spôsobené aj endogénnymi enzýmami ako napr. pseudoperoxidáza (erythrocyty), endogénna peroxidáza (cytochróm C) alebo endogénny biotín (napr. pečene, prsník, mozog, oblička) v závislosti od typu imunologického farbenia. S cieľom diferencovať endogénnu enzymatickú aktivitu alebo nešpecifickú väzbu enzýmov od špecifickej imunoreaktivity môžete nafarbiť ďalšie vzorky tkanív pacienta výhradne substrátovým chromogénom alebo enzymatickými komplexmi (avidín-biotín, streptavidín, značený polymér), resp. substrátovým chromogénom. V prípade špecifického farbenia v negatívnej kontrole tkanivom je nutné výsledky vzoriek pacienta považovať za neplatné.

Negatívna kontrola činidlom

Na vyhodnotenie nešpecifického zafarbenia použite nešpecifickú negatívnu kontrolu činidlom miesto primárnej protilátky s rezom jednotlivých vzoriek pacienta, čo umožní lepšiu interpretáciu špecifického farbenia na mieste antigénu.

Tkanivo pacienta

Pacientske vzorky zafarbené prípravkom NCL-L-MSH2-612 preskúmajte ako posledné. Intenzitu pozitívneho farbenia je nutné vyhodnotiť v kontexte prípadného nešpecifického farbenia negatívnej kontroly činidlom na pozadí. Podobne ako pri všetkých imunohistochemických testoch znamená negatívny výsledok, že antigén nebol detegovaný. Nepotvrzuje jeho absenciu v testovaných bunkách/tkanivách. V prípade potreby identifikujte falošne negatívne reakcie pomocou panelu protilátok.

Očakávané výsledky

Normálne tkanivá

Klon 79H11 detegoval proteín typu „mismatch repair“ 2 (MSH2) v jadrách buniek rôznych tkanív, vrátane mozgu, mozočku, nadobličky, krčku maternice, vaječníku, pankreasu, lymfatických uzlín, hypofýzy, semenníku, štítnej žľazy, prsníka, sleziny, tonzily, thymusu, kostnej drene, pľúc, svalov, pažeráku, žalúdka, tenkého čreva, hrubého čreva, pečene, slinnej žľazy, obličky, prostaty, endometria, kože, nervov, mezetelu, oka, laryngu, prištítnej žľazy a močového mechúra. (Celkový počet vyšetrených tkanív = 105).

Abnormálne tkanivá

Klon 79H11 farbilo 5/8 karcinómov hrubého čreva (vrátane 4/4 kolorektálnych karcinómov, 0/3 označovaných ako MSH2-negatívne kolorektálne karcinómy a 1/1 mucinózný adenokarcinóm), 5/5 adenokarcinómov žľaznice, 3/3 astrocytómov, 3/3 spinocelulárnych karcinómov žalúdka, 3/3 adenokarcinómov žalúdka, 3/3 pľúcnych adenokarcinómov, 3/3 adenokarcinómov pankreasu, 3/3 svetlobunkových karcinómov obličky, 3/3 karcinómov prechodného epitelu močového mechúra, 3/3 spinocelulárnych karcinómov krčku maternice, 3/3 invazívnych ductálnych karcinómov prsníka, 2/2 papilárnych karcinómov štítnej žľazy, 2/2 adenokarcinómov prostaty (celkový počet vyhodnotených prípadov = 44).

NCL-L-MSH2-612 sa odporúča na detekciu proteínu MSH2 v normálnych a neoplastických tkanivách ako doplnok konvenčnej histopatológie za použitia neimunologických histochemických farbení.

Všeobecné limitácie

Imunohistochemia je diagnostický postup pozostávajúci z viacerých krokov, ktorý si vyžaduje špecializované zaškolenie vo výbere zodpovedajúcich činidiel, výbere tkanív, fixácie a spracovania, príprave IHC sklíčka a interpretácii výsledkov farbenia.

Farbenie tkaniva závisí od manipulácie s tkanivom a od jeho spracovania pred farbením. Nesprávna fixácia, zmrazovanie, rozmrazovanie, premývanie, sušenie, ohrievanie, rezanie alebo kontaminácia inými tkanivami či tekutinami môžu viesť k vzniku artefaktov, záchytu protilátok alebo falošne negatívnym výsledkom. Inkonzistentné výsledky môžu byť spôsobené zmenami metód fixácie a zaliatia preparátov alebo inherentnými nepravidłosťami v rámci tkaniva.⁴

Nadmerné alebo neúplné kontrastné farbenie môže narušiť správnosť interpretácie výsledkov.

Klinická interpretácia akéhokoľvek farbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými vyšetreniami za použitia zodpovedajúcich kontrol. Výsledky je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a iných diagnostických testov vedených kvalifikovaným patológom.

Protilátky spoločnosti Leica Biosystems Newcaste Ltd sú určené na použitie na zmrazených rezoch alebo rezoch zaliatých parafinom so špecifickými požiadavkami na fixáciu, ako uvádza tento dokument. Najmä pri neopláziách môže dôjsť k nečakanej expresii antigénov. Klinická interpretácia akýchkoľvek farbených tkanivových rezov musí zahŕňať morfológickú analýzu a vyhodnotenie zodpovedajúcich kontrol.

Bibliografia – všeobecne

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Tsai J, Lin Y, Cheng Y, et al. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma. Modern Pathology. 2015; 28: 268-278.
6. Jensen UB, Sunde L, Timshel S, et al. Mismatch repair defective breast cancer in the hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Breast Cancer Research and Treatment. 2009; 120 (3); 777-782.

Úpravy predchádzajúceho vydania

–

Dátum vydania

03 máj 2019

Leica Biosystems Newcastle Ltd
Balliol Business Park
Benton Lane
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW
United Kingdom
☎ +44 191 215 4242



Leica Biosystems Canada
71 Four Valley Drive
Concord, Ontario L4K 4V8
Canada
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Inc
1700 Leider Lane
Buffalo Grove IL 60089
USA
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Melbourne
Pty Ltd
495 Blackburn Road
Mt Waverley VIC 3149
Australia
☎ +61 2 8870 3500