

BOND™ Ready-to-Use Primary Antibody Melan A (A103)

Catalog No: PA0233

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](#) [AR](#)

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 ho pred použitím produktov.

إرشادات الاستعمال

يُرجى القراءة قبل استخدام هذا المنتج.

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.

Pre použitím skontrolujte, či balenie nie je porušené.

تحقق من سلامة العبوة قبل الاستخدام.

BOND™ Ready-To-Use Primary Antibody Melan A (A103) Catalog No: PA0233

Intended Use

This reagent is for *in vitro* diagnostic use.

Melan A (A103) monoclonal antibody is intended to be used for the qualitative identification by light microscopy of human melan A molecule in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue by immunohistochemical staining using the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system).

The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies and proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Summary and Explanation

Immunohistochemical techniques can be used to demonstrate the presence of antigens in tissue and cells (see "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation). Melan A (A103) primary antibody is a ready to use product that has been specifically optimized for use with either BOND Polymer Refine Detection (DS9800) or BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). The demonstration of human melan A molecule is achieved by first allowing the binding of Melan A (A103) to the section, and then visualizing this binding using the reagents provided in the detection system. The use of these products, in combination with the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system), reduces the possibility of human error and inherent variability resulting from individual reagent dilution, manual pipetting and reagent application.

Reagents Provided

Melan A (A103) is a mouse anti-human monoclonal antibody produced as a tissue culture supernatant, and supplied in Tris buffered saline with carrier protein, containing 0.35 % ProClin™ 950 as a preservative.

Total volume = 7 mL.

Clone

A103.

Immunogen

Prokaryotic recombinant fusion protein corresponding to the human melan A molecule.

Specificity

Human melan A, recognizing a 20 to 22 kD doublet in melan A mRNA-positive melanoma cell lines. Does not react with melan A mRNA-negative cell lines.

Ig Class

IgG1.

Total Protein Concentration

Approx 10 mg/mL.

Antibody Concentration

Greater than or equal to 0.5mg/L as determined by ELISA.

Dilution and Mixing

Melan A (A103) primary antibody is optimally diluted for use on the BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system). Reconstitution, mixing, dilution or titration of this reagent is not required.

Materials Required But Not Provided

Refer to "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation for a complete list of materials required for specimen treatment and immunohistochemical staining using the BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system).

Storage and Stability

Store at 2–8 °C. Do not use after the expiration date indicated on the container label.

The signs indicating contamination and/or instability of Melan A (A103) are: turbidity of the solution, odor development, and presence of precipitate.

Return to 2–8 °C immediately after use.

Storage conditions other than those specified above must be verified by the user¹.

Precautions

- This product is intended for *in vitro* diagnostic use.
- The concentration of ProClin™ 950 is 0.35 %. It contains the active ingredient 2-methyl-4-isothiazolin-3-one, and may cause irritation to the skin, eyes, mucous membranes and upper respiratory tract. Wear disposable gloves when handling reagents.
- To obtain a copy of the Material Safety Data Sheet contact your local distributor or regional office of Leica Biosystems, or alternatively, visit the Leica Biosystems' Web site, www.LeicaBiosystems.com

- 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 precautions². Never pipette reagents by mouth and avoid contacting the skin and mucous membranes with reagents or specimens. If reagents or specimens come in contact with sensitive areas, wash with copious amounts of water. Seek medical advice.
- Consult Federal, State or local regulations for disposal of any potentially toxic components.
- Minimize microbial contamination of reagents or an increase in non-specific staining may occur.
- Retrieval, incubation times or temperatures other than those specified may give erroneous results. Any such change must be validated by the user.

Instructions for Use

Melan A (A103) primary antibody was developed for use on the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system) in combination with either BOND Polymer Refine Detection (DS9800) or BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). The recommended staining protocols for Melan A (A103) primary antibody are IHC Protocol F when using BOND Polymer Refine Detection and IHC Protocol J when using BOND Polymer Refine Red Detection. Heat induced epitope retrieval is recommended using BOND Epitope Retrieval Solution 2 for 20 minutes.

Results Expected

Normal Tissues

Clone A103 detects the Melan A antigen in the cytoplasm of melanocytes. Some positivity may also be seen in the adrenal cortex and testis. (Total number of normal cases evaluated = 85).

Tumor Tissues

Clone A103 stained 12/119 tumors evaluated, including skin tumors (12/76, including 12/14 malignant melanomas, 0/16 squamous cell carcinomas, 0/14 basal cell carcinomas, 0/10 sweat gland carcinomas, 0/10 dermatofibrosarcomas, 0/3 metastatic adenocarcinomas, 0/3 malignant schwannomas, 0/2 adenoid cystic carcinomas, 0/1 fibrosarcomas, 0/1 sebaceous adenocarcinomas, 0/1 pleomorphic undifferentiated sarcomas and 0/1 leiomyosarcomas), liver carcinomas (0/5), ovarian tumors (0/4), lung carcinomas (0/4), thyroid papillary carcinomas (0/4), brain tumors (0/2), squamous cell carcinomas of the esophagus (0/2), breast carcinomas (0/2), adenocarcinomas of the stomach (0/2), soft tissue tumors (0/2), squamous cell carcinomas of the tongue (0/2), metastatic tumors of unknown origin (0/2), renal cell carcinomas (0/2), squamous cell carcinomas of the cervix (0/2), testicular seminomas (0/2), adenocarcinomas of the colon (0/2), adenocarcinomas of the rectum (0/2), squamous cell carcinomas of the larynx (0/1), and atypical carcinoid tumors of the thymus (0/1) (Total number of tumor cases evaluated = 119).

Melan A (A103) is recommended for the assessment of melan A in melanocytic lesions.

Product Specific Limitations

Melan A (A103) has been optimized at Leica Biosystems for use with either BOND Polymer Refine Detection or BOND Polymer Refine Red Detection and BOND ancillary reagents. Users who deviate from recommended test procedures must accept responsibility for interpretation of patient results under these circumstances. The protocol times may vary, due to variation in tissue fixation and the effectiveness of antigen enhancement, and must be determined empirically. Negative reagent controls should be used when optimizing retrieval conditions and protocol times.

Troubleshooting

Refer to reference 3 for remedial action.

Contact your local distributor or the regional office of Leica Biosystems to report unusual staining.

Further Information

Further information on immunostaining with BOND reagents, under the headings Principle of the Procedure, Materials Required, Specimen Preparation, Quality Control, Assay Verification, Interpretation of Staining, Key to Symbols on Labels, and General Limitations can be found in "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation.

Bibliography

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15–21.
5. Loy TS, Philips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170–172.
6. Clarkson KS, Sturdge IC and Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196–200.
7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. Journal of Pathology. 2001; 193:13–20.
8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2107–2115.
9. Blessing K, Grant JJH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. Journal of Clinical Pathology. 2000; 53:591–595.

10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*. 1998; 32 (2):139-146.
11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiters D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1 and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Date of Issue

10 September 2018

Anticorps Primaire Prêt À L'emploi BOND™

Melan A (A103)

Référence : PA0233

Utilisation Prévue

Ce réactif est destiné au diagnostic *in vitro*.

L'anticorps monoclonal Melan A (A103) est destiné à l'identification qualitative par microscopie optique de démonstration de la molécule melan A humaine dans des tissus fixés au formol et enrobés de paraffine par coloration immunohistochimique à partir du système BOND automatisé (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III).

L'interprétation clinique de tout marquage ou de son absence doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et évaluée dans le contexte des antécédents cliniques du patient et des autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

Résumé et Explications

Les techniques immunohistochimiques peuvent être utilisées pour la mise en évidence d'antigènes sur tissus ou cellules (voir "Utilisation des réactifs BOND" dans votre manuel d'utilisation BOND). L'anticorps primaire Melan A (A103) est un produit prêt à l'emploi recommandé pour être utilisé avec le BOND Polymer Refine Detection (DS9800) ou le BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). La preuve de démonstration de la molécule melan A humaine s'obtient d'abord par l'établissement de la liaison entre Melan A (A103) et la coupe, puis par la visualisation de cette liaison en utilisant les réactifs fournis dans le système de détection. L'utilisation de ces produits, en combinaison avec le système BOND automatisé (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III), réduit le risque d'erreurs humaines et la variabilité inhérente résultant de la dilution des réactifs individuels, du pipetage manuel et de l'application des réactifs.

Réactifs Fournis

Melan A (A103) est un anticorps monoclonal anti-humain de souris, produit par surnageant de culture de tissu et conditionné dans du tampon salin Tris avec une protéine de transport, contenant 0,35 % de ProClin™ 950 comme conservateur.

Volume total = 7 ml.

Clone

A103

Immunogène

Protéine de fusion procaryote recombinante correspondant à la molécule melan A humaine.

Spécificité

Melan A humain, reconnaissant un doublet 20 à 22 kD dans les lignées cellulaires de mélanome positives à l'ARNm du Melan-A. Ne réagit pas aux lignées cellulaires négatives à l'ARNm du Melan-A.

Classe d'Ig

IgG1

Concentration Totale en Protéine

Environ 10 mg/ml.

Concentration en Anticorps

Supérieure ou égale à 0,5 mg/L déterminée par ELISA.

Dilution et Mélange

L'anticorps primaire Melan A (A103) est dilué de manière optimale pour une utilisation sur le système BOND (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III).

Matériel Nécessaire Mais Non Fournis

Veillez vous référer à la section "Utilisation des réactifs BOND" dans votre mode d'emploi BOND pour obtenir une liste détaillée des matériaux requis pour le traitement des échantillons et la coloration immunohistochimique via le système BOND (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III).

Conservation et Stabilité

Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du récipient.

Une turbidité de la solution, une présence d'odeurs ou de précipité sont des signes indicateurs d'une contamination et/ou d'une instabilité de Melan A (A103).

Remettre entre 2 et 8 °C immédiatement après usage.

Des conditions de stockage différentes de celles ci-dessus doivent être contrôlées par l'utilisateur¹.

Précautions

- Ce produit est conçu pour le diagnostic *in vitro*.
- La concentration de ProClin™ 950 est de 0,35 %. Contient du 2-méthyl-4-isothiazoline-3-one (principe actif) et peut entraîner des irritations de la peau, des yeux, des muqueuses et des voies aériennes supérieures. Porter des gants jetables lors de la manipulation des réactifs.

- Pour obtenir une copie de la fiche technique des substances dangereuses, contactez votre distributeur local ou le bureau régional de Leica Biosystems, ou allez sur le site Web de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- Les échantillons, avant et après fixation, et tous les matériels ayant été en contact avec eux, devraient être manipulés comme s'ils étaient à risque infectieux et éliminés avec les précautions adéquates². Ne jamais pipeter les réactifs à la bouche et éviter le contact de la peau et des muqueuses avec les réactifs ou les échantillons. Si des réactifs ou des échantillons entrent en contact avec des zones sensibles, rincer abondamment à l'eau. Consultez un médecin.
- Renseignez-vous sur les règlements fédéraux, nationaux et locaux pour l'élimination des composés potentiellement toxiques.
- Éviter une contamination microbienne des réactifs qui peut entraîner un marquage non spécifique.
- Des durées ou températures de démasquage ou d'incubation autres que celles spécifiées peuvent donner des résultats erronés. Tout changement doit être validé par l'utilisateur.

Mode d'emploi

L'anticorps primaire Melan A (A103) a été développé pour être utilisé sur le système BOND automatisé (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III) en combinaison avec le BOND Polymer Refine Detection (DS9800) ou le BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Les protocoles de coloration recommandés pour l'anticorps primaire Melan A (A103) sont l'IHC Protocol F pour l'utilisation du BOND Polymer Refine Detection (DS9800) et l'IHC Protocol J pour l'utilisation du BOND Polymer Refine Red Detection. La récupération des épitopes induite par la chaleur est recommandée en utilisant BOND Epitope Retrieval Solution 2 pendant 20 minutes.

Résultats Attendus

Tissus sains

Clone A103 détecte l'antigène du Melan A dans le cytoplasme des mélanocytes. On peut également remarquer de la positivité dans le cortex surrénalien et les testicules. (Nombre total de cas normaux évalués = 85).

Tissus tumoraux

Clone A103 coloré 12/119 tumeurs évaluées, notamment les tumeurs de la peau (12/76, y compris 12/14 mélanomes malins, 0/16 carcinomes squameux, 0/14 carcinomes baso-cellulaires, 0/10 carcinomes sudoripares, 0/10 dermatofibrosarcomes, 0/3 adénocarcinomes métastatiques, 0/3 schwannomes malins, 0/2 carcinomes adénoïdes kystiques, 0/1 fibrosarcomes, 0/1 adénocarcinome sébacé, 0/1 sarcome pléomorphe indifférencié et 0/1 léiomyosarcome), carcinomes du foie (0/5), tumeurs ovariennes (0/4), carcinomes pulmonaires (0/4), carcinomes papillaires de la thyroïde (0/4), tumeurs cérébrales (0/2), carcinomes squameux de l'œsophage (0/2), carcinomes de la poitrine (0/2), adénocarcinomes de l'estomac (0/2), tumeurs des tissus mous (0/2), carcinomes squameux de la langue (0/2), tumeurs métastatiques d'origine inconnue (0/2), carcinomes des cellules rénales (0/2), carcinomes squameux du col utérin (0/2), séminomes du testicule (0/2), adénocarcinomes du colon (0/2), adénocarcinomes du rectum (0/2), carcinomes squameux du larynx (0/1), et tumeurs carcinoïdes atypiques du thymus (0/1) (Nombre total de cas de tumeurs évaluées = 119).

Melan A (A103) est recommandé pour l'évaluation du Melan-A dans les lésions mélanocytiques.

Limites Spécifiques du Produit

Melan A (A103) a été optimisé chez Leica Biosystems pour une utilisation avec BOND Polymer Refine Detection ou le BOND Polymer Refine Red Detection et les réactifs auxiliaires BOND. Les utilisateurs qui ne respectent pas les procédures de test recommandées prennent la responsabilité de l'interprétation des résultats des patients dans ces conditions. Les durées du protocole doivent être déterminées empiriquement, à cause des variations de fixation des tissus et d'efficacité du renforcement antigénique. Des contrôles négatifs des réactifs devraient être réalisés lors de l'optimisation des conditions de démasquage et des durées du protocole.

Identification des Problèmes

Voir la référence 3 pour connaître les actions correctrices.

Prenez contact avec votre distributeur local ou avec le bureau régional de Leica Biosystems pour signaler tout marquage inattendu.

Informations Complémentaires

Des informations complémentaires sur l'immunomarquage avec les réactifs BOND, les principes de la méthode, le matériel nécessaire, la préparation des échantillons, le contrôle qualité, les vérifications d'analyse, l'interprétation du marquage, les légendes et symboles sur les étiquettes et les limites générales, peuvent être obtenues dans "Utilisation des réactifs BOND" dans votre manuel d'utilisation BOND.

Bibliographie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code : M9-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15–21.
5. Loy TS, Philips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170–172.
6. Clarkson KS, Sturdjess IC and Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196–200.
7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. Journal of Pathology. 2001; 193:13–20.

8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2107–2115.
9. Blessing K, Grant JJH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. *Clinicopathological features and histological differential diagnosis*. *Journal of Clinical Pathology*. 2000; 53:591–595.
10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*. 1998; 32 (2):139-146.
11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiters D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbles T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1 and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Date de Publication

10 septembre 2018

Anticorpo Primario Pronto All'uso BOND™

Melan A (A103)

N. catalogo: PA0233

Uso Previsto

Reagente per uso diagnostico *in vitro*.

L'anticorpo monoclonale Melan A (A103) è previsto per essere utilizzato nell'identificazione qualitativa tramite microscopi ottici di la dimostrazione della molecola melan A umana in tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina tramite una colorazione immunistoichimica usando il sistema automatizzato BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III).

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.

Sommario e Speigazione

Grazie alle tecniche di immunistoichimica è possibile dimostrare la presenza di antigeni nel tessuto e nelle cellule (vedere "Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente BOND). L'anticorpo primario Melan A (A103) è un prodotto pronto per l'uso che si consiglia di utilizzare con BOND Polymer Refine Detection (DS9800) o BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). La dimostrazione di la dimostrazione della molecola melan A umana si ottiene in primo luogo consentendo il legame di Melan A (A103) con la sezione e quindi visualizzando il legame stesso per mezzo dei reagenti foniti nel sistema di rilevazione. L'uso di questi prodotti in combinazione con il sistema automatizzato BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III), riduce la possibilità di errori umani e la variabilità inerente derivante dalla diluizione dei reagenti, dal pipettaggio manuale e dall'applicazione dei reagenti.

Reagenti Forniti

Il Melan A (A103) è un anticorpo monoclonale murino anti-umano prodotto come sumatante di coltura tissutale e fornito in soluzione salina tamponata Tris con proteina carrier, contenente 0,35 % di ProClin™ 950 come conservante.

Volume totale = 7 ml.

Clone

A103

Immunogeno

Proteina di fusione ricombinante procariotica corrispondente alla molecola melan A umana.

Specificità

Melan A umana, che riconosce un duplicato da 20 a 22 kD in linee cellulari di melanoma mRNA-positive melan A. Non reagisce con linee cellulari mRNA-negative melan A.

Classe Ig

IgG1

Concentrazione Proteica Totale

Circa 10 mg/ml.

Concentrazione Dell'anticorpo

Uguale o superiore a 0,5 mg/L, determinata mediante ELISA.

Diluizione e Miscelazione

L'anticorpo primario Melan A (A103) è diluito in modo ottimale per essere usato con il sistema BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III). Non è necessario ricostituire, miscelare, diluire o titolare il reagente.

Materiale Necessario Non Fornito

Per una lista completa dei materiali necessari al trattamento dei campioni e alla colorazione immunistoichimica usando il sistema BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III), consultare "L'uso dei reagenti BOND" nel proprio manuale utente BOND.

Conservazione e Stabilità

Conservare a 2–8 °C. Non utilizzare dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta del contenitore.

I segni di contaminazione e/o instabilità del Melan A (A103) sono: torbidità della soluzione, formazione di odori e presenza di un precipitato.

Riportare a 2–8 °C immediatamente dopo l'uso.

L'utente deve verificare eventuali condizioni di conservazione diverse da quelle specificate¹.

Precauzioni

- Il prodotto è destinato all'uso diagnostico *in vitro*.
- La concentrazione del ProClin™ 950 è 0,35 %. Esso contiene il principio attivo 2-metil-4-isotiazolin-3-one e può causare irritazione alla cute, agli occhi, alle membrane mucose e alle alte vie respiratorie. Per la manipolazione dei reagenti usare guanti monouso.
- Una copia della Scheda di sicurezza può essere richiesta al distributore locale o all'ufficio di zona di Leica Biosystems o, in alternativa, visitando il sito di Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com

- I campioni, prima e dopo la fissazione, e tutti i materiali esposti ad essi devono essere manipolati come potenziali vettori di infezione e smaltiti con le opportune precauzioni². Non pipettare mai i reagenti con la bocca ed evitare il contatto dei reagenti o dei campioni con la pelle e le membrane mucose. Se un reagente o un campione viene a contatto con zone sensibili, lavare abbondantemente con acqua. Consultare un medico.
- Consultare la normativa nazionale, regionale o locale vigente per lo smaltimento dei componenti potenzialmente tossici.
- Ridurre al minimo la contaminazione microbica dei reagenti per evitare il rischio di una colorazione non specifica.
- Tempi o temperature di incubazione diversi da quelli specificati possono fornire risultati erranei. Ogni eventuale modifica deve essere validata dall'utente.

Istruzioni per l'uso

L'anticorpo primario Melan A (A103) è stato sviluppato per l'uso nei sistemi automatizzati BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III) in combinazione con BOND Polymer Refine Detection (DS9800) o BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). I protocolli di colorazione raccomandati per l'anticorpo primario Melan A (A103) sono IHC Protocol F se si utilizza BOND Polymer Refine Detection e IHC Protocol J se si utilizza BOND Polymer Refine Red Detection. Si raccomanda il recupero dell'epitopo indotto da calore mediante l'uso di BOND Epitope Retrieval Solution 2 per 20 minuti.

Risultati Attesi

Tessuti normali

Il clone A103 rileva l'antigene Melan A nel citoplasma dei melanociti. Una certa positività può essere osservata anche nella corteccia surrenale e nel testicolo. (Numero totale di casi normali valutati = 85).

Tessuti neoplastici

Il clone A103 ha colorato 12/119 tumori valutati, incluso tumori della pelle (12/76, inclusi 12/14 melanomi maligni, 0/16 carcinomi a cellule squamose, 0/14 carcinomi a cellule basali, 0/10 carcinomi delle ghiandole sudoripare, 0/10 dermatofibrosarcomi, 0/3 adenocarcinomi metastatici, 0/3 neurinomi maligni, 0/2 carcinomi adenoido-cistici, 0/1 fibrosarcomi, 0/1 adenocarcinomi sebacei, 0/1 sarcomi pleomorfi indifferenziati e 0/1 leiomiomasarcomi), epatocarcinomi (0/5), tumori ovarici (0/4), carcinomi del polmone (0/4), carcinomi papillari della tiroide (0/4), tumori del cervello (0/2), carcinomi a cellule squamose dell'esofago (0/2), carcinomi del seno (0/2), adenocarcinomi dello stomaco (0/2), tumori dei tessuti molli (0/2), carcinomi a cellule squamose della lingua (0/2), tumori metastatici di origine sconosciuta (0/2), carcinomi a cellule renali (0/2), carcinomi a cellule squamose della cervice (0/2), seminomi testicolari (0/2), adenocarcinomi del colon (0/2), adenocarcinomi del retto (0/2), carcinomi a cellule squamose della laringe (0/1) e tumori carcinoidi atipici del timo (0/1) (Numero totale di casi di tumore valutati = 119).

Melan A (A103) è raccomandato per la valutazione di melan A nelle lesioni melanocitiche.

Limitazioni Specifiche del Prodotto

Si raccomanda di utilizzare Melan A (A103) con BOND Polymer Refine Detection o BOND Polymer Refine Red Detection e reagenti sussidiari BOND. Gli utenti che modificano le procedure raccomandate devono assumersi la responsabilità dell'interpretazione dei risultati relativi ai pazienti in tali circostanze. I tempi del protocollo possono variare in base alle variazioni nella fissazione del tessuto e nell'efficienza del potenziamento dell'antigene e devono essere definiti in modo empirico. Nell'ottimizzazione delle condizioni di riconoscimento e dei tempi del protocollo si devono impiegare dei controlli negativi del reagente.

Soluzione Problemi

Per le azioni di rimedio consultare il riferimento bibliografico n. 3.

Per riferire una colorazione inusuale rivolgersi al distributore locale o all'ufficio di zona di Leica Biosystems.

Ulteriori Informazioni

Altre informazioni sull'immunocolorazione con i reagenti BOND si trovano in "Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente BOND, ai titoli Principio della procedura, Materiali necessari, Preparazione del campione, Controllo di qualità, Verifica del saggio, Interpretazione della colorazione, Leggenda dei simboli delle etichette e Limitazioni generali.

Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15–21.
5. Loy TS, Philips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170–172.
6. Clarkson KS, Sturdge IC and Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196–200.
7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. Journal of Pathology. 2001; 193:13–20.
8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2107–2115.
9. Blessing K, Grant JHH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. Journal of Clinical Pathology. 2000; 53:591–595.
10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. Histopathology. 1998; 32 (2):139-146.

11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiters D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1 and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Data di Pubblicazione

10 settembre 2018

Gebrauchsfertiger BOND™-Primärantikörper

Melan A (A103)

Bestellnr.: PA0233

Verwendungszweck

Dieses Reagenz ist für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.

Der monoklonale Antikörper Melan A (A103) wurde für die lichtmikroskopische qualitative Bestimmung des humanen Melan A Moleküls in formalinfixiertem, paraffineingebettetem Gewebe durch immunhistochemische Färbung mit dem automatisierten BOND-system (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) entwickelt.

Die klinische Auswertung der An- oder Abwesenheit einer Färbung sollte durch morphologische Untersuchungen und geeignete Kontrollen ergänzt werden und sollte im Zusammenhang mit der Krankengeschichte eines Patienten und anderen diagnostischen Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

Zusammenfassung und Erläuterung

Immunhistochemische Methoden können dazu verwendet werden, die Anwesenheit von Antigenen in Geweben und Zellen zu demonstrieren (sehen Sie dazu "Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien" in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch). Der Primärantikörper Melan A (A103) ist ein gebrauchsfertiges Produkt, das zur Verwendung mit BOND Polymer Refine Detection (DS9800) oder BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390) empfohlen wird. Der Nachweis des humanen Melan A Moleküls erfolgt durch Bindung von Melan A (A103) an das Präparat mit nachfolgender Darstellung dieser Bindung mithilfe der im Detektionssystem enthaltenen Reagenzien. Die Verwendung dieser Produkte in Kombination mit dem automatisierten BOND-system (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) reduziert die Wahrscheinlichkeit von menschlichem Versagen sowie die inhärente Variabilität, die aus der Verdünnung der einzelnen Reagenzien, der manuellen Pipettierung und der Anwendung der Reagenzien resultieren.

Mitgelieferte Reagenzien

Melan A (A103) ist ein monoklonaler Maus-anti-Human Antikörper, der aus Zellkulturüberstand hergestellt wurde, in Tris-gepufferter Salzlösung mit einem Trägerprotein geliefert wird und 0,35 % ProClin™ 950 als Konservierungsmittel enthält.

Gesamtvolumen = 7 ml.

Klon

A103

Immunogen

Prokaryotisches rekombinantes Fusionsprotein, das dem humanen Melan A entspricht.

Spezifität

Humanes Melan A erkennt eine 20 bis 22 kD Doublette in Melan A mRNA-positiven Melanomzelllinien. Reagiert nicht mit Melan A mRNA-negativen Zelllinien.

Ig-Klasse

IgG1

Gesamtproteinkonzentration

Ca. 10 mg/ml.

Antikörperkonzentration

Größer oder gleich 0,5 mg/L, bestimmt mit ELISA.

Verdünnung und Mischung

Der primäre Antikörper Melan A (A103) weist eine optimale Verdünnung für die Verwendung mit dem BOND-system (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) auf.

Erforderliche, Aber Nicht Mitgelieferte Materialien

In Ihrer BOND-Benutzerdokumentation finden Sie unter "Verwendung von BOND-Reagenzien" eine vollständige Liste der Materialien, die für die Probenvorbereitung und die immunhistochemische Färbung mit dem BOND-system (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) benötigt werden.

Lagerung und Stabilität

Bei 2–8 °C lagern. Nach Ablauf des auf dem Behälteretikett angegebenen Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

Zeichen, die auf eine Kontamination und/oder Instabilität von Melan A (A103) hinweisen, sind eine Trübung der Lösung, Geruchsentwicklung, und das Vorhandensein von Präzipitat.

Unmittelbar nach Gebrauch wieder bei 2–8 °C aufbewahren.

Andere als die oben angegebenen Lagerungsbedingungen müssen vom Anwender selbst getestet werden¹.

Vorsichtsmaßnahmen

- Dieses Produkt ist für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
- Die Konzentration von ProClin™ 950 beträgt 0,35 %. Es enthält 2-Methyl-4-isothiazolin-3-on als aktiven Bestandteil und kann Reizungen der Haut, Augen, Schleimhäute und oberen Atemwege verursachen. Tragen Sie beim Umgang mit Reagenzien Einweghandschuhe.

- Ein Exemplar des Sicherheitsdatenblattes erhalten Sie von Ihrer örtlichen Vertriebsfirma, von der Regionalniederlassung von Leica Biosystems oder über die Webseite von Leica Biosystems unter www.LeicaBiosystems.com
- Behandeln Sie Präparate vor und nach der Fixierung sowie sämtliche damit in Berührung kommenden Materialien so, als ob sie Infektionen übertragen könnten und entsorgen Sie sie unter Beachtung der entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen². Pipettieren Sie Reagenzien niemals mit dem Mund und vermeiden Sie den Kontakt von Haut oder Schleimhäuten mit Reagenzien oder Präparaten. Falls Reagenzien oder Präparate mit empfindlichen Bereichen in Kontakt kommen, spülen Sie diese mit reichlich Wasser. Holen Sie anschließend ärztlichen Rat ein.
- Beachten Sie bei der Entsorgung potentiell toxischer Bestandteile die behördlichen und örtlichen Vorschriften.
- Mikrobielle Kontaminationen sollten minimiert werden, da es sonst zu einer Zunahme unspezifischer Färbungen kommen kann.
- Die Verwendung anderer als die angegebenen Retrievals, Inkubationszeiten oder Temperaturen kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Diesbezügliche Änderungen müssen vom Anwender selbst getestet werden.

Gebrauchsanleitung

Der Primäntikörper Melan A (A103) wurde für die Verwendung in dem automatisierten BOND-system (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) in Kombination mit BOND Polymer Refine Detection (DS9800) oder BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390) empfohlen. Für den Primäntikörper Melan A (A103) werden die Färbeprotokolle IHC Protocol F bei Verwendung von BOND Polymer Refine Detection und IHC Protocol J bei Verwendung von BOND Polymer Refine Red Detection empfohlen. Empfohlen wird hitzeinduzierte Epitopdemaskierung mit BOND Epitope Retrieval Solution 2 über 20 Minuten.

Erwartete Ergebnisse

Normale Gewebe

Klon A103 weist das Melan A-Antigen im Zytoplasma von Melanozyten nach. Nebennierenrinde und Hoden können ebenfalls leicht positiv sein. (Anzahl der insgesamt untersuchten Normalgewebeprobe = 85).

Tumorgewebe

Klon A103 färbte 12/119 untersuchten Tumoren, einschließlich Tumoren der Haut (12/76, einschließlich 12/14 malignen Melanomen, 0/16 Plattenepithelkarzinomen, 0/14 Basalzellkarzinomen, 0/10 Schweißdrüsenkarzinomen, 0/10 Dermatofibrosarkomen, 0/3 metastatischen Adenokarzinomen, 0/3 malignen Schwannomen, 0/2 adenoid-zystischen Karzinomen, 0/1 Fibrosarkom, 0/1 Talgdrüsen-Adenokarzinom, 0/1 pleomorphes undifferenziertes Sarkom und 0/1 Leiomyosarkom), Leberkarzinomen (0/5), Ovarialtumoren (0/4), Lungenkarzinomen (0/4), papillären Schilddrüsenkarzinomen (0/4), Hirntumore (0/2), Plattenepithelkarzinomen des Ösophagus (0/2), Mammakarzinomen (0/2), Adenokarzinomen des Magens (0/2), Weichteiltumoren (0/2), Plattenepitheltumoren der Zunge (0/2), metastatischen Tumoren unbekannter Ätiologie (0/2), Nierenzellkarzinomen (0/2), Plattenepithelkarzinomen des Zervix (0/2), Seminomen der Hoden (0/2), Adenokarzinomen von Kolon (0/2) und Rektum (0/2), Plattenepithelkarzinomen des Kehlkopfes (0/1) und atypische karzinoide Tumoren des Thymus (0/1) (Anzahl der insgesamt untersuchten Proben von Tumorgewebe = 119).

Melan A (A103) wird zur Bewertung von Melan A in melanozitären Läsionen empfohlen.

Produktspezifische Einschränkungen

Melan A (A103) wird für den Einsatz mit BOND Polymer Refine Detection oder BOND Polymer Refine Red Detection und BOND Hilfsreagenzien empfohlen. Anwender, die andere als die empfohlenen Testverfahren verwenden, müssen unter diesen Umständen die Verantwortung für die Auswertung der Patientenergebnisse übernehmen. Die Verfahrenszeiten können aufgrund von Unterschieden in der Gewebefixierung und der Wirksamkeit der Antigenverstärkung variieren und müssen empirisch bestimmt werden. Bei der Optimierung der Retrieval-Bedingungen und Verfahrenszeiten sollten negative Reagenzkontrollen verwendet werden.

Fehlersuche

Maßnahmen zur Abhilfe beim Auftreten von Fehlern finden Sie in Referenz 3.

Falls Sie ungewöhnliche Färbegergebnisse beobachten, wenden Sie sich an Ihre örtliche Vertriebsfirma oder an die Regionalniederlassung von Leica Biosystems.

Weitere Informationen

Weitere Informationen zur Immunfärbung mit BOND-Reagenzien finden Sie in den Abschnitten Grundlegende Vorgehensweise, Erforderliches Material, Probenvorbereitung, Qualitätskontrolle, Assay-Verifizierung, Deutung der Färbung, Schlüssel der Symbole auf den Etiketten und Allgemeine Einschränkungen in "Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien" in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch.

Bibliografie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 28. February 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD und Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15–21.
5. Loy TS, Philips RW und Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170–172.
6. Clarkon KS, Sturdge IC und Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196–200.
7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. Journal of Pathology. 2001; 193:13–20.

8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2107–2115.
9. Blessing K, Grant JJH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. *Journal of Clinical Pathology*. 2000; 53:591–595.
10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*. 1998; 32 (2):139-146.
11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiters D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1 and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Ausgabedatum

10 September 2018

Anticuerpo Primario Listo Para Usar BOND™

Melan A (A103)

Catálogo N°.: PA0233

Indicaciones de Uso

Este reactivo es para uso diagnóstico *in vitro*.

El anticuerpo monoclonal Melan A (A103) está pensado para su utilización en la identificación cualitativa mediante microscopía ligera de la demostración de la molécula melan A humana en tejido fijado en formol y embebido en parafina mediante tinción inmunohistoquímica utilizando el sistema automatizado BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III).

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

Resumen y Explicación

Las técnicas inmunohistoquímicas pueden ser utilizadas para detectar la presencia de antígenos en tejidos y células (véase "Uso de reactivos BOND" en la documentación de usuario suministrada por BOND). El anticuerpo primario Melan A (A103) es un producto listo para utilizar recomendado para su utilización tanto con BOND Polymer Refine Detection (DS9800) como con BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). La demostración de la molécula melan A humana se puede llevar a cabo primero permitiendo la unión de Melan A (A103) a la sección y luego visualizando esta unión usando los reactivos proporcionados en el sistema de detección. La utilización de estos productos, en combinación con el sistema BOND automatizado (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III), reduce las posibilidades de que se produzca un error humano y la variabilidad inherente que resulta de la dilución de un reactivo individual, del pipeteo manual y de la aplicación de un reactivo.

Reactivos Suministrados

Melan A (A103) es un anticuerpo monoclonal antihumano de ratón que se produce como sobrenadante en cultivos de tejido, y se suministra en solución salina tamponada de Tris con proteína portadora, que contiene el 0,35 % de ProClin™ 950 como conservante.

Volumen total = 7 mL.

Clon

A103

Inmunógeno

Proteína recombinante de fusión procariótica correspondiente a la molécula melan A.

Especificidad

La molécula Melan A humana reconoce un doblete de 20 a 22 kD en las líneas celulares de melanoma positivas al mRNA de melan A. No reacciona con líneas celulares negativas al mRNA de melan A.

Clase de Ig

IgG1

Concentración Total de Proteína

Aprox. 10 mg/mL.

Concentración de Anticuerpos

Mayor o igual a 0,5 mg/L según lo determinado por ELISA.

Dilución y Mezcla

El anticuerpo primario Melan A (A103) se diluye óptimamente para usarse en el sistema BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III). No es necesaria la reconstitución, mezcla, dilución o titulación de este reactivo.

Material Necesario Pero No Suministrado

Consulte el apartado "Utilización de reactivos BOND" de la documentación de usuario BOND para leer una lista completa de los materiales requeridos en el tratamiento de muestras y en la tinción inmunohistoquímica con el sistema BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III).

Conservación y Estabilidad

Debe conservarse a 2–8 °C. No utilizar después de la fecha de caducidad que aparece en la etiqueta.

Los signos de contaminación y/o inestabilidad de Melan A (A103) son turbidez de la solución, aparición de olor y presencia de precipitado.

Volver a guardar a 2–8 °C inmediatamente después de su uso.

Si las condiciones de conservación son diferentes de las especificadas, el usuario debe realizar las comprobaciones necesarias¹.

Precauciones

- Este producto es para uso diagnóstico *in vitro*.
- La concentración de ProClin™ 950 es de 0,35 %. Contiene el principio activo 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, que puede producir irritación en la piel, ojos, mucosas y tracto respiratorio superior. Lleve siempre guantes desechables cuando manipule los reactivos.

- Si desea obtener un ejemplar de la Hoja de datos de seguridad de los materiales, póngase en contacto con su distribuidor o con la oficina regional de Leica Biosystems, o visite la página Web de Leica Biosystems en www.LeicaBiosystems.com
- Las muestras, antes y después de ser fijadas, y cualquier material en contacto con ellas, deben ser tratados como sustancias capaces de transmitir infecciones y deben ser eliminadas con las precauciones correspondientes². No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y las mucosas con reactivos o muestras. Si algún reactivo o alguna muestra entra en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante. Consulte a un médico.
- Consulte la normativa federal, nacional o local referente a la eliminación de sustancias potencialmente tóxicas.
- Minimice la contaminación microbiana de los reactivos, ya que puede producir un aumento de las tinciones inespecíficas.
- Los tiempos de exposición e incubación, y las temperaturas diferentes de las especificadas pueden dar resultados erróneos. Cualquier cambio que se produzca deberá ser validado por el usuario.

Instrucciones de Uso

El anticuerpo primario Melan A (A103) se ha desarrollado para usarse en el sistema BOND automatizado (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III) en combinación con la BOND Polymer Refine Detection (DS9800) como con BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Los protocolos de tinción recomendados para el anticuerpo primario Melan A (A103) son el IHC Protocol F cuando se utiliza BOND Polymer Refine Detection y el IHC Protocol J cuando se utiliza BOND Polymer Refine Red Detection. Se recomienda la recuperación de epítomos inducida por calor utilizando BOND Epitope Retrieval Solution 2 durante 20 minutos.

Resultados Esperados

Tejidos normales

El clon A103 detecta el antígeno Melan A en el citoplasma de los melanocitos. Puede observarse cierta positividad en la corteza adrenal y los testículos. (Número total de casos normales evaluados = 85).

Tejidos tumorales

El clon A103 tiñó 12/119 tumores evaluados, incluyendo tumores de piel (12/76, incluyendo 12/14 melanomas malignos, 0/16 carcinomas de células escamosas, 0/14 carcinomas de células basales, 0/10 carcinomas de glándulas sudoríparas, 0/10 dermatofibrosarcomas, 0/3 adenocarcinomas metastásicos, 0/3 schwannomas malignos, 0/2 carcinomas císticos adenoides, 0/1 fibrosarcomas, 0/1 adenocarcinomas sebáceos, 0/1 sarcomas pleomórficos indiferenciados y 0/1 leiomiomas), carcinomas hepáticos (0/5), tumores ováricos (0/4), carcinomas pulmonares (0/4), carcinomas papilares tiroideos (0/4), tumores cerebrales (0/2), carcinomas de las células escamosas del esófago (0/2), carcinomas de mama (0/2), adenocarcinomas del estómago (0/2), tumores de los tejidos blandos (0/2), carcinomas de células escamosas de la lengua (0/2), tumores metastásicos de origen desconocido (0/2), carcinomas de células renales (0/2), carcinomas de células escamosas del cérvix (0/2), seminomas testiculares (0/2), adenocarcinomas del colon (0/2), adenocarcinomas del recto (0/2), carcinomas de células escamosas de la laringe (0/1), y tumores carcinoides atípicos del timo (0/1) (Número total de casos de tumor evaluados = 119).

Melan A (A103) se recomienda para la evaluación del antígeno melan A en las lesiones melanocíticas.

Limitaciones Específicas del Producto

El anticuerpo Melan A (A103) se recomienda para su utilización tanto con BOND Polymer Refine Detection como con BOND Polymer Refine Red Detection y con reactivos secundarios BOND. Los usuarios que se aparten de los procedimientos de análisis recomendados deben asumir la responsabilidad de interpretar los resultados del paciente tomando en cuenta estas circunstancias. Los tiempos de protocolo pueden diferir debido a la variación en la fijación de los tejidos y a la eficacia en la preservación del antígeno, y deben determinarse empíricamente. Se debe utilizar reactivos de control negativos a la hora de optimizar las condiciones de detección y los tiempos de protocolo.

Resolución de Problemas

Consulte la referencia 3 para ver las acciones correctoras.

Contacte con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems para informar de cualquier tinción anómala.

Más Información

Para obtener más información sobre inmuntinciones con reactivos BOND, consulte los apartados Principio del procedimiento, Material necesario, Preparación de las muestras, Control de calidad, Verificación del análisis, Interpretación de la tinción, Clave de símbolos en las etiquetas y Limitaciones generales de la sección "Utilización de reactivos BOND" de la documentación de usuario suministrada por BOND.

Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15–21.
5. Loy TS, Philips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170–172.
6. Clarkon KS, Sturdgeess IC and Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196–200.
7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. Journal of Pathology. 2001; 193:13–20.

8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2107–2115.
9. Blessing K, Grant JJH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. *Journal of Clinical Pathology*. 2000; 53:591–595.
10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*. 1998; 32 (2):139-146.
11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiters D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1 and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Fecha de Publicación

10 de septiembre de 2018

Anticorpo Primário Pronto A Usar BOND™

Melan A (A103)

Nº de catálogo: PA0233

Utilização Prevista

Este reagente destina-se a utilização diagnóstica *in vitro*.

O anticorpo monoclonal Melan A (A103) é destinado ao uso para identificação qualitativa por microscopia leve de demonstração da molécula melan A humana em tecidos embebidos em parafina e fixados em formalina por coloração imuno-histoquímica usando o sistema BOND automatizado (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III).

A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos utilizando controlos adequados, e deve ser avaliada no contexto da história clínica do doente e de outros testes complementares de diagnóstico por um anátomo-patologista qualificado.

Resumo e Explicação

As técnicas de imunohistoquímica podem ser usadas para demonstrar a presença de antígenos em tecidos e células (ver "Usar os Reagentes BOND" na sua documentação do utilizador BOND). O anticorpo primário Melan A (A103) é um produto pronto a usar, recomendado para ser utilizado com BOND Polymer Refine Detection (DS9800) ou BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). A demonstração de a demonstração da molécula melan A humana é alcançada ao permitir pela primeira vez a ligação do Melan A (A103) à secção e, em seguida, visualizar esta ligação usando os reagentes fornecidos no sistema de deteção. O uso destes produtos, combinado com o sistema BOND automatizado (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III), reduz a possibilidade de erro humano e de variação inerente devido à diluição do reagente individual, pipetagem manual e aplicação do reagente.

Reagentes Fornecidos

Melan A (A103) é um anticorpo monoclonal anti-humano de ratinho produzido como sobrenadante de cultura tecidual e fornecido em solução salina com tampão Tris com proteína transportadora, contendo 0,35 % de ProClin™ 950 como conservante.

Volume total = 7 mL.

Clone

A103

Imunogénio

Proteína de fusão recombinante procariótica correspondente à molécula melan A humana.

Especificidade

Melan A humana, reconhecendo um duplete de 20 a 22 kD em linhas celulares de melanoma positivas para mRNA de melan A. Não reage com linhas de mRNA melan A de células negativas.

Classe De Ig

IgG1

Concentração de Proteínas Totais

Aproximadamente 10 mg/mL.

Concentração de Anticorpos

Maior ou igual a 0,5 mg/L conforme determinado por ELISA.

Diluição e Mistura

O anticorpo primário Melan A (A103) é devidamente diluído para uso no sistema BOND (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III). Não é necessária reconstituição, mistura, diluição ou titulação deste reagente.

Materiais Necessários Mas Não Fornecidos

Consulte "Uso de reagentes BOND" em sua documentação de usuário BOND para ter uma lista completa de materiais necessário para coloração imuni-histoquímica e tratamento da amostra usando o sistema BOND (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III).

Armazenamento e Estabilidade

Armazene a uma temperatura de 2 a 8 °C. Não utilize após o fim do prazo de validade referido no rótulo do recipiente.

Os sinais que indicam contaminação e/ou instabilidade de Melan A (A103) são: turvação da solução, desenvolvimento de odor e presença de precipitado.

Coloque entre 2 e 8 °C imediatamente depois de utilizar.

Condições de armazenamento diferentes das acima especificadas devem ser confirmadas pelo utilizador ¹.

Precauções

- Este produto destina-se a utilização diagnóstica *in vitro*.
- A concentração de ProClin™ 950 é de 0,35 %. Contém o ingrediente activo 2-metil-4-isotiazolina-3-a e pode provocar irritação da pele, olhos, membranas mucosas e vias aéreas superiores. Use luvas descartáveis quando manipular os reagentes. Use luvas descartáveis quando manipular os reagentes.

- Para obter uma cópia da Ficha de Dados de Segurança do Material, entre em contacto com o seu distribuidor local ou sucursal regional da Leica Biosystems ou, em alternativa, visite o site da Leica Biosystems na internet, www.LeicaBiosystems.com
- As amostras, antes e depois da fixação, e todo o material que a elas seja exposto, devem ser manipulados como se fossem capazes de transmitir infecção e eliminados usando as precauções adequadas². Nunca pipete reagentes com a boca e evite o contacto entre a pele e membranas mucosas com reagentes ou amostras. Se reagentes ou amostras entrarem em contacto com os olhos, lave-os com uma quantidade abundante de água. Consultar um médico.
- Consulte os regulamentos federais, estaduais e locais relativamente à eliminação de quaisquer componentes potencialmente tóxicos.
- Minimizar a contaminação microbiana dos reagentes ou poderá ocorrer um aumento da coloração inespecífica.
- A utilização de tempos e temperaturas de recuperação e incubação diferentes dos especificados pode produzir resultados erróneos. Qualquer alteração deste tipo deve ser validada pelo utilizador.

Instruções de Utilização

O anticorpo primário Melan A (A103) foi desenvolvido para uso no sistema BOND automatizado (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III) em combinação com a BOND Polymer Refine Detection (DS9800) ou BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Os protocolos de coloração recomendados para anticorpo primário Melan A (A103) são IHC Protocol F quando for utilizado BOND Polymer Refine Detection e IHC Protocol J quando for utilizado BOND Polymer Refine Red Detection. A recuperação de epítotes induzida pelo calor é recomendada através da utilização de BOND Epitope Retrieval Solution 2 durante 20 minutos.

Resultados Esperados

Tecidos normais

O clone A103 detecta o antígeno Melan A no citoplasma de melanócitos. Também se pode observar alguma positividade no córtex adrenal e testículos. (Número total de casos normais avaliados = 85).

Tecidos tumorais

O clone A103 corou 12/119 tumores avaliados, incluindo tumores de pele (12/76, incluindo 12/14 melanomas malignos, 0/16 carcinomas de células escamosas, 0/14 carcinomas basocelulares, 0/10 carcinomas das glândulas sudoríparas, 0/10 dermatofibrosarcomas, 0/3 adenocarcinomas metastáticos, 0/3 schwannomas malignos, 0/2 carcinomas adenóides císticos, 0/1 fibrosarcomas, 0/1 adenocarcinomas sebáceos, 0/1 sarcomas pleomórficos indiferenciados e 0/1 leiomiossarcomas), carcinomas hepáticos (0/5), tumores ovários (0/4), carcinomas pulmonares (0/4), carcinomas papilares da tireóide (0/4), tumores cerebrais (0/2), carcinomas de células escamosas do esófago (0/2), carcinomas mamários (0/2), adenocarcinomas do estômago (0/2), tumores dos tecidos moles (0/2), carcinomas de células escamosas da língua (0/2), tumores metastáticos de origem desconhecida (0/2), carcinomas das células renais (0/2), carcinomas de células escamosas do colo do útero (0/2), seminomas testiculares (0/2), adenocarcinomas do cólon (0/2), adenocarcinomas do recto (0/2), carcinomas de células escamosas da laringe (0/1), e tumor carcinóide atípico do timo (0/1) (Número total de casos avaliados = 119).

O Melan A (A103) está recomendado na avaliação de melan A em lesões melanocíticas.

Informações Específicas do Produto

Melan A (A103) foi otimizada na Leica Biosystems para utilização com a BOND Polymer Refine Detection ou BOND Polymer Refine Red Detection e reagentes auxiliares BOND. Utilizadores que se desviem dos procedimentos de teste recomendados devem assumir a responsabilidade pela interpretação dos resultados dos doentes nestas circunstâncias. Os tempos de protocolo podem variar, devido a variações na fixação tecidual e na eficácia de valorização com antígenos, devendo ser determinados de forma empírica. Os controlos de reagente negativos devem ser usados quando se optimizam as condições de recuperação e os tempos do protocolo.

Resolução de Problemas

Consulte a referência 3 para acções de resolução.

Entre em contacto com o seu distribuidor local ou com a sucursal regional da Leica Biosystems para notificar qualquer coloração pouco habitual.

Informações Adicionais

Poderá encontrar informações adicionais sobre imunocoloração com reagentes BOND nas secções de Princípios do Procedimento, Material Necessário, Preparação da Amostra, Controlo de Qualidade, Verificação do Ensaio, Interpretação da Coloração, Significado dos Símbolos nos Rótulos e Limitações Gerais em "Utilizar os Reagentes BOND" na documentação do utilizador BOND.

Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15-21.
5. Loy TS, Philips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170-172.
6. Clarkson KS, Sturdge IC and Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196-200.
7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. Journal of Pathology. 2001; 193:13-20.

8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2107–2115.
9. Blessing K, Grant JJH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. *Journal of Clinical Pathology*. 2000; 53:591–595.
10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*. 1998; 32 (2):139-146.
11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiters D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1 and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Data de Emissão

10 de Setembro de 2018

BOND™ Primär antikropp - färdig att användas

Melan A (A103)

Artikelnummer: PA0233

Användningsområde

Reagenset är avsett för *in vitro*-diagnostik.

Melan A (A103) monoklonal antikropp är avsedd för användning i kvalitativ identifiering i ljusmikroskop av påvisande av human Melan A-molekyl i formalinfixerad, paraffinbäddad vävnad genom immunohistokemisk infärgning med hjälp av det automatiska BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III).

Den kliniska tolkningen av varje infärgning, eller utebliven infärgning, måste alltid kompletteras med morfologiska studier och lämpliga kontroller. Utvärderingen bör göras av kvalificerad patolog och inkludera patientens anamnes och övriga diagnostiktester.

Förklaring och Sammanfattning

Immunhistokemiska tekniker kan användas för att påvisa antigener i vävnader och celler (se "Använda BOND-reagens" i BOND användar- dokumentationen). Melan A (A103) primär antikropp är en bruksklar produkt som rekommenderas för användning med antingen BOND Polymer Refine Detection (DS9800) eller BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Påvisande av human Melan A-molekyl uppnås genom att man först möjliggör bindning av Melan A (A103) till snittet och sedan visar denna bindning med reagensen i avkänningssystemet. Om du använder dessa produkter i kombination med det automatiska BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III) minskar du risken för mänskliga misstag och de oundvikliga variationer som blir resultatet av individuell reagensutspädning och manuell pipettering och reagensanvändning.

Ingående Reagenser

Melan A (A103) är en mus anti-human monoklonal antikropp, producerad som supernatant från cellkultur. Den levereras i trisbuffrad koksallösning med bärarprotein. Lösningen innehåller 0,35 % ProClin™ 950 som konserveringsmedel.

Total volym = 7 ml.

Klon

A103

Immunogen

Prokaryotisk rekombinant fusionsprotein som motsvarar den humana melan A-molekylen.

Specifitet

Humant melan A, som identifierar en dublett på 20 till 22 kD i melan A mRNA-positiva melanomcellslinjer. Reagerar inte med melan A mRNA-negativa cellinjer.

Ig-klass

IgG1

Total Proteinkoncentration

Omkring 10 mg/ml.

Antikropps-koncentration

Större än eller lika med 0,5 mg/L enligt bestämning med ELISA.

Spädning och Blandning

Melan A (A103) primär antikropp är optimalt utspädd för att användas på BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III). Denna reagens behöver inte rekonstitueras, blandas, spädas eller titreras.

Nödvändig Materiel Som Ej Medföljer

I avsnittet "Att använda BOND reagenser" i din användardokumentation för BOND hittar du en komplett lista över de material som krävs för preparatbehandling och immunohistokemisk infärgning i BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III).

Förvaring och Stabilitet

Förvara vid 2–8 °C. Använd ej efter det utgångsdatum som står på förpackningen.

Tecken på kontaminering och/eller instabilitet hos Melan A (A103) är grumling i lösningen, luktutveckling och förekomst av fällning. Ställ tillbaka i 2–8 °C omedelbart efter användning.

Andra förvaringsbetingelser än de ovan angivna måste verifieras av användaren¹.

Säkerhetsföreskrifter

- Produkten är avsedd för *in vitro*-diagnostik.
- Koncentrationen av ProClin™ 950 är på 0,35 %. Det innehåller den aktiva beståndsdel 2-metyl-4-isotiazolin-3-on som kan verka irriterande på hud, ögon, slemhinnor och övre luftvägar. Använd engångshandskar när reagenserna hanteras.
- Du kan få tillgång till säkerhetsdatablad genom att kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor. En annan möjlighet är Leica Biosystems webbsajt på www.LeicaBiosystems.com

- Prover, både före och efter fixeringen, och allt material som använts tillsammans med dem ska hanteras som infektiöst avfall enligt gängse praxis². Pipettera aldrig reagenser med munnen och undvik att reagenser eller prover kommer i kontakt med hud och slemhinnor. Om reagenser eller prover kommer i kontakt med känsliga områden, skölj med stora mängder vatten. Sök läkarvård.
- Angående avfallshantering av potentiellt toxiska material hänvisar vi till gällande europeiska, nationella och lokala bestämmelser och förordningar.
- Minimera mikrobiologisk kontamination av reagens, annars kan en ökad icke-specifik infärgning bli resultatet.
- Återvinande och andra inkubationstider eller temperaturer än de angivna kan ge felaktiga resultat. Sådana förändringar ska valideras av användaren.

Instruktioner vid Användning

Melan A (A103) primär antikropp har utvecklats för att användas på det automatiska BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III) i kombination med BOND Polymer Refine Detection (DS9800) eller BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). De infärgningsprotokoll som rekommenderas för Melan A (A103) primär antikropp är IHC Protocol F när du använder BOND Polymer Refine Detection och IHC Protocol J när du använder BOND Polymer Refine Red Detection. Värmeinducera epitopåtervinning rekommenderas med BOND Epitope Retrieval Solution 2 i 20 minuter.

Förväntade Resultat

Normala vävnader

Klon A103 detekterar melan A-antigen i cytoplasma från melanocyter. Viss positivitet kan också ses i binjurebark och testiklar. (Totalt antal utvärderade normala fall = 85).

Tumörvävnader

Klon A103 färgade 12/119 utvärderade tumörer, inklusive hudtumörer (12/76, inklusive 12/14 maligna melanom, 0/16 skivepitelskarcinom, 0/14 basala cellkarcinom, 0/10 svettkörtelkarcinom, 0/10 dermatofibrosarkom, 0/3 metastatiska adenokarcinom, 0/3 maligna schwannom, 0/2 adenoida cystiska karcinom, 0/1 fibrosarkom, 0/1 fettavsöndrande adenokarcinom, 0/1 polymorfiska odifferentierade sarkom och 0/1 leiomyosarkom), leverkarcinom (0/5), äggstockstumörer (0/4), lungkarcinom (0/4), papillärt karcinom från sköldkörtel (0/4), hjärttumörer (0/2), skivepitelskarcinom från mats труpe (0/2), bröstkarcinom (0/2), adenokarcinom från mage (0/2), mjukvävnadstumörer (0/2), skivepitelskarcinom från tunga (0/2), metastatiska tumörer av okänt ursprung (0/2), njurellskarcinom (0/2), skivepitelskarcinom från livmoderhals (0/2), testikulära seminom (0/2), adenokarcinom från kolon (0/2), adenokarcinom från rektum (0/2), skivepitelskarcinom från larynx (0/1) och atypiska karcinoida tumörer från tymus (0/1) (Totalt antal utvärderade tumörfall = 119).

Melan A (A103) rekommenderas för fastställande av melan A i melanocytiska lesioner.

Specifika Begränsningar För Produkten

Melan A (A103) har optimerats vid Leica Biosystems för att användas med BOND Polymer Refine Detection eller BOND Polymer Refine Red Detection och BOND hjälpreakenser. Användare som avviker från rekommenderat testförfarande måste vid ändrade förhållanden ta ansvar för tolkningen av patientresultaten. Protokolltiderna kan variera på grund av variationer i vävnadsfixering och hur effektivt antigenet intensifieras, och ska fastställas empiriskt. Negativa reagenskontroller ska användas då förhållanden för återvinande och protokolltider optimeras.

Felsökning

Se referens 3 för förslag till åtgärder.

Kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor för att rapportera onormal infärgning.

Mer information

Mer information om immunfärgning med BOND-reagens finns under rubrikerna Bakgrund till metoden, Nödvändig materiel, Förbereda provet, Kvalitetskontroll, Verifiering av assayer, Tolka infärgningsresultat, Symbolförklaring för etiketter och Allmänna begränsningar i "Använda BOND-reagens" i BONDS användardokumentation.

Litteraturförteckning

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code : M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15–21.
5. Loy TS, Philips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170–172.
6. Clarkson KS, Sturdgeess IC and Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196–200.
7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. Journal of Pathology. 2001; 193:13–20.
8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2107–2115.
9. Blessing K, Grant JH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. Journal of Clinical Pathology. 2000; 53:591–595.
10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. Histopathology. 1998; 32 (2):139-146.

11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiters D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1 and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Utgivningsdatum

10 september 2018

Έτοιμο Για Χρήση Πρωτογενές Αντίσωμα BOND™ Melan A (A103)

Αρ. καταλόγου: PA0233

Σκοπός Χρήσης

Αυτό το αντιδραστήριο προορίζεται για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

Το μονοκλωνικό αντίσωμα Melan A (A103) προορίζεται για τον ποσοτικό προσδιορισμό της ανάδειξης του ανθρώπινου μορίου melan A μέσω μικροσκοπίας φωτός σε μονιμοποιημένους σε φορμαλίνη και εγκλεισμένους σε παραφίνη ιστούς με ανοσοϊστοχημική χρώση με χρήση του αυτοματοποιημένου συστήματος BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III). Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή της απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες και σωστούς μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στα πλαίσια του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολογοανατόμο.

Περιληψη Και Επεξήγηση

Για την κατάδειξη της παρουσίας αντιγόνων στον ιστό και στα κύτταρα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ανοσοϊστοχημικές τεχνικές (δείτε την ενότητα "Χρήση αντιδραστηρίων BOND" στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης της BOND). Το πρωτογενές αντίσωμα Melan A (A103) είναι ένα έτοιμο για χρήση προϊόν που έχει βελτιστοποιηθεί ειδικά για χρήση με το BOND Polymer Refine Detection (DS9800) είτε μαζί με το BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Η ανάδειξη του ανθρώπινου μορίου melan A επιτυγχάνεται επιτρέποντας αρχικά την πρόσδεση του Melan A (A103) στην τομή και κατόπιν την οπτικοποίηση αυτής της πρόσδεσης με χρήση των αντιδραστηρίων που παρέχονται στο σύστημα ανίχνευσης. Η χρήση αυτών των προϊόντων, σε συνδυασμό με το αυτοματοποιημένο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III), μειώνει τις πιθανότητες ανθρώπινου λάθους και την εγγενή μεταβλητότητα που προκαλούνται από τις αραϊώσεις των επιμέρους αντιδραστηρίων, τη χειροκίνητη διανομή με πιπέτα και την εφαρμογή των αντιδραστηρίων.

Αντιδραστήρια Που Παρέχονται

Το Melan A (A103) είναι ένα μονοκλωνικό αντι-ανθρώπινο αντίσωμα ποντικού που παράγεται ως υπερκείμενο ιστοκαλλιέργειας και παρέχεται σε αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα Tris με πρωτεΐνη φορέα που περιέχει 0,35 % ProClin™ 950 ως συντηρητικό. Συνολικός όγκος = 7 mL.

Κλώνος

A103

Ανοσογόνο

Προκαρμωτική ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη σύντηξης που αντιστοιχεί στο ανθρώπινο μόριο melan A.

Ειδικότητα

Ανθρώπινος melan A, που αναγνωρίζει ένα διπλότο 20 έως 22 kD σε θετικές για mRNA κυτταρικές σειρές μελανώματος melan A. Δεν αντιδρά με τις αρνητικές για mRNA κυτταρικές σειρές melan A.

Τάξη Ig

IgG1

Συνολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης

Περίπου 10 mg/mL.

Συγκέντρωση Αντισώματος

Μεγαλύτερη ή ίση με 0,5 mg/L όπως προσδιορίζεται με ELISA.

Αραίωση Και Ανάμιξη

Το πρωτογενές αντίσωμα Melan A (A103) έχει αραιωθεί ιδανικά για χρήση στο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III). Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμιξη, αραίωση ή τιτλοδότηση του αντιδραστηρίου αυτού.

Υλικά Που Απαιτούνται Αλλά Δεν Παρέχονται

Ανατρέξτε στην ενότητα "Using BOND Reagents" (Χρήση αντιδραστηρίων BOND) στην τεκμηρίωση χρήσης του συστήματος BOND για τον πλήρη κατάλογο των υλικών που απαιτούνται για την επεξεργασία των δειγμάτων και την ανοσοϊστοχημική χρώση με χρήση του συστήματος BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III).

Φύλαξη Και Σταθερότητα

Φυλάσσεται στους 2–8 °C. Μη χρησιμοποιείτε μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του περιέκτη.

Οι ενδείξεις που υποδηλώνουν μόλυνση ή/και αστάθεια του Melan A (A103) είναι: θολερότητα του διαλύματος, ανάπτυξη οσμής και παρουσία ιζήματος.

Επαναφέρετε το προϊόν στους 2–8 °C αμέσως μετά τη χρήση.

Συνθήκες φύλαξης εκτός από αυτές που καθορίζονται παραπάνω πρέπει να επαληθεύονται από τον χρήστη¹.

Προφυλάξεις

- Το προϊόν αυτό προορίζεται για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
- Η συγκέντρωση του ProClin™ 950 είναι 0,35 %. Περιέχει το δραστικό συστατικό 2-μεθυλ-4-ισοθαϊαζολιν-3-όνη και ενδέχεται να προκαλέσει ερεθισμό στο δέρμα, τους οφθαλμούς, τους βλεννογόνους και την άνω αναπνευστική οδό. Φοράτε αναλώσιμα γάντια κατά το χειρισμό των αντιδραστηρίων.
- Για να λάβετε ένα αντίτυπο του δελτίου δεδομένων ασφαλείας υλικού, επικοινωνήστε με τον τοπικό σας διανομέα ή τα περιφερειακά γραφεία της Leica Biosystems ή, εναλλακτικά, επισκεφθείτε τον ιστότοπο της Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

- Τα δείγματα, πριν και μετά τη μονιμοποίηση, καθώς και όλα τα υλικά που εκτίθενται σε αυτά, πρέπει να υποβάλλονται σε χειρισμό ως δυνητικά μεταδότης λοίμωξης και να απορρίπτονται με κατάλληλες προφυλάξεις. Μην αναρροφάτε ποτέ με πιπέτα τα αντιδραστήρια με το στόμα και αποφεύγετε την επαφή του δέρματος και των βλεννογόνων με αντιδραστήρια ή δείγματα. Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έλθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφρονες ποσότητες νερού. Ζητήστε τη συμβουλή ιατρού.
- Συμβουλευτείτε τους ομοσπονδιακούς, πολιτειακούς ή τοπικούς κανονισμούς για απόρριψη τυχόν δυνητικών τοξικών υποστατικών.
- Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διότι διαφορετικά ενδέχεται να αυξηθεί η μη ειδική χρώση.
- Ανάκτηση, χρόνοι ή θερμοκρασίες επίωσης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται ενδέχεται να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Τυχόν τέτοια μεταβολή πρέπει να επικυρώνεται από το χρήστη.

Οδηγίες Χρώσης

Το πρωτογενές αντίσωμα Melan A (A103) αναπτύχθηκε για χρήση στο αυτοματοποιημένο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III) σε συνδυασμό με το σύστημα ανίχνευσης BOND Polymer Refine Detection (DS9800) είτε μαζί με το BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Τα συστατικά πρωτόκολλα χρώσης για το αντίσωμα Melan A (A103) primary είναι το πρωτόκολλο IHC Protocol F όταν χρησιμοποιείται το BOND Polymer Refine Detection και το πρωτόκολλο IHC Protocol J όταν χρησιμοποιείται το BOND Polymer Refine Red Detection. Συνιστάται θερμεταγόμενη ανάκτηση επιτόπου με χρήση του BOND Epitope Retrieval Solution 2 για 20 λεπτά.

Αναμενόμενα Αποτελέσματα

Φυσιολογικοί ιστοί

Ο κλώνος A103 ανιχνεύει το αντιγόνο Melan A στο κυτταρόπλασμα των μελανοκυττάρων. Ενδέχεται να παρατηρηθεί κάποια θετικότητα στον επινεφρικό φλοιό και στους όρχεις. (Συνολικός αριθμός φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 85).

Νεοπλασματικοί ιστοί

Με τον κλώνο A103 χρωματίστηκαν 12/119 όγκοι που αξιολογήθηκαν, συμπεριλαμβανομένων όγκων του δέρματος (12/76, μεταξύ των οποίων 12/14 κακοήγη μελανώματα, 0/16 ακανθοκυτταρικά καρκινώματα, 0/14 βασικοκυτταρικά καρκινώματα, 0/10 καρκινώματα του ιδρωτοποιού αδένου, 0/10 δερματοϊνοσάρκωματα, 0/3 μεταστατικά αδενοκαρκινώματα, 0/3 κακοήγη σβανώματα, 0/2 αδενοκυτταρικά καρκινώματα, 0/1 ινοσάρκωματα, 0/1 αδενοκαρκινώματα σημηγατογόνου αδένου, 0/1 αναπλαστικά αδιαφοροποίητα σαρκώματα και 0/1 λειομυοσάρκωματα), καρκινωμάτων του ήπατος (0/5), όγκων των ωοθηκών (0/4), καρκινωμάτων του πνεύμονα (0/4), θηλωδών καρκινωμάτων του θυρεοειδούς (0/4), όγκων του εγκεφάλου (0/2), ακανθοκυτταρικών καρκινωμάτων του οισοφάγου (0/2), καρκινωμάτων του μαστού (0/2), αδενοκαρκινωμάτων του στομάχου (0/2), όγκων μαλακών ιστών (0/2), ακανθοκυτταρικών καρκινωμάτων της γλώσσας (0/2), μεταστατικών όγκων αγνώστου προέλευσης (0/2), νεφροκυτταρικών καρκινωμάτων (0/2), ακανθοκυτταρικών καρκινωμάτων του τραχήλου (0/2), σεμινωμάτων των όρχυνων (0/2), αδενοκαρκινωμάτων του κόλου (0/2), αδενοκαρκινωμάτων του ορθού (0/2), ακανθοκυτταρικών καρκινωμάτων του λάρυγγα (0/1), και ενός άτυπου καρκινώματος όγκου του θύμου αδένου (0/1) (Συνολικός αριθμός περιστατικών με νεοπλασματικούς ιστούς που αξιολογήθηκαν = 119).

Το Melan A (A103) συνιστάται για την εκτίμηση του μελαν A σε μελανοκυτταρικές βλάβες.

Ειδικοί Περιορισμοί Του Προϊόντος

Το Melan A (A103) συνιστάται για χρήση είτε μαζί με το BOND Polymer Refine Detection είτε με το BOND Polymer Refine Red Detection και βοηθητικά αντιδραστήρια BOND. Χρήστες που αποκλίνουν από τις συστασιμένες διαδικασίες εξέτασης πρέπει να αποδέχονται την ευθύνη για ερμηνεία των αποτελεσμάτων ασθενών υπό τις συνθήκες αυτές. Οι χρόνοι του πρωτοκόλλου ενδέχεται να διαφέρουν, λόγω της μεταβλητότητας της μονιμοποίησης του ιστού και της αποτελεσματικότητας ενίσχυσης των αντιγόνων και πρέπει να προσδιορίζονται εμπειρικά. Κατά τη βελτιστοποίηση των συνθηκών ανάκτησης και των χρόνων πρωτοκόλλου, πρέπει να χρησιμοποιούνται αρνητικοί μάρτυρες αντιδραστηρίων.

Αντιμέτωπιση Προβλημάτων

Σχετικά με τις διορθωτικές ενέργειες, ανατρέξτε στην παραπομπή 3.

Για να αναφέρετε περιπτώσεις ασυνήθιστης χρώσης, επικοινωνήστε με τον τοπικό σας διανομέα ή τα περιφερειακά γραφεία της Leica Biosystems.

Πρόσθετες Πληροφορίες

Μπορείτε να βρείτε περισσότερες πληροφορίες σχετικά με την ανοσοχρώση με αντιδραστήρια BOND, υπό τους τίτλους Αρχή της διαδικασίας, Απαιτούμενα υλικά, Προετοιμασία δείγματος, Ποιοτικός έλεγχος, "Επαλήθευση προσδιορισμού, Ερμηνεία της χρώσης, Υπόμνημα για τα σύμβολα στις ετικέτες και Γενικοί περιορισμοί στην ενότητα "Χρήση αντιδραστηρίων BOND" στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης της BOND.

Βιβλιογραφία

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15–21.
5. Loy TS, Philips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170–172.
6. Clarkson KS, Sturdge IC and Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196–200.
7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. Journal of Pathology. 2001; 193:13–20.
8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2107–2115.

9. Blessing K, Grant JJH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. *Journal of Clinical Pathology*. 2000; 53:591–595.
10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*. 1998; 32 (2):139-146.
11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiter D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-I and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Ημερομηνία Έκδοσης

10 Σεπτεμβρίου 2018

BOND™ Brugsklart Primært Antistof Melan A (A103)

Katalognummer.: PA0233

Tilslaget Anvendelse

Dette reagens er beregnet til brug i *in vitro*-diagnostik.

Melan A (A103) monoklonalt antistof er beregnet til brug til kvalifikativ identifikation af påvisning af humant melan A-molekyle med lysmikroskop i formalinfixeret, paraffinindstøbt væv gennem immunohistokemisk staining ved hjælp af det automatiske BOND-system (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Den kliniske fortolkning af enhver farvning eller fravær af samme skal ledsages af morfologiske undersøgelser og egnede kontroller og skal evalueres af en uddannet patolog i konteksten af patientens anamnese samt andre diagnostiske prøver.

Resumé og Forklaring

Immunhistokemiske teknikker kan anvendes til at påvise tilstedeværelse af antigener i væv og celler (se "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugerdokumentationen). Primært antistof til Melan A (A103) er et brugsklart produkt, som anbefales til brug sammen med enten BOND Polymer Refine Detection (DS9800) eller BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Påvisningen af påvisning af humant melan A-molekyle sker ved først at tillade, at Melan A (A103) bindes til sektionen og derefter visualisere denne binding ved hjælp af de reagenser, der følger med detektionssystemet. Brugen af disse produkter sammen med det automatiske BOND-system (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) reducerer risikoen for menneskelige fejl og de indbyggede variationer, som opstår ved individuel reagensfortynding, manual pipettering og reagensapplicering.

Leverede Reagenser

Melan A (A103) er et murint antihumant monoklonalt antistof produceret som en vævskultursupernatant og leveret i Tris-bufferjusteret saltvandsopløsning med bæreprøtein indeholdende 0,35 % ProClin™ 950 som konserveringsmiddel.

Totalt volumen = 7 ml.

Klon

A103

Immunogen

Prokaryotisk rekombinant fusionsprotein svarende til det humane melan A-molekyle.

Specifцитet

Humant melan A, som genkender en doublet på 20 til 22 kD i melan A-mRNA-positive melanomcellelinjer. Reagerer ikke med melan A-mRNA-negative cellelinjer.

Ig-klasse

IgG1

Total Proteinkoncentration

Ca. 10 mg/ml.

Antistofkoncentration

Større end eller lig med 0,5 mg/L som bestemt med ELISA.

Fortynding og Blanding

Melan A (A103) primært antistof er fortyndet optimalt med henblik på brug i BOND-systemet (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet). Rekonstitution, blanding, fortynding eller titrering af dette reagens er ikke påkrævet.

Nødvendige Materialer, der ikke Medfølger

Se under "Brug af BOND-reagenser" i BOND-brugsanvisningen for at se en komplet liste over de materialer, der skal bruges i forbindelse med behandling og immunohistokemisk staining af prøver ved hjælp af BOND-systemet (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Opbevaring og Stabilitet

Opbevares ved 2–8 °C. Må ikke anvendes efter udløbsdatoen, der er angivet på beholderens etiket.

De tegn, der indikerer, at Melan A (A103) er kontamineret og/eller ustabil, omfatter turbiditet af opløsningen, lugtudvikling og tilstedeværelse af præcipitat.

Sættes tilbage til opbevaring ved 2–8 °C umiddelbart efter brug.

Opbevaringsbetingelser, der adskiller sig fra de oven for specificerede, skal verificeres af brugeren¹.

Forholdsregler

- Dette produkt er beregnet til brug i *in vitro*-diagnostik.
- Koncentrationen af ProClin™ 950 er 0,35 %. Det indeholder det aktive indholdsstof 2-methyl-4-isothiazolin-3-one og kan forårsage irritation af hud, øjne, slimhinder og øvre luftveje. Der skal anvendes handsker ved håndtering af reagenser.
- En kopi af sikkerhedsdatabladet (MSDS) kan fås ved henvendelse til den lokale distributør eller til Leica Biosystems' regionale kontor. Det kan tillige hentes på Leica Biosystems' hjemmeside www.LeicaBiosystems.com

- Præparater, både før og efter fiksering, samt alle øvrige materialer, der eksponeres for disse, skal håndteres som værende i stand til at overføre infektion og skal bortskaffes under iagttagelse af passende forholdsregler². Afpipetter ikke 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 læge.
- Bortskaffelse af potentielt toksiske komponenter skal ske i overensstemmelse med gældende statslig eller lokal lovgivning.
- Mikrobiel kontamination af reagenser skal minimeres for at undgå en øget ikke-specifik farvning.
- Genfindning, inkubationstider eller -temperaturer ud over de specificerede kan give fejlagtige resultater. Enhver ændring af denne art skal valideres af brugeren.

Brugsanvisning

Melan A (A103) primært antistof er udviklet med henblik på brug i det automatiske BOND-system (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) kombineret med BOND Polymer Refine Detection (DS9800) eller BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). De anbefalede farvningsprotokoller for primært antistof til Melan A (A103) er IHC Protocol F ved brug af BOND Polymer Refine Detection og IHC Protocol J ved brug af BOND Polymer Refine Red Detection. Varmeinduceret epitop-genfindning anbefales ved brug af BOND Epitope Retrieval Solution 2 i 20 minutter.

Forventede Resultater

Normale væv

Klon A103 detekterer melan A-antigenet i cytoplasma i melanocytter. Der ses muligvis også en vis positivitet i binyrebark og testis. (Samlet antal evaluerede, normale tilfælde = 85).

Tumorvæv

Klon A103 farvede 12/119 evaluerede tumorer, der inkluderede hudtumorer (12/76, herunder 12/14 maligne melanomer, 0/16 pladecellekarcinomer, 0/14 basalcellekarcinomer, 0/10 svedkirtelkarcinomer, 0/10 dermatofibrosarkomer, 0/3 metastaserende adenokarcinomer, 0/3 maligne schwannomer, 0/2 adenoidcystiske karcinomer, 0/1 fibrosarkomer, 0/1 talgkirtel-adenokarcinomer, 0/1 pleomorft differencieret sarkom og 0/1 leiomyosarkom), leverkarcinomer (0/5), ovarietumorer (0/4), lungekarcinomer (0/4), papillære thyreoideakarcinomer (0/4), hjernetumorer (0/2), pladecellekarcinomer i esophagus (0/2), brystkarcinomer (0/2), adenokarcinomer i maven (0/2), bloddelstumorer (0/2), pladecellekarcinomer i tungen (0/2), metastaserende tumorer af ukendt oprindelse (0/2), nyrecellekarcinomer (0/2), pladecellekarcinomer i cervix (0/2), testisseminomer (0/2), adenokarcinomer i colon (0/2), adenokarcinomer i rectum (0/2), pladecellekarcinomer i larynx (0/1) og atypiske karcinoide tumorer i thymus (0/1) (Samlet antal evaluerede tumortilfælde = 119).

Melan A (A103) anbefales til vurdering af melan A i melanocytiske læsioner.

Produktspecifikke Begrænsninger

Melan A (A103) er blevet optimeret hos Leica Biosystems til brug sammen med BOND Polymer Refine Detection eller BOND Polymer Refine Red Detection og BOND-hjælperreagenser. Brugere, som afviger fra anbefalede test procedurer, må selv tage ansvaret for tolkningen af patientresultater under disse betingelser. Protokolliderne kan variere på grund af variationer i vævsfiksering og effektiviteten af antigenforbedring og skal bestemmes empirisk. Der skal anvendes negative reagenskontroller ved optimering af genfindingsbetingelser og protokollider.

Fejlfinding

Der henvises til reference 3 for afhjælpende foranstaltninger.

Kontakt den lokale distributør eller Leica Biosystems' regionale kontor for at rapportere usædvanlig farvning.

Yderligere Oplysninger

Yderligere oplysninger om immunfarvning med BOND-reagenser kan findes i "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugerdokumentationen under overskrifterne Proceduremæssige principper, Nødvendige materialer, Præparatklargøring, Kvalitetskontrol, Analyseverifikation, Fortolkning af farvning, Nøgle til symboler på etiketter og Generelle begrænsninger.

Bibliografi

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15–21.
5. Loy TS, Philips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170–172.
6. Clarkon KS, Sturdge IC and Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196–200.
7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. Journal of Pathology. 2001; 193:13–20.
8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2107–2115.
9. Blessing K, Grant JH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. Journal of Clinical Pathology. 2000; 53:591–595.

10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*. 1998; 32 (2):139-146.
11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiters D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1 and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Udgivelsesdato

10 september 2018

BOND™ Klaar Voor Primaire Antilichaam te Gebruiken Melan A (A103)

Catalogusnummer.: PA0233

Beoogd Gebruik

Deze reagens wordt gebruikt voor *in-vitro* -diagnostiek.

Melan A (A103) monoklonaal antilichaam is bedoeld om te worden gebruikt voor de kwalitatieve identificatie met behulp van lichtmicroscopie van het aantonen van het humane melan A-molecuul in formaline gefixeerd en in paraffine ingebed weefsel door middel van immunohistochemische kleuringen met het geautomatiseerde BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem).

De klinische interpretatie van iedere kleuring of de afwezigheid ervan moet worden aangevuld met morfologisch onderzoek en goede controles. De interpretatie moet worden geëvalueerd door een vakkundige patholoog binnen de context van de klinische geschiedenis van de patiënt en eventueel ander diagnostisch onderzoek.

Samenvatting en Uitleg

Immunohistochemische technieken kunnen gebruikt worden om de aanwezigheid van antilichamen in weefsel en cellen aan te tonen (zie "BOND-reagentie gebruiken" in de gebruikersdocumentatie van BOND). Melan A (A103) primaire antilichaam is een klaar voor gebruik product dat speciaal geoptimaliseerd is voor het gebruik met ofwel BOND Polymer Refine Detection (DS9800) of BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). De demonstratie van het aantonen van het humane melan A-molecuul wordt gerealiseerd door eerst de binding van Melan A (A103) toe te staan aan de coupe en dan deze binding te visualiseren met behulp van de meegeleverde reagentia in het detectiesysteem. Door deze producten te gebruiken in combinatie met het geautomatiseerde BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem) neemt de kans op menselijke fouten af en zijn er ook minder afwijkingen voortvloeiende uit de individuele reagensverduunning, het handmatig pipetteren en de reagentoepassing.

Meegeleverde Reagentia

Melan A (A103) is een anti-monoklonaal muisantilichaam geproduceerd als een supernatant van de weefselweek, en wordt geleverd in Tris gebufferde saline met draagproteïne, en bevat 0,35 % ProClin™ 950 als conserveringsmiddel.

Totale volume = 7 mL.

Kloon

A103

Immunogeen

Prokaryotisch recombinant fusie-eiwit, overeenkomend met het humane melan A-molecuul.

Specificiteit

Humaan melan A, dat doubletten van 20 tot 22 kD in melan A mRNA-positief melanoomcellijnen herkent. Reageert niet met melan A mRNA-negatieve cellijnen.

Ig-klasse

IgG1

Totale Proteïneconcentratie

Ca. 10 mg/mL.

Antilichaamconcentratie

Groter of gelijk aan 0,5 mg/L zoals bepaald door ELISA.

Verduunning en Menging

Melan A (A103) primair antilichaam is optimaal verdund voor gebruik op het BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem). Reconstitutie, menging, verduunning of titratie van deze reagens is niet vereist.

Niet Meegeleverde Vereiste Materialen

Zie "BOND-reagentia gebruiken" in uw BOND-gebruikershandleiding voor een compleet overzicht van materialen die nodig zijn voor het verwerken van monsters en het uitvoeren van immunohistochemische kleuringen met het BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem).

Opslag en Stabiliteit

Opslaan bij temperaturen van 2–8 °C. Niet gebruiken na de expiratedatum die op het etiket van de container staat.

Tekenen die contaminatie en/of instabiliteit van Melan A (A103) aangeven zijn: vertroebeling van de oplossing, geurontwikkeling en de aanwezigheid van neerslag.

Laat het systeem direct na gebruik terugkeren naar een temperatuur van 2–8 °C.

Opslagcondities andere dan degene die hierboven gespecificeerd zijn, dienen door de gebruiker geverifieerd te worden¹.

Voorzorgsmaatregelen

- Dit product is bedoeld voor *in-vitro* -diagnostiek.
- De concentratie van ProClin™ 950 is 0,35 %. Het bevat het actieve ingrediënt 2-methyl-4-isothiazoline-3-one, en kan irritatie veroorzaken aan de huid, ogen, slijmvlies en het bovenste deel van de luchtwegen. Draag wegwerphandschoenen bij het werken met reagentia.

- Om een kopie van het materiaalveiligheidsblad te verkrijgen, dient u contact op te nemen met uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems, of de website van Leica Biosystems te bezoeken: www.LeicaBiosystems.com
- Monsters moeten voor en na fixatie worden behandeld als potentiële overdragers van infecties en volgens de juiste voorzorgsmaatregelen worden afgedankt. Dit geldt tevens voor alle materialen die aan de monsters zijn blootgesteld². Reagentia mogen nooit met de mond worden gepipetteerd. Daarnaast moet contact tussen de huid/het slijmvlies en reagentia en monsters worden vermeden. Als reagentia of monsters in contact komen met gevoelige gebieden, moet u deze gebieden wassen met een ruime hoeveelheid water. Neem contact op met een arts.
- Raadpleeg de richtlijnen van de lokale of nationale overheid voor het afdanken van potentieel giftige componenten.
- Minimaliseer de kans van microbacteriële contaminatie van reagentia. Als u dit niet doet, kan er een toename van niet-specifieke kleuring optreden.
- Terugwinning, incubatietijden of temperaturen die afwijken van degenen die gespecificeerd zijn, kunnen tot onjuiste resultaten leiden. Iedere dergelijke verandering moet door de gebruiker gevalideerd worden.

Instructies Voor Gebruik

Melan A (A103) primair antilichaam is ontwikkeld voor gebruik op het geautomatiseerde BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem) in combinatie met ofwel BOND Polymer Refine Detection (DS9800) of BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). De aanbevolen kleuringprotocollen voor Melan A (A103) primair antilichaam zijn IHC Protocol F bij het gebruik van BOND Polymer Refine Detection en IHC protocol J wanneer er gebruik BOND Polymer Refine Red Detection. Door warmte geïnduceerde terugwinning van epitop is aanbevolen met gebruik van BOND Epitope Retrieval Solution 2 gedurende 20 minuten.

Verwachte Resultaten

Normale weefsels

Kloon A103 detecteert het melan A-antigeen in het cytoplasma van melanocyten. Er kan ook enige positiviteit in de bijnierschors en testis worden gezien. (Totaal aantal beoordeelde normale gevallen = 85).

Tumorweefsels

Kloon A103 kleurde 12/119 beoordeelde tumoren, waaronder huidtumoren (12/76, waaronder 12/14 maligne melanomen, 0/16 plaveiselcelcarcinomen, 0/14 basaalcelcarcinomen, 0/10 zweetkliercarcinomen, 0/10 dermatofibrosarcomen, 0/3 gemetastaseerde adenocarcinomen, 0/3 maligne schwannomen, 0/2 adenoïde cystische carcinomen, 0/1 fibrosarcomen, 0/1 adenocarcinomen van de talgklier, 0/1 pleomorfe ongedifferentieerde sarcomen en 0/1 leiomyosarcomen), levercarcinomen (0/5), ovariumtumoren (0/4), longcarcinomen (0/4), schildkliercarcinomen (0/4), hersentumoren (0/2), plaveiselcelcarcinomen van de oesofagus (0/2), borstcarcinomen (0/2), adenocarcinomen van de maag (0/2), wekdelentumoren (0/2), plaveiselcelcarcinomen van de tong (0/2), gemetastaseerde tumoren van onbekende oorsprong (0/2), niercelcarcinomen (0/2), plaveiselcelcarcinomen van de cervix (0/2), testisminomen (0/2), adenocarcinomen van het colon (0/2), adenocarcinomen van het rectum (0/2), plaveiselcelcarcinomen van de larynx (0/1) en atypische carcinoïde tumoren van de thymus (0/1) (Totaal aantal beoordeelde tumorgevallen = 119).

Melan A (A103) wordt aanbevolen voor de beoordeling van melan A in melanocytair laesies.

Productspecifieke Beperkingen

Melan A (A103) is geoptimaliseerd door Leica Biosystems voor het gebruik met ofwel BOND Polymer Refine Detection of BOND Polymer Refine Red Detection en BOND-hulpreegentia. Gebruikers die afwijken van de aanbevolen testprocedures moeten de verantwoordelijkheid accepteren voor de interpretatie van de patiëntresultaten onder deze omstandigheden. De protocollijden kunnen variëren door de variatie in weefselfixatie en de effectiviteit van antigeenversterking, en moet empirisch worden bepaald. Negatieve reagenscontroles dienen gebruikt te worden voor het optimaliseren van terugwinningscondities en protocollijden.

Probleemoplossing

Raadpleeg referentie 3 voor herstelactie.

Neem contact op met uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems om een ongebruikelijke kleuring te melden.

Overige Informatie

Meer informatie over immunokleuring met BOND-reagentie, onder de titels Uitgangspunten, Vereiste materialen, Voorbereiding monsters, Kwaliteitscontrole, Verificatie van de analyse, Interpretatie van de kleuring, Legenda van symbolen op etiketten, en Algemene beperkingen kunt u vinden in "BOND-reagentia gebruiken" in de gebruikersdocumentatie van BOND.

Literatuurlijst

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JB and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15–21.
5. Loy TS, Philips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170–172.
6. Clarkson KS, Sturdge IC and Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196–200.
7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. Journal of Pathology. 2001; 193:13–20.

8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2107–2115.
9. Blessing K, Grant JJH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. *Journal of Clinical Pathology*. 2000; 53:591–595.
10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*. 1998; 32 (2):139-146.
11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiters D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1 and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Publicatiedatum

10 september 2018

BOND™ Primært Antistoff Klart til Bruk

Melan A (A103)

Katalognummer: PA0233

Tiltenkt Bruk

Denne reagensen er til *in vitro* -diagnostisk bruk.

Det monoklonale antistoffet Melan A (A103) er beregnet på kvalitativ identifisering med polarisert lys av polarisert lys av humant melan A-molekyl i formalinfiksert, parafininnstøpt vev ved hjelp av immunhistokjemisk farging med det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Den kliniske tolkningen av farging eller manglende farging skal være i tillegg til morfologiske undersøkelser og egnede kontroller, og skal evalueres av en kvalifisert patolog i lys av pasientens kliniske historie og eventuelle andre diagnostiske tester.

Oppsummering og Forklaring

Immunhistokjemiske teknikker kan brukes til å vise tilstedeværelse av antigener i vev og celler (se "Bruk av BOND-reagenser" i brukerdokumentasjonen for BOND-systemet). Det primære antistoffet Melan A (A103) er et produkt som er klart for bruk og spesielt optimalisert for bruk sammen med enten BOND Polymer Refine Detection (DS9800) eller BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Påvisningen av humant melan A-molekyl oppnås ved først å la Melan A (A103) binde seg til preparatet, for deretter å visualisere bindingsprosessen ved hjelp av reagensene som brukes i deteksjonssystemet. Ved bruk av disse produktene kombinert med det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) reduseres risikoen for menneskelige feil og den iboende variasjon som skyldes individuell reagensfortynning, manuell pipettering og reagensapplikasjon.

Reagenser Som Følger Med

Melan A (A103) er et anti-humant, monoklonalt antistoff fra mus laget som en vevskultursupernatant, og den leveres i en Tris-buffret saltløsning med bærerprotein, og inneholder 0,35 % ProClin™ 950 som konserveringsmiddel.

Totalt volum = 7 ml.

Klon

A103

Immunogen

Prokaryotisk, rekombinant fusjonsprotein svarende til det humane melan A-molekylet.

Spesifisitet

Humant melan A, som gjenkjenner en dublett på 20 til 22 kD i melan A mRNA-positive melanomcellelinjer. Reagerer ikke med melan A mRNA-negative cellelinjer.

Ig-klasse

IgG1

Totalproteinkonsentrasjon

Cirka 10 mg/mL.

Antistoffkonsentrasjon

Større enn eller tilsvarende 0,5 mg/L i henhold til ELISA.

Fortynning og Blanding

Det primære antistoffet Melan A (A103) er optimalt fortynnet for bruk med BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet). Rekonstituering, blanding, fortynning eller titrering av denne reagensen er ikke nødvendig.

Materiell Som Kreves, Men Som Ikke Medfølger

Under avsnittet "Bruk av BOND-reagenser" i brukerveiledningen for BOND finner du en komplett liste over de materialer som trengs til prøvebehandling og immunhistokjemisk farging med BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Oppbevaring og Stabilitet

Oppbevares ved 2–8 °C. Må ikke brukes etter utløpsdatoen angitt på produktetiketten.

Tegn på kontaminering og/eller ustabilitet for Melan A (A103) er: blakket løsning, endret lukt og bunnfall.

Returneres til 2–8 °C umiddelbart etter bruk.

Andre oppbevaringsbetingelser må valideres av brukeren¹.

Forholdsregler

- Dette produktet skal brukes til *in vitro*-diagnostikk.
- Konsentrasjonen av ProClin™ 950 er 0,35 %. Den inneholder virkestoffet 2-metyl-4-isotiasolin-3-on, og kan skape irritasjoner på hud, øyne, slimhinner og øvre luftveier. Bruk engangshansker ved håndtering av reagenser.
- Dataark om materialsikkerhet (MSDS) er tilgjengelig hos den lokale forhandleren eller regionkontoret til Leica Biosystems. Det kan også lastes ned fra nettsidene til Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com

- Preparater (før og etter fiksering) og alt materiale som eksponeres for dem, skal behandles som potensielt smittefarlig og kasseres i samsvar med gjeldende forholdsregler². Hold aldri pipetter med reagens i munnen, og unngå at hud og slimhinner kommer i kontakt med reagenser og prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal de skylles med rikelig vann. Kontakt lege.
- Følg nasjonale og lokale forskrifter for kassering av komponenter som kan være giftige.
- Reduser mikrobiell kontaminering av reagensene til et minimum, ellers kan det forekomme økt uspesifisert farging.
- Gjenfinning, inkubasjonstider eller temperaturer som er annerledes enn det som er angitt, kan gi unøyaktige resultater. Slike endringer må valideres av brukeren.

Bruksanvisning

Det primære antistoffet Melan A (A103) er blitt utviklet for bruk med det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) i kombinasjon med enten BOND Polymer Refine Detection (DS9800) eller BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Anbefalt fargeprotokoll for Melan A (A103) primært antistoff er IHC Protocol F ved bruk av BOND Polymer Refine Detection og IHC Protocol J ved bruk av BOND Polymer Refine Red Detection. Varmeindusert epitop gjenvinning er anbefalt ved bruk av BOND Epitope Retrieval Solution 2 i 20 minutter.

Forventede resultater

Normalt vev

Klon A103 detekterer melan A-antigen i cytoplasma i melanocytter. Noe positivitet kan også observeres i binyrebark og testis. (Totalt antall evaluerte normale tilfeller = 85).

Tumorvev

Klon A103 farget 12/119 tumorer evaluert, inkludert hudtumorer (12/76, inkludert 12/14 maligne melanomer, 0/16 skvamøse cellekarsinomer, 0/14 basalcellekarsinomer, 0/10 svettekjertelkarsinomer, 0/10 dermatofibrosarkomer, 0/3 metastatiske adenokarsinomer, 0/3 maligne akustikusnevrinomer, 0/2 adenoide cystiske karsinomer, 0/1 fibrosarkomer, 0/1 sebakøse adenokarsinomer, 0/1 pleomorfe differensierte sarkomer og 0/1 leiomyosarkomer), leverkarsinomer (0/5), ovarietumorer (0/4), lungekarsinomer (0/4), papillære thyroideakarsinomer (0/4), hjernetumorer (0/2), skvamøse cellekarsinomer i øsofagus (0/2), brystkarsinomer (0/2), adenokarsinomer i magen (0/2), bløtvevstumorer (0/2), skvamøse cellekarsinomer i tungen (0/2), metastatiske tumorer av ukjent opprinnelse (0/2), renale cellekarsinomer (0/2), kvamøse cellekarsinomer i cervix (0/2), testikulære seminomer (0/2), adenokarsinomer i kolon (0/2), adenokarsinomer i rektum (0/2), skvamøse cellekarsinomer i larynx (0/1) og atypiske karsinoid tumorer i thymus (0/1) (Totalt antall evaluerte tumortilfeller = 119).

Melan A (A103) anbefales for vurdering av melan A i melanocytiske lesjoner.

Produktspesifikke Begrensninger

Melan A (A103) er optimalisert av Leica Biosystems til bruk sammen med enten BOND Polymer Refine Detection eller BOND Polymer Refine Red Detection og BOND tilleggsgreagenser. Brukere som avviker fra de anbefalte testprosedyrene, må selv ta ansvar for tolkning av pasientresultater i slike situasjoner. Protokolltidene kan variere grunnet variasjon i vevsfiksering og effektiviteten til antigenforsterkningen, og må dermed bestemmes empirisk. Negative reagenskontroller bør brukes ved optimalisering av gjenvinningsforhold og protokolltider.

Feilsøking

Se referanse nr. 3 for opprettingstiltak.

Ta kontakt med den lokale forhandleren eller regionkontoret til Leica Biosystems for å rapportere om unormal farging.

Ytterligere opplysninger

Du finner mer informasjon om immunfarging med BOND-reagenser i "Bruk av BOND-reagenser" i brukerdokumentasjonen for BOND-systemet under overskriftene Testprinsipper, Materiell som kreves, Preparering av prøver, Kvalitetskontroll, Analysekontroll, Tolking av farging, Oversikt over symboler og Generelle begrensninger.

Bibliografi

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15–21.
5. Loy TS, Philips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170–172.
6. Clarkson KS, Sturdge IC and Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196–200.
7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. Journal of Pathology. 2001; 193:13–20.
8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2107–2115.
9. Blessing K, Grant JJH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. Journal of Clinical Pathology. 2000; 53:591–595.

10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*. 1998; 32 (2):139-146.
11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiters D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1 and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Utgivelsesdato

10 september 2018

BOND™ Kullanıma Hazır Primer Antikor

Melan A (A103)

Katalog No: PA0233

Kullanım Amacı

Bu reagent, *in vitro* diagnostik kullanımı içindir.

Melan A (A103) monoklonal antikorun, immünohistokimyasal boyama tarafından, otomatikleştirilmiş BOND Sistemi kullanılarak (Leica BOND-MAX sistemini ve Leica BOND-III sistemini de içermektedir) formalinde fikse edilmiş, parafinde bloklanmış doku içindeki insan melan A molekülünün sunumu'nin ışık mikroskopisi tarafından yapılan nitelikli tanımlama için kullanılması amaçlanmıştır.

Herhangi bir boyamanın mevcut olması veya olmaması ile ilgili klinik yorumlama, morfolojik çalışmalarla ve uygun kontrollerle tamamlanmalıdır ve hastanın klinik geçmişi ve diğer diagnostik testler kapsamında kalifiye bir patolojist tarafından değerlendirilmelidir.

Özet ve Açıklama

İmmünohistokimyasal teknikler, doku ve hücrelerde antijen olduğunu göstermek amacıyla kullanılabilir (BOND kullanıcı dokümantasyonunuzdaki "BOND Reagent'larının Kullanılması" bölümüne bakınız). Melan A (A103) primer antikor, özellikle ya da BOND Polymer Refine Detection (DS9800) veya BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390) ile kullanılmak üzere optimize edilmiş kullanıma hazır bir üründür. İnsan melan A molekülünün gösterimi, öncelikle Melan A (A103) ürününün seksiyona bağlanmasına izin verilmesi ve sonra bu bağlamanın, tespit etme sistemindeki reagent'lar kullanılarak görselleştirilmesi ile gerçekleştirilir. Bu ürünlerin kullanımı, otomatikleştirilmiş BOND Sistemi ile kombinasyonlu olarak (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemi de dahildir), insan hatalarının veya bireysel reagent seyrelenmenin, elle pipetlemenin ve reaktif uygulamaların sonucu olarak ortaya çıkan doğal değişikliklerin olasılığını azaltır.

Sağlanan Reagent'lar

Melan A (A103), bir supematant doku kültürü olarak oluşturulan bir mouse anti-human monoklonal antikordur ve prezervatif olarak % 0,35 ProCin™ 950 içeren taşıyıcı proteine sahip Tris buffer salin içerisinde verilir.

Toplam hacim = 7 mL.

Clone

A103

İmmünojen

İnsan melan A molekülüne karşılık gelen prokaryotik rekombinant füzyon proteini.

Spesifite

Melan A mRNA-pozitif melanom hücre çizgilerinde 20 ila 22 kD ikilisini tanıyan insan melan A. Melan A mRNA-negatif hücre çizgileri ile etkileşime girmez.

Ig Sınıfı

IgG1

Toplam Protein Konsantrasyonu

Yaklaşık 10 mg/mL.

Antikor Konsantrasyonu

ELISA tarafından belirlendiği gibi 0,5 mg/L'ye eşit veya bu değerden yüksek.

Dilüsyon ve Karışım

Melan A (A103) birincil antikor BOND Sistemi'nde (Leica BOND-MAX sistemini ve Leica BOND-III sistemini de içermektedir) kullanılmak üzere en uygun biçimde seyreltilmiştir. Bu reagent için sulandırma, karıştırma, dilüsyon veya titraj işlemlerinin yapılması gerekli değildir.

Sağlanmayan Ancak Gereklili Olan Materyaller

BOND Sistemi'ni (Leica BOND-MAX sistemini ve Leica BOND-III sistemini de içermektedir) kullanarak örnek tedavi ve immünohistokimyasal boyamada gerekli materyallerin toplu bir listesini görebilmek için BOND kullanıcı belgelerinizdeki "BOND reagent'lerini Kullanma" bölümüne bakın.

Saklama ve Dayanıklılık

2–8 °C'de saklayın. Konteyner etiketinin üzerinde belirtilen son kullanım tarihinden sonra kullanmayın.

Melan A (A103) kontaminasyonunu ve/veya instabilitesini belirten işaretler: solüsyonun türbiditesi, koku gelişimi ve presipitatın mevcut olması.

Kullanımdan hemen sonra 2–8 °C'ye dönün.

Yukarıda belirtilenlerin dışındaki saklama koşullarının, kullanıcı' tarafından kontrol edilmesi gerekir.

Önemler

- Bu ürün, *in vitro* diagnostik kullanımı içindir.
- ProCin™ 950 konsantrasyonu % 0,35'dir. 2-metil-4-izotiyazolin-3-tek etken maddesini içerir ve ciltte, gözlerde, muköz membranlarda ve üst solunum yolunda iritasyona neden olabilir. Reagent'larla işlem yaparken tek kullanımlık eldiven takın.

- Bir Material Safety Data Sheet (Malzeme Güvenlik Veri Sayfası) kopyası elde etmek için yerel distribütörünüze veya bölgesel Leica Biosystems ofisine başvurun veya alternatif olarak www.LeicaBiosystems.com Leica Biosystems internet sitesini ziyaret edin
- Fikse etme işleminden önce ve sonra numuneler ve bunlara maruz kalan tüm materyaller, enfeksiyon yayabilecek gibi ele alınmalı ve doğru önlemler alınarak atığa çıkarılmalıdır.* Reagent'lar asla ağızla pipetlenmemeli ve cildin ve muköz membranların reagent ve numunelerle temasından kaçınılmalıdır. Reagent veya numunelerin hassas alanlarla temas etmesi durumunda bu alanları bol su ile yıkayın. Doktora başvurun.
- Potansiyel tüm toksik componentlerin imhası için federal, ulusal veya lokal düzenlemelere başvurun.
- Reagent'ların mikrobiyal kontaminasyonunu minimize edin, aksi durumda nonspesifik boyamada bir artış ortaya çıkabilir.
- Belirtilenlerin dışında retrieval, inkübasyon süreleri veya sıcaklıkları, hatalı sonuçlara neden olabilir. Tüm değişiklikler, kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Kullanım Talimatları

Melan A (A103) birincil antikör, otomatikleştirilmiş BOND Sistemi'nde (Leica BOND-MAX sistemini ve Leica BOND-III sistemini de içermektedir) ya da BOND Polymer Refine Detection (DS9800) veya BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390) ile kombinasyonlu olarak kullanılmak üzere geliştirilmiştir. BOND Polymer Refine Red Detection geliştirir kullanırken Melan A (A103) primer antikör için önerilen boyama protokolleri BOND Polymer Refine Detection geliştirir kullanılarak IHC Protocol F ve IHC Protocol J vardır. 20 dakika boyunca BOND Epitope Retrieval Solution 2 kullanılarak ısıyla indüklenen epitop geri kazanımı yapılması önerilir.

Öngörülen Sonuçlar

Normal Dokular

Klon A103 melanositlerin sitoplazmasındaki Melan A antijenini saptar. Adrenal korteks ve testiste de bazı pozitifler görülebilir. (Değerlendirilen toplam normal vaka sayısı = 85).

Tümörlü Dokular

Klon A103 deri tümörleri (12/76; 12/14 habis melanom, 0/16 skuamöz hücreli kanser, 0/14 bazal hücreli kanser, 0/10 ter bezi kanserleri, 0/10 dermatofibrosarkomalar, 0/3 metastatik adenokanser, 0/3 habis schwannomlar, 0/2 adenoid kistik kanserler, 0/1 fibrosarkom, 0/1 sebasöz adenokanser, 0/1 pleomorfik başkalaşım göstermeyen sarkom ve 0/1 leiomiyo Sarkom dahil olmak üzere), karaciğer kanserleri (0/5), overyen tümörleri (0/4), akciğer kanseri (0/4), tiroid papiller kanserler (0/4), beyin tümörleri (0/2), özofagus skuamöz hücre kanserleri (0/2), göğüs kanserleri (0/2), mide adenokanserleri (0/2), yumuşak doku tümörleri (0/2), dil skuamöz hücre kanserleri (0/2), bilinmeyen kaynaklı metastatik tümörler (0/2), renal hücre kanserleri (0/2), serviks skuamöz hücre kanserleri (0/2), testiküler seminomlar (0/2), kolon adenokanserleri (0/2), rektum adenokanserleri (0/2), larinks skuamöz hücre kanserleri (0/1) ve timus atipik karsinoid tümörü (0/1) dahil olmak üzere değerlendirilen 12/119 tümörü boyamıştır (Değerlendirilen toplam tümör sayısı = 119).

Melan A (A103) melanositik lezyonlarda melan A değerlendirmesi için önerilmiştir.

Ürüne Özel Sınırlamalar

Melan A (A103), Leica Biosystems'da ya da BOND Polymer Refine Detection veya BOND Polymer Refine Red Detection ve BOND yardımcı reagent'ları ile birlikte kullanılmak üzere optimize edilmiştir. Önerilen test prosedürlerinin dışına çıkan kullanıcılar, bu şartlar altında hasta sonuçlarının yorumlanması için sorumluluğu kabul etmelidirler. Protokol süreleri, doku fiksasyonu ve antijen değerlendirme etkinliği nedeniyle değişiklik gösterebilir; bunlar ampirik olarak belirlenmelidir. Negatif reagent kontrolleri, retrieval koşulları ve protokol süreleri optimize edilirken kullanılmalıdır.

Arıza Giderme

Düzeltilici işlem için 3 no'lu referansa başvurun.

Olağandışı boyamayı rapor etmek için yerel distribütörünüze veya bölgesel Leica Biosystems ofisine başvurun.

Daha Fazla Bilgi

Prosedür Prensipleri, Gerekli Materyaller, Numune Hazırlığı, Kalite Kontrol, Test Doğrulaması, Boyamanın Yorumlanması, Etiketlerdeki Tuşlar ve Semboller ve Genel Sınırlamalar başlıkları altındaki BOND reagent'ları ile immünohistokimyasal boyama ile ilgili daha fazla bilgi, BOND kullanıcı dokümantasyonunuzun "BOND Reagent'larının Kullanılması" altında bulunabilir.

Kaynakça

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15–21.
5. Loy TS, Philips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170–172.
6. Clarkson KS, Sturdge IC and Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196–200.
7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. Journal of Pathology. 2001; 193:13–20.
8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2107–2115.
9. Blessing K, Grant JHH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. Journal of Clinical Pathology. 2000; 53:591–595.

10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*. 1998; 32 (2):139-146.
11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiten D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-I and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Yayım tarihi

10 Eylül 2018

Готово за употреба първично анти тяло BOND™

Melan A (A103)

Каталожен №: PA0233

Предназначение

Този реактив е за употреба при *in vitro* диагностика.

Моноклоналното анти тяло Melan A (A103) е предназначено за качествената идентификация чрез оптична микроскопия на човешка мелан А молекула във фиксирана с формалин, вградена в парафин тъкан чрез имунохистохимично оцветяване, използвайки автоматизираната система BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III).

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

Кратко описание и обяснение

Могат да бъдат използвани имунохистохимични техники за демонстриране на наличието на антигени в тъканта и клетките (вж. „Употреба на реактиви BOND“ във Вашата документация за потребителя на BOND). Първичното анти тяло Melan A (A103) е готов за употреба продукт, който е специално оптимизиран за използване с BOND Polymer Refine Detection (DS9800) и BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Показването на човешка мелан А молекула се постига, като първо се позволява свързването на Melan A (A103) с участъка, след което това свързване се визуализира, като се използват реактивите, предоставени в системата за откриване. Употребата на тези продукти заедно с автоматизираната система BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III) намалява възможността от човешка грешка и присъщата изменчивост в резултат на отделно разреждане на реактиви, ръчно пипетиране и прилагане на реактиви.

Предоставени реактиви

Melan A (A103) е мише античовешко моноклонално анти тяло, получено като супернатант от тъканна култура и доставено в трометамин-буфериран физиологичен разтвор с протеинов носител, съдържащ 0,35% ProClin™ 950 като консервант.

Общ обем = 7 mL.

Клонинг

A103.

Имуноген

Прокариотен рекомбинантен синтезиран протеин, съответстващ на човешка мелан А молекула.

Специфичност

Човешки мелан А, разпознаващ от 20 до 22 дублетни kD в мелан А mPHK положителни меланомни клетъчни линии. Не взаимодейства с мелан А mPHK-отрицателни клетъчни линии.

Имуноглобулинов клас

IgG1.

Обща концентрация на протеин

Приблизително 10 mg/mL.

Концентрация на анти теля

По-висока или равна на 0,5mg/L, както е определено от ELISA.

Разреждане и смесване

Първичното анти тяло Melan A (A103) е оптимално разрежено за употреба със системата BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III). Не се изисква възстановяване, смесване, разреждане или титриране на този реактив.

Необходими, но непредоставени материали

Вижте „Употреба на реактиви BOND“ във Вашата документация за потребителя на BOND за пълен списък от материали, необходими за третиране на спесимени и имунохистохимично оцветяване, използвайки системата BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III).

Съхранение и стабилност

Да се съхранява при температура 2 – 8 °C. Не използвайте след срока на годност, указан на етикета на контейнера.

Признаците за замърсяване и/или нестабилност на Melan A (A103) са: мътност на разтвора, проява на мирис и наличие на утайка.

Да се върне на температура 2 – 8 °C веднага след употреба.

Другите условия на съхранение, освен посочените по-горе, трябва да бъдат проверени от потребителя¹.

Предпазни мерки

- Този продукт е предназначен за *in vitro* диагностика.
- Концентрацията на ProClin™ 950 е 0,35 %. Съдържа активната съставка 2-метил-4-изотиазолин-3-он и може да причини дразнене на кожата, очите, лигавиците и горните дихателни пътища. При работа с реактивите да се носят ръкавици за еднократна употреба.

- За да получите копие на информационния лист за безопасност на материалите, свържете се с Вашия местен дистрибутор или регионален офис на Leica Biosystems или посетете уебсайта на Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- Спесимените преди и след фиксация, както и всички материали, изложени на тяхното влияние, трябва да бъдат третираны като способни да предадат инфекция и да бъдат изхвърлени, прилагайки съответните предпазни мерки². Никога не пипетирате реактиви с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реактиви или спесимени. В случай че реактиви или спесимени влязат в контакт с чувствителни зони, да се измият с обилно количество вода. Потърсете медицинска помощ.
- Консултирайте се с федералните, държавните или местните регламенти относно изхвърлянето на потенциално токсични компоненти.
- Свеждайте до минимум микробната контаминация на реактивите, иначе може да се появи увеличаване на неспецифичното оцветяване.
- Извличането, инкубационните времена или температури, различни от посочените, могат да доведат до погрешни резултати. Всякакви подобни промени трябва да бъдат валидирани от потребителя.

Инструкции за употреба

Първично антилягло Melan A (A103) е разработено за употреба с автоматизираната система BOND (включваща системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III) в комбинация с BOND Polymer Refine Detection (DS9800) или BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Препоръчителните протоколи за оцветяване за първично антилягло Melan A (A103) са IHC Protocol F при използване на BOND Polymer Refine Detection и IHC Protocol J при използване на BOND Polymer Refine Red Detection. Препоръчва се термично индуцирано извличане на епитоп, използвайки BOND Epitope Retrieval Solution 2 за 20 минути.

Очаквани резултати

Нормални тъкани

Клонинг A103 открива антиген Melan A в цитоплазмата на меланоцитите. Положителни резултати са наблюдавани и при надбъбречна кора и тестис. (Общ брой на оценените нормални случаи = 85).

Туморни тъкани

Клонинг A103 оцветява 12/119 оценени тумора, включително кожни тумори (12/76, включително 12/14 злокачествени меланом, 0/16 сквамозноклетъчни карцинома, 0/14 базални клетъчни карцинома, 0/10 карцинома на потната жлеза, 0/10 дерматофибросаркома, 0/3 метастатични аденокарцинома, 0/3 злокачествени шванома, 0/2 аденоидни кистозни карцинома, 0/1 фибросарком, 0/1 аденокарцином на мастните жлези, 0/1 плеоморфен недиференциран сарком и 0/1 лейомиосарком), чернодробни карциноми (0/5), тумори на яйчиците (0/4), белодробни карциноми (0/4), папиларни карциноми на щитовидната жлеза (0/4), мозъчни тумори (0/2), сквамозноклетъчни карциноми на хранопровода (0/2), карциноми на гърдата (0/2), аденокарциноми на стомаха (0/2), тумори на меките тъкани (0/2), сквамозноклетъчни карциноми на езика (0/2), метастатични тумори с неизвестен произход (0/2), бъбречноклетъчни карциноми (0/2), сквамозноклетъчни карциноми на маточната шийка (0/2), семиноми на тестисите (0/2), аденокарциноми на дебелото черво (0/2), аденокарциноми на ректума (0/2), сквамозноклетъчни карциноми на ларинкса (0/1) и атипични карциноидни тумори на тимуса (0/1) (общ брой на оценените случаи на тумори = 119).

Melan A (A103) се препоръчва за оценка на мелан А при меланоцитни лезии.

Специфични ограничения на продукта

Melan A (A103) е оптимизиран от Leica Biosystems за употреба или с BOND Polymer Refine Detection, или с BOND Polymer Refine Red Detection, както и със спомагателните реактиви BOND. Потребителите, които се отклоняват от препоръчаните процедури за тестване, трябва да поемат отговорност за интерпретацията на резултатите на пациентите при тези обстоятелства. Времетраенето на протоколите може да варира поради вариацията във фиксацията на тъканта и ефективността на усилването на антигена и трябва да се определи емпирично. Трябва да се използват негативни контроли на реактивите при оптимизиране на условията на извличане и времетраенето на протоколите.

Отстраняване на неизправности

Разгледайте референция 3 за коригиращи действия.

Свържете се с Вашия местен дистрибутор или регионалният офис на Leica Biosystems, за да съобщите за необичайно оцветяване.

Допълнителна информация

Допълнителна информация за имунооцветяване с реактиви BOND можете да намерите в „Употреба на реактиви BOND“ във Вашата документация за потребителя на BOND под заглавията „Принцип на процедурата“, „Необходими материали“, „Приготвяне на спесимен“, „Контрол на качеството“, „Потвърждаване на анализа“, „Интерпретация на оцветяването“, „Легенда на символите на етикетите“ и „Общи ограничения“.

Библиография

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15–21.
5. Loy TS, Philips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170–172.
6. Clarkson KS, Sturdge IC and Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196–200.

7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. *Journal of Pathology*. 2001; 193:13–20.
8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2107–2115.
9. Blessing K, Grant JJH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. *Journal of Clinical Pathology*. 2000; 53:591–595.
10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*. 1998; 32 (2):139-146.
11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiters D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1 and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Дата на издаване

10 Септември 2018

BOND™ azonnal használható elsődleges antitest

Melan A (A103)

Katalógusszám: PA0233

Alkalmazási terület

Ez a reagens *in vitro* diagnosztikai használatra szolgál.

A Melan A (A103) monoklonális antitest a humán melan-A molekula fénymikroszkóppal történő kvalitatív azonosítására szolgál formalinban fixált, paraffinba ágyazott szövetben, immunhisztokémiai festés útján, automata BOND rendszer (így a Leica BOND-MAX rendszer vagy a Leica BOND-III rendszer) használatával.

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

Összefoglalás és magyarázat

Az immunhisztokémiai módszerek antigének jelenlétének kimutatására szolgálnak szövetekben és sejtekben (lásd a „BOND reagensok használata” című részt a BOND felhasználói dokumentációban). A Melan A (A103) elsődleges antitest használatra kész termék, amely kifejezetten a BOND Polymer Refine Detection (DS9800) vagy a BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390) kittel való használatra lett optimalizálva. A humán melan-A molekula kimutatása úgy történik, hogy előbb lehetővé kell tenni a Melan A (A103) kötődését a metszethez, majd ez a kötődés megjeleníthető a detektáló rendszerben található reagensekkel. Ha ezeket a termékeket automata BOND rendszerrel együtt használják (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel), csökken az emberi hibák lehetősége, és mérsékelhető az egyes reagensek hígításából, a manuális pipettázásból és a reagensok alkalmazásából származó eredendő eltérések.

Biztosított reagensok

A Melan A (A103) egér eredetű, antihumán monoklonális antitest, amelyet szövettenyésztet felülűszóként állítanak elő. Kiszárlása: tris-pufferelt sóoldatban, hordozófehérjével és tartósítószerként 0,35% ProClin™ 950-nel.

Teljes mennyiség = 7 ml.

Klón

A103.

Immunogén

A humán melan-A molekulának megfelelő prokarióta eredetű rekombináns fúziós fehérje.

Specifitás

Humán melan-A 20–22 kD-os párokat ismer fel melan A mRNS-pozitív melanóma sejtvonalakban. Melan-A mRNS-negatív sejtvonalakkal nem lép reakcióba.

Ig-osztály

IgG1.

Összfehérje-koncentráció

Kb. 10 mg/ml.

Antitest-koncentráció

Legalább 0,5 mg/l ELISA módszerrel meghatározva.

Hígítás és elegyítés

A Melan A (A103) elsődleges antitest hígítása optimális a BOND rendszerrel (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel) való használatához. Nem szükséges a reagens feloldása, elegyítése, hígítása vagy titrálása.

Szükséges, de nem biztosított anyagok

A minta kezeléséhez és a BOND rendszerrel (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel) végzett immunhisztokémiai festéshez szükséges anyagok teljes listáját lásd a BOND felhasználói dokumentáció „BOND reagensok használata” című részében.

Tárolás és stabilitás

2–8 °C-on tárolandó. Ne használja fel a tartály címkéjén feltüntetett lejárati dátum után.

A Melan A (A103) szennyezettségére és/vagy instabilitására utaló jelek a következők: az oldat zavarossága, szag kialakulása és csapadék jelenléte.

Felhasználás után azonnal tegye vissza 2–8 °C közötti hőmérsékletre.

A fentiekben előírtaktól eltérő tárolási feltételeket a felhasználónak ellenőriznie kell¹.

Óvintézkedések

- Ez a termék *in vitro* diagnosztikai használatra szolgál.
- A ProClin™ 950 koncentrációja 0,35%. A termék 2-metil-4-izotiazolin-3-on hatóanyagot tartalmaz, amely a bőr, a szem, a nyálkahártyák és a felső légutak irritációját okozhatja. A reagensok kezeléséhez viseljen egyszer használatos kesztyűt.

- Az anyagbiztonsági adatlap igényléséhez forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához, vagy keresse fel a Leica Biosystems weboldalát a www.LeicaBiosystems.com címen.
- A mintákat fixálás előtt és után, valamint a velük érintkező összes anyagot fertőtlenítésre képes anyagként kell kezelni, és megfelelő körültekintéssel kell ártalmatlanítani². Soha ne pipettázza szájjal a reagenseket, továbbá kerülje a bőr és a nyálkahártyák érintkezését a reagensekkel és a mintákkal. Ha a reagensek vagy minták érzékeny területtel érintkeznek, bő vízzel mossa le az érintett területet. Forduljon orvoshoz.
- Minden potenciálisan toxikus összetevő ártalmatlanításával kapcsolatban kövesse a szövetségi, állami és helyi előírásokat.
- Minimálisan kell csökkenteni a reagensek mikrobiális szennyeződését, különben megnövekedhet a nem specifikus festődés.
- A megadottaktól eltérő feltérési körülmények, inkubációs idők és hőmérsékletek hibás eredményekhez vezethetnek. A felhasználónak minden ilyen jellegű változtatást validálnia kell.

Használati útmutató

A Melan A (A103) elsődleges antitest automata BOND rendszerrel (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel) és a BOND Polymer Refine Detection (DS9800) vagy BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390) kittel való együttes használatra lett kifejlesztve. A Melan A (A103) elsődleges antitesthez javasolt festési protokoll a BOND Polymer Refine Detection kit alkalmazása esetén az „F” IHC-protokoll, a BOND Polymer Refine Red Detection kit alkalmazása esetén pedig a „J” IHC-protokoll. A hőindukált epitópfeltéráshoz BOND Epitope Retrieval Solution 2 oldat 20 percig tartó alkalmazása javasolt.

Várható eredmények

Normál szövetek

Az A103 klón a Melan A antigént mutatja ki a melanociták citoplazmájában. A mellékvesekéregben és a herében is kismértékű pozitivitás volt megfigyelhető. (Vizsgált normál esetek összesített száma = 85).

Tumorszövetek

Az A103 klón a vizsgált 119 daganat közül 12-t festett meg, ezek közé tartoznak a bőrdaganatok (12/76, részletezve: 12/14 malignus melanóma, 0/16 laphámsejtes karcinóma, 0/14 basalioma, 0/10 verejtékmirigy-karcinóma, 0/10 dermatofibrosarkóma, 0/3 metasztatikus adenokarcinóma, 0/3 malignus schwannoma, 0/2 adenoid cisztás karcinóma, 0/1 fibrosarkóma, 0/1 faggyúmirigy adenokarcinóma, 0/1 pleomorf nem differenciált szarkóma és 0/1 leiomiiosarkóma), májkarcinómák (0/5), petefészek-daganatok (0/4), tüdőrák (0/4), papilláris pajzsmirigy-karcinómák (0/4), agydaganatok (0/2), a nyelöcső laphámsejtes karcinómái (0/2), emlőrák (0/2), a gyomor adenokarcinómái (0/2), lágyszövetdaganatok (0/2), a nyelv laphámsejtes karcinómái (0/2), ismeretlen eredetű metasztatikus daganatok (0/2), vesesejtes karcinómák (0/2), a méhnyak laphámsejtes karcinómái (0/2), hereszeminómák (0/2), vastagbél adenokarcinómák (0/2), rectum adenokarcinómák (0/2), a gége laphámsejtes karcinómái (0/1), valamint a csecsemőmirigy atípusos karcinoid daganatai (0/1). (A vizsgált daganatos esetek összesített száma = 119).

A Melan A (A103) a melan-A felmérésére ajánlott melanocitás elváltozásokban.

Termékspecifikus korlátozások

A Melan A (A103) terméket a Leica Biosystems a BOND Polymer Refine Detection kittel vagy a BOND Polymer Refine Red Detection kittel és a BOND segédreagensekkel való használatra optimalizálta. A tesztelési eljárásoktól való eltérés esetén a felhasználó felelőssége a Bonderedmények értelmezése az adott körülmények között. A protokoll végrehajtásához szükséges idő a szövet fixálásának és az antigén-erősítés hatékonyságának eltérései miatt változó lehet, ezért tapasztalati alapon történő meghatározást igényel. A feltérési körülmények és a protokollidők optimalizálásakor negatív reagenskontrollokat kell használni.

Hibaelhárítás

A javító intézkedéseket lásd a 3. hivatkozásban.

Szokatlan festődés bejelentéséhez forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához.

További információk

A BOND reagensekkel végzett immunfestésre vonatkozó további információkat a BOND felhasználói dokumentáció „BOND reagensek használata” című részében talál a következő szakaszokban: Az eljárás elve, Szükséges anyagok, A minták előkészítése, Minőség-ellenőrzés, A teszt ellenőrzése, A festődés értelmezése, A címkéken szereplő szimbólumok magyarázata és Általános korlátozások.

Szakirodalom

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15–21.
5. Loy TS, Philips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170–172.
6. Clarkson KS, Sturdegess IC and Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196–200.
7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. Journal of Pathology. 2001; 193:13–20.
8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2107–2115.

9. Blessing K, Grant JJH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. *Journal of Clinical Pathology*. 2000; 53:591–595.
10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*. 1998; 32 (2):139-146.
11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiter D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1 and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Kiadás dátuma

10 szeptember 2018

Anticorpul primar gata de utilizare BOND™

Melan A (A103)

Nr. catalog: PA0233

Utilizare prevăzută

Acest reactiv este destinat utilizării pentru diagnosticare *in vitro*.

Anticorpul monoclonal Melan A (A103) este destinat utilizării pentru identificarea calitativă, prin intermediul microscopiei optice, a moleculei de melan A umane în țesut fixat în formalină, încorporat în parafină, prin colorare imunohistochimică utilizând sistemul automat BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III).

Interpretarea clinică a oricărei colorații sau a absenței acesteia trebuie verificată prin studii morfologice, folosind proceduri de control adecvate, și trebuie evaluată în contextul istoricului clinic al pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

Rezumat și explicație

Pot fi utilizate tehnici imunohistochimice pentru a demonstra prezența antigenilor în țesut și celule (a se vedea „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația de utilizare BOND). Anticorpul primar Melan A (A103) este un produs gata de utilizare care a fost optimizat în mod specific pentru utilizare cu BOND Polymer Refine Detection (DS9800) sau BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Demonstrarea prezenței moleculei de Melan A este realizată mai întâi prin permiterea legării Melan A (A103) la secțiune și apoi prin vizualizarea acestei legări utilizând reactivii furnizați în sistemul de detecție. Utilizarea acestor produse, în combinație cu sistemul automat BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III), reduce posibilitatea producerii erorii umane și variabilitatea inerentă care rezultă din diluția individuală a reactivului, pipetarea manuală și aplicarea reactivului.

Reactivi furnizați

Melan A (A103) este un anticorp monoclonal anti-uman de șoarece produs ca supernatant de cultură tisulară și furnizat în soluție salină tamponată cu trometamină, cu proteină purtătoare, care conține 0,35 % ProClin™ 950 drept conservant.

Volum total = 7 ml.

Clonă

A103.

Imunogen

Proteină prozariotică recombinantă de fuziune corespunzând moleculei de melan A umane.

Specificitate

Melan A uman, recunoscând un dublet 20 - 22 kD în liniile de celule de melanom pozitive la melan A mRNA. Nu reacționează cu liniile de celule negative la melan A mRNA.

Clasa Ig

IgG1.

Concentrație proteină totală

Aproximativ 10 mg/mL.

Concentrație anticorpi

Mai mare sau egală cu 0,5mg/L, așa cum este determinată prin ELISA.

Diluare și amestecare

Anticorpul primar Melan A (A103) este diluat în mod optim pentru utilizare pe sistemul BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III). Reconstituirea, amestecarea, diluarea sau titrarea acestui reactiv nu sunt necesare.

Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate

Consultați „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația dumneavoastră de utilizare a sistemului BOND pentru o listă completă a materialelor necesare pentru tratarea specimenelor și colorația imunohistochimică utilizând sistemul BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III).

Depozitare și stabilitate

A se depozita la 2–8 °C. A nu se utiliza după data expirării indicată pe eticheta recipientului.

Semnele care indică contaminarea și/sau instabilitatea Melan A (A103) sunt: turbiditatea soluției, formarea de mirosuri și prezența precipitatului.

A se returna la 2–8 °C imediat după utilizare.

Alte condiții de depozitare decât cele specificate mai sus trebuie verificate de către utilizator¹.

Precauții

- Acest produs este destinat utilizării pentru diagnosticare *in vitro*.
- Concentrația de ProClin™ 950 este 0,35 %. Acesta conține ingredientul activ 2-metil-4-izotiazolin-3-ona și poate cauza iritarea pielii, ochilor, membranelor mucoase și tractului respirator superior. Purtați mănuși de unică folosință atunci când manipulați reactivii.
- Pentru a obține o copie a fișei tehnice de securitate a materialului, 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

- Specimenele, înainte și după fixare, precum și toate materialele expuse la acestea, trebuie manipulate ca și când ar avea potențialul de a transmite infecții și trebuie eliminate luând măsurile de precauție adecvate². Nu pipetați niciodată reactivii cu gura și evitați contactul reactivilor și speciemenelor cu pielea și membranele mucoase. Dacă reactivii sau probele vin în contact cu suprafețele sensibile, spălați cu apă din abundență. Solicitați asistență medicală.
- Consultați regulamentele naționale, județene sau locale pentru informații privind eliminarea la deșuri a oricăror componente cu potențial toxic.
- Reduceți la minimum contaminarea microbiană a reactivilor, în caz contrar poate apărea o creștere a colorației nespecifice.
- Timpii sau temperaturile de recuperare, incubatie care diferă de valorile specificate pot genera rezultate eronate. Orice astfel de modificare trebuie validată de către utilizator.

Instrucțiuni de utilizare

Anticorp primar Melan A (A103) a fost dezvoltat pentru utilizarea pe sistemul automat BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III) în combinație cu BOND Polymer Refine Detection (DS9800) sau BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Protocoalele de colorare recomandate pentru anticorpul primar Melan A (A103) sunt IHC Protocol F la utilizarea BOND Polymer Refine Detection și IHC Protocol J la utilizarea BOND Polymer Refine Red Detection. Se recomandă recuperarea indusă de căldură a epitopiilor utilizând BOND Epitope Retrieval Solution 2 timp de 20 de minute.

Rezultate așteptate

Testuri normale

Clona A103 detectează antigenul de Melan A în citoplasma melanocitelor. Se poate observa o anume pozitivitate în cortexul suprarenal și testicule. (Numărul total al cazurilor normale evaluate = 85).

Testuri tumorale

Clona A103 a colorat 12/119 din tumorile evaluate, incluzând tumori de piele (12/76, incluzând 12/14 melanoame maligne, 0/16 carcinoame cu celule scuamoase, 0/14 carcinoame cu celule bazale, 0/10 carcinoame ale glandelor sudoripare, 0/10 dermatofibrosarcoame, 0/3 adenocarcinoame metastatice, 0/3 schwannoame maligne, 0/2 carcinoame adenocistice, 0/1 fibrosarcoame, 0/1 adenocarcinoame sebacee, 0/1 sarcoame nediferențiate pleomorfe și 0/1 leiomiomasarcoame), carcinoame hepatice (0/5), tumori ovariene (0/4), carcinoame pulmonare (0/4), carcinoame papilare tiroidiene (0/4), tumori cerebrale (0/2), carcinoame cu celule scuamoase ale esofagului (0/2), carcinoame mamare (0/2), adenocarcinoame ale stomacului (0/2), tumori ale țesuturilor moi (0/2), carcinoame cu celule scuamoase ale limbii (0/2), tumori metastatice de origine necunoscută (0/2), carcinoame cu celule renale (0/2), carcinoame cu celule scuamoase ale colului uterin (0/2), seminoame testiculare (0/2), adenocarcinoame ale colonului (0/2), adenocarcinoame ale rectului (0/2), carcinoame cu celule scuamoase ale laringelui (0/1) și tumori carcinoide atipice ale timusului (0/1) (număr total de cazuri de tumori evaluate = 119).

Melanul A (A103) este recomandat pentru evaluarea melanului A în leziunile melanocitice.

Restricții specifice produsului

Melan A (A103) a fost optimizat la Leica Biosystems pentru utilizare cu BOND Polymer Refine Detection sau cu BOND Polymer Refine Red Detection și reactivi auxiliari BOND. Utilizatorii care se abat de la procedurile de testare recomandate trebuie să accepte responsabilitatea pentru interpretarea rezultatelor pacientului în aceste circumstanțe. Timpii protocolului pot varia, datorită variației în fixarea țesutului și eficacității intensificării antigenului, și trebuie să fie determinați empiric. Atunci când se optimizează condițiile de recuperare și timpii protocolului, trebuie să fie utilizați reactivi de control negativ.

Rezolvarea problemelor

Consultați referința 3 pentru acțiuni de remediere.

Contactați distribuitorul dumneavoastră local sau biroul regional al Leica Biosystems pentru raportarea colorării neobișnuite.

Informații suplimentare

Informații suplimentare referitoare la imunocolorația cu reactivii BOND, sub titlurile Principiul procedurii, Materiale necesare, Pregătirea specimenului, Controlul calității, Verificarea analizei, Interpretarea colorării, Codul simbolurilor de pe etichete și Limitări generale pot fi găsite în „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația dumneavoastră de utilizare a sistemului BOND.

Bibliografie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15–21.
5. Loy TS, Philips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170–172.
6. Clarkson KS, Sturdge IC and Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196–200.
7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. Journal of Pathology. 2001; 193:13–20.
8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2107–2115.
9. Blessing K, Grant JJH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. Journal of Clinical Pathology. 2000; 53:591–595.

10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*. 1998; 32 (2):139-146.
11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiters D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1 and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Data publicării

10 septembrie 2018

Готовое к применению первичное антитело BOND™

Melan A (A103)

Номер по каталогу: PA0233

Назначение

Этот реактив предназначен для диагностики *in vitro*.

Моноклональные антитела Melan A (A103) предназначены для качественного определения Melan A-молекулы человека методом световой микроскопии в фиксированных формалином и залитых в парафин образцах тканей после иммуногистохимического окрашивания в автоматизированной системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica).

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

Краткое изложение и пояснение

Имуногистохимические методы могут использоваться для выявления антигенов в тканях и клетках (смотрите монографию «Применение реактивов BOND» в документации пользователя BOND). Первичное антитело Melan A (A103) является готовым к применению препаратом, специально оптимизированным для использования в системах детекции BOND Polymer Refine Detection (DS9800) или BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Подтверждение присутствия Melan A-молекул человека достигается, во-первых, за счет связывания Melan A (A103) со срезом ткани с последующей визуализацией участка связывания, что осуществляется с использованием реактивов, которые предусмотрены системой обнаружения. Применение этих продуктов в сочетании с автоматизированной системой BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica) снижает вероятность человеческой ошибки и вариабельность, присущую процессам разведения отдельных реактивов, ручного пипетирования и внесения реактивов.

Реактивы, входящие в комплект поставки

Melan A (A103) представляет собой препарат моноклональных антител мыши к антигенам человека, который выпускается в форме супернатанта культуры ткани и поставляется в трис-солевом буферном растворе, содержащем белок-носитель, а также 0,35 % ProClin™ 950 в качестве консерванта.

Общий объем = 7 млб.

Клон

A103.

Иммуноген

Рекомбинантный слитый белок из прокариотических клеток, соответствующий Melan A-молекуле человека.

Специфичность

Melan A-молекула человека, распознающая дублиты массой от 20 до 22 кД в Melan A мРНК-положительной линии клеток меланомы. Не взаимодействует с Melan A м-РНК-отрицательными клеточными линиями.

Класс иммуноглобулинов

IgG1.

Общая концентрация белка

Примерно 10 мг/млб.

Концентрация антитела

Концентрация выше или эквивалентна 0,5 мг/л при определении методом ИФА.

Разведение и смешивание

Первичное антитело Melan A (A103) имеет оптимальное разведение для применения в системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica). Этот реактив не нуждается в восстановлении, смешивании, разведении или титровании.

Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

Полный список материалов, необходимых для обработки и иммуногистохимического окрашивания образцов в системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica) имеется в разделе «Применение реактивов BOND» документации пользователя системы BOND.

Хранение и стабильность

Хранить при температуре 2–8 °С. Не использовать после указанной на этикетке контейнера даты истечения срока годности.

Признаками, которые указывают на контаминацию и/или нестабильность Melan A (A103), являются: помутнение раствора, появление запаха и наличие осадка.

Немедленно после применения вернуть на хранение при 2–8 °С.

Условия хранения, отличающиеся от указанных выше, должны быть верифицированы пользователем¹.

Меры предосторожности

- Данная продукция предназначена для диагностики *in vitro*.
- Концентрация ProClin™ 950 составляет 0,35 %. Продукт содержит в качестве активного ингредиента 2-метил-4-изотиазолин-3-он, и может вызывать раздражение глаз, кожи, слизистых оболочек и органов верхних дыхательных путей. При работе с реактивами надевайте одноразовые перчатки.
- Для получения копии паспорта безопасности химической продукции (Material Safety Data Sheet) обратитесь к местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems. В качестве альтернативы посетите веб-сайт компании Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com
- С образцами (до и после фиксации) и всеми материалами, на которые они воздействуют, следует обращаться как с потенциально способными к передаче инфекции и утилизировать, соблюдая соответствующие меры предосторожности². Никогда не набирайте реактивы в пилетку ртом. Избегайте контакта реактивов и образцов с кожей и слизистыми оболочками. В случае контакта реактивов или образцов с чувствительными зонами промойте их большим количеством воды. Обратитесь за медицинской помощью.
- По вопросам утилизации любых возможно токсических компонентов выполняйте требования федеральных, региональных или местных нормативных документов.
- Сводите к минимуму микробное загрязнение реактивов во избежание усиления неспецифического окрашивания.
- Нарушение указанных в инструкции правил демаскировки, времени инкубации и термической обработки может привести к ошибочным результатам. Любые подобные изменения должны быть валидированы пользователем.

Инструкция по применению

Первичные антитела Melan A (A103) были разработаны для использования в автоматизированной системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica) в сочетании с BOND Polymer Refine Detection (DS9800) или BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Рекомендованным протоколом окрашивания первичных антител Melan A (A103) является иммуногистохимический (ИГХ) протокол F в тех случаях, когда используется система BOND Polymer Refine Detection, и протокол J при применении системы BOND Polymer Refine Red Detection. Тепловую демаскировку эпитопа рекомендуется выполнять с применением восстанавливающего раствора BOND Epitope Retrieval Solution 2 в течение 20 минут.

Ожидаемые результаты

Нормальные ткани

Клон A103 окрашивает антиген Melan A в цитоплазме меланоцитов. Некоторое положительное окрашивание зарегистрировано в тканях коры надпочечников и яичек. (Общее число исследованных нормальных тканей = 85).

Ткани опухолей

Клон A103 окрашивал 12/119 исследованных случаев опухоли, включая опухоли кожи (12/76, в том числе 12/14 случаев меланом, 0/16 случаев плоскоклеточного рака, 0/14 случаев базально-клеточной карциномы, 0/10 случаев карциномы потовых желез, 0/10 случаев дерматофибросаркомы, 0/3 случаев метастатической аденокарциномы, 0/3 случаев злокачественной шванномы, 0/2 случаев аденоидной кистозной карциномы, 0/1 случая фибросаркомы, 0/1 случая аденокарциномы салных желез, 0/1 случая недифференцированной плеоморфной саркомы и 0/1 случая лейомиосаркомы), карциномы печени (0/5), опухоли яичников (0/4), карциномы легкого (0/4), папиллярные карциномы щитовидной железы (0/4), опухоли головного мозга (0/2), случаи плоскоклеточного рака пищевода (0/2), карциномы молочной железы (0/2), аденокарциномы желудка (0/2), опухоли мягких тканей (0/2), плоскоклеточные карциномы языка (0/2), метастатические опухоли неизвестного происхождения (0/2), почечно-клеточные карциномы (0/2), плоскоклеточные карциномы шейки матки (0/2), семиномы яичек (0/2), аденокарциномы толстой кишки (0/2), аденокарциномы прямой кишки (0/2), плоскоклеточные карциномы гортани (0/1) и атипические карциноидные опухоли вилочковой железы (0/1) (общее количество исследованных случаев = 119).

Melan A (A103) рекомендуется использовать для определения этого белка в области меланоцитарных поражений.

Ограничения, специфичные для этого продукта

Melan A (A103) оптимизирован компанией Leica Biosystems для применения с системой BOND Polymer Refine Detection или BOND Polymer Refine Red Detection и дополнительными реактивами BOND. Пользователи, отклоняющиеся от рекомендованных процедур анализа, должны брать на себя ответственность за интерпретацию результатов исследований пациентов, выполненных в таких условиях. Продолжительность выполнения протокола должна быть определена опытным путем и может различаться в связи с вариабельностью фиксации ткани и эффективности усиления антигена. При оптимизации условий демаскировки и длительности протокола следует использовать отрицательные контроли реактивов.

Поиск и устранение неполадок

Действия по устранению неполадок описаны в (3).

С сообщениями о необычном окрашивании обращайтесь к своему местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems.

Дополнительная информация

Дополнительная информация по иммуногистохимическому окрашиванию с использованием реактивов BOND содержится в рубриках «Принцип методов», «Необходимые материалы», «Подготовка образцов», «Контроль качества», «Проверка достоверности анализа», «Интерпретация окрашивания», «Значения символов в маркировке продукции» и «Ограничения общего характера» раздела «Применение реактивов BOND» документации пользователя системы BOND.

Список литературы

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.

4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. *BMC Cancer*. 2003; 3(1):15–21.
5. Loy TS, Philips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 2002; 126(2):170–172.
6. Clarkson KS, Sturdge IC and Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). *Journal of Clinical Pathology*. 2001; 54: 196–200.
7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. *Journal of Pathology*. 2001; 193:13–20.
8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2107–2115.
9. Blessing K, Grant JJH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. *Journal of Clinical Pathology*. 2000; 53:591–595.
10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*. 1998; 32 (2):139-146.
11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiters D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1 and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Дата выпуска

10 Сентябрь 2018

Gotowe do użycia przeciwciało BOND™

Melan A (A103)

Nr katalogowy: PA0233

Przeznaczenie

Ten odczynnik jest przeznaczony do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Przeciwciało monoklonalne Melan A (A103) jest przeznaczone do identyfikacji jakościowej w zastosowaniu mikroskopii świetlnej ludzkiej cząsteczki Melan A w tkance utrwalonej w formalinie i zatopionej w parafinie za pomocą barwienia immunohistochemicznego przy użyciu automatycznego systemu BOND (w tym systemów Leica BOND-MAX i Leica BOND-III).

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

Podsumowanie i objaśnienie

W celu wykazania obecności antygenów w tkankach i komórkach (zob. „Korzystanie z odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika BOND) można skorzystać z technik immunohistochemicznych. Przeciwciało pierwszorzędowe Melan A (A103) to gotowy do użycia produkt, który jest zalecany do stosowania z systemem BOND Polymer Refine Detection (DS9800) lub BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Obecność ludzkiej cząsteczki melan A jest wykazywana w pierwszej kolejności przez umożliwienie wiązania Melan A (A103) z odcinkiem, a następnie wizualizację tego wiązania za pomocą odczynników dostarczonych w systemie detekcji. Używanie tych produktów, w połączeniu z automatycznym systemem BOND (obejmuje Leica BOND-MAX system i Leica BOND-III system), redukuje możliwość wystąpienia błędu człowieka i właściwej zmienności wynikającej z indywidualnego rozcieńczenia odczynników, ręcznego pipetowania i stosowania odczynników.

Odczynniki znajdujące się w zestawie

Melan A (A103) jest myślim anty-ludzkim przeciwciałem monoklonalnym, produkowanym jako oczyszczony supernatant hodowli tkankowej i dostarczonym w roztworze soli fizjologicznej buforowanej odczynnikiem Tris z białkiem nośnikowym, konserwowanym 0,35 % ProClin™ 950.

Łączna objętość = 7 ml.

Klon

A103.

Immunogen

Prokariotyczne rekombinowane białko fuzyjne odpowiadające ludzkiej cząsteczce melan A.

Swoistość

Ludzka melan A, rozpoznająca dublet 20 do 22 kD w mRNA-pozytywnych przeciwciałach melan A linii komórkowych czerniaka. Nie reaguje z mRNA-negatywną linią komórkową melan A.

Klasa Ig (immunoglobulina)

IgG1.

Całkowite stężenia białka

Okolo 10 mg/ml.

Stężenie przeciwciał

Większe lub równe 0,5mg/L oznaczone za pomocą testu ELISA.

Rozcieńczenie i mieszanie.

Przeciwciało pierwszorzędowe Melan A (A103) jest optymalnie rozcieńczone pod kątem użycia w systemie BOND (w tym systemów Leica BOND-MAX i Leica BOND-III). W przypadku tego odczynnika nie jest konieczne dodawanie wody, mieszanie, rozcieńczenie ani miareczkowanie.

Wymagane materiały niedołączone do zestawu

Aby uzyskać pełną listę materiałów potrzebnych do przygotowania próbek i barwienia immunohistochemicznego za pomocą systemu BOND (w tym systemów Leica BOND-MAX i Leica BOND-III) zob. „Korzystanie z odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika BOND.

Przechowywanie i trwałość

Przechowywać w temperaturze 2-8 °C. Nie używać po upływie daty ważności podanej na etykiecie pojemnika.

Oznaki skażenia i/lub niestabilności przeciwciała Melan A (A103) są następujące: zmętnienie roztworu, pojawienie się zapachu i obecność osadu.

Niezwłocznie po użyciu ponownie umieścić w temperaturze 2-8°C.

Przechowywanie w warunkach innych od wskazanych powyżej wymaga weryfikacji użytkownika¹.

Środki ostrożności

- Test jest przeznaczony do stosowania w diagnostyce *in vitro*.
- Stężenie ProClin™ 950 wynosi 0,35 %. Zawiera składnik czynny, metyloizotiazolinon, który może powodować podrażnienie skóry, oczu, błon śluzowych i górnych dróg oddechowych. Podczas pracy z odczynnikami należy nosić rękawice jednorazowego użytku.

- Aby otrzymać egzemplarz karty charakterystyki, należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub regionalnym biurem Leica Biosystems, lub odwiedzić stronę internetową, www.LeicaBiosystems.com
- Z preparatami przed utwaleniem i po utwaleniu, jak również ze wszystkimi materiałami, które mają z nimi styczność, należy obchodzić się tak, jak z materiałami potencjalnie zakaźnymi i należy je utylizować, zachowując odpowiednie środki ostrożności.² Podczas pobierania pipetą nie wolno zasysać odczynników ustami i należy unikać kontaktu odczynników i preparatów ze skórą oraz błonami śluzowymi. W razie kontaktu odczynników lub próbek ze szczególnie narażonymi miejscami przemyć miejsce kontaktu dużą ilością wody. Należy zasięgnąć porady lekarza.
- Wszelkie potencjalnie toksyczne składniki należy utylizować zgodnie z krajowymi lub lokalnymi przepisami.
- Chronić odczynnik przed skażeniem drobnoustrojami, ponieważ może ono doprowadzić do zwiększonego barwienia niespecyficznego.
- Zastosowanie czasów odmaskowywania, inkubacji lub temperatur innych niż podano w instrukcji może spowodować błędne wyniki. Wszelkie zmiany tego typu muszą zostać zweryfikowane przez użytkownika.

Instrukcja stosowania

Przeciwciała pierwszorzędowe Melan A (A103) zostało opracowane z myślą o zastosowaniu w automatycznym systemie BOND (obejmującym systemy Leica BOND-MAX i Leica BOND-III system) w połączeniu z BOND Polymer Refine Detection (DS9800) lub BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Zalecany protokół barwienia dla pierwszorzędowego przeciwciała Melan A (A103) to Protokół IHC F w przypadku stosowania BOND Polymer Refine Detection oraz Protokół IHC J w przypadku stosowania BOND Polymer Refine Red Detection. Zaleca się ciepłe odmaskowywanie epitopu przy użyciu roztworu BOND Epitope Retrieval Solution 2 przez 20 minut.

Oczekiwane wyniki

Tkanki prawidłowe

Klon A103 wykrywa antygen Melan A w cytoplazmie melanocytów. Pozytywne barwienie może być również widoczne w korze nadnerczy i jądrach. (Łączna liczba ocenionych prawidłowych przypadków = 85).

Tkanki nowotworowe

Klon A103 wybarwił 12/119 zbadanych nowotworów, w tym nowotwory skóry (12/76, w tym 12/14 czerniaków złośliwych, 0/16 raków płaskonabłonkowych, 0/14 raków podstawonokomórkowych, 0/10 raków gruczołofotowych, 0/10 włókniamięśniaków guzowatych, 0/3 gruczolakoraków przerzutowych, 0/3 złośliwych nerwiaków ostonkowych, 0/2 gruczolakoraków torbielowatych, 0/1 włókniamięśniaków, 0/1 gruczolakoraków gruczołów łojowych, 0/1 niezróżnicowanych mięsaków pleomorficznych oraz 0/1 mięśniakiomęśniaków gładkokomórkowych), raki wątroby (0/5), guzy jajnika (0/4), raki płuca (0/4), raki brodawkowatej tarczycy (0/4), guzy mózgu (0/2), raki płaskonabłonkowe przetyku (0/2), guzy sutki (0/2), gruczolakoraki żołądka (0/2), guzy tkanek miękkich (0/2), raki płaskonabłonkowe języka (0/2), guzy przerzutowe o nieznanym pochodzeniu (0/2), raki nerwowokomórkowe (0/2), raki płaskonabłonkowe szyjki macicy (0/2), nasieniaki jąder (0/2), gruczolakoraki okrężnicy (0/2), gruczolakoraki odbytnicy (0/2), raki płaskokomórkowe krtani (0/1) i atypowe rakowiaki grasicy (0/1) (Całkowita liczba ocenianych przypadków nowotworu = 119).

Zaleca się stosowanie Melan A (A103) do oceny melan A w zmianach melanocytowych.

Szczególne ograniczenia dla produktu

Przeciwciała Melan A (A103) zostało zoptymalizowane w Leica Biosystems do stosowania z BOND Polymer Refine Detection lub BOND Polymer Refine Red Detection i pomocniczymi odczynnikami BOND. W tych okolicznościach użytkownicy, którzy postępują niezgodnie z zalecanymi procedurami testowymi muszą wziąć odpowiedzialność za interpretację wyników chorego. Czasy protokołu mogą być różne w związku ze zróżnicowaniem w zakresie utwalenia tkanek i skuteczności wzmocnienia przez przeciwciała i należy je określić doświadczalnie. Odczynniki kontroli ujemnej należy stosować podczas optymalizacji warunków odmaskowywania i czasów protokołu.

Rozwiązywanie problemów

W celu uzyskania dalszych informacji dot. działań zaradczych zob. odsyłacz 3.

W celu zgłoszenia nietypowego barwienia należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub z regionalnym biurem firmy Leica Biosystems.

Dodatkowe informacje

Dodatkowe informacje dotyczące immunobarwienia przy użyciu odczynników BOND opisanego w rozdziałach „Zasady postępowania”, „Wymagane materiały”, „Przygotowanie próbek”, „Kontrola Jakości”, „Weryfikacja testu”, „Interpretacja barwienia”, „Objaśnienie symboli na etykietach” i „Ograniczenia ogólne” można znaleźć w punkcie „Stosowanie odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika systemu BOND.

Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15–21.
5. Loy TS, Philips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170–172.
6. Clarkson KS, Sturdess IC and Molyneux A.J. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196–200.

7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. *Journal of Pathology*. 2001; 193:13–20.
8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6):2107–2115.
9. Blessing K, Grant JJH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. *Journal of Clinical Pathology*. 2000; 53:591–595.
10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*. 1998; 32 (2):139-146.
11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiters D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1 and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Data publikacji

10 września 2018

Primarno protitelo BOND™ pripravljeno za uporabo

Melan A (A103)

Kataloška št.: PA0233

Predvidena uporaba

Ta reagent je namenjen diagnostični uporabi *in vitro*.

Monoklonsko protitelo Melan A (A103) je namenjeno kvalitativni identifikaciji molekule humanega melana A s svetlobno mikroskopijo v tkivih, fiksiranih s formalinom in vstavljenih v parafin, z imunohistokemijskim barvanjem z uporabo avtomatiziranega sistema BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III).

Klinično razlago kakršnega koli obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopoljevati morfološke študije in ustrezni kontrolni vzorci, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

Povzetek in razlaga

Imunohistokemijske tehnike se lahko uporabijo za prikaz prisotnosti antigenov v tkivih in celicah (glejte »Uporaba reagentov BOND« v priloženi dokumentaciji za uporabnike sistema BOND). Primarno protitelo Melan A (A103) je izdelek, ki je pripravljen za uporabo in posebej optimiziran za uporabo s sistemom BOND Polymer Refine Detection (DS9800) ali BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Prikaz molekule humanega melana A se doseže tako, da se najprej dovoli vezava protitelesa Melan A (A103) na rezino, nato pa se ta vezava prikaže z uporabo reagentov v sistemu za zaznavanje. Uporaba teh izdelkov, skupaj z avtomatiziranim sistemom BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III), zniža možnost človeške napake in variabilnosti, ki sama po sebi izhaja iz redčenja posameznega reagenta, ročnega pipetiranja in nanosa reagenta.

Priloženi reagenti

Melan A (A103) je mišje monoklonsko protitelo proti humanim antigenom, ki je izdelano kot supernatant tkivne kulture in dobavljeno v fiziološki raztopini s pufrom tris, nosilno beljakovino in 0,35 % konzervansa ProClin™ 950.

Skupna prostornina = 7 ml.

Klon

A103

Imunogen

Prokarionski rekombinantni fuzijski protein, ki ustreza molekuli humanega melana A.

Specifičnost

Humani melan A, prepozna dimer z 20 do 22 kD v celični liniji melanoma, ki je pozitivna za mRNA melana. Ne reagira s celičnimi linijami, ki so negativne za mRNA melana A.

Razred Ig

IgG1.

Skupna koncentracija beljakovin

Približno 10 mg/ml.

Koncentracija protiteles

Višja ali enaka 0,5 mg/l, določena s testom ELISA.

Redčenje in mešanje

Primarno protitelo Melan A (A103) je optimalno razredčeno za uporabo na sistemu BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III). Rekonstitucija, mešanje, redčenje ali titracija tega reagenta niso potrebni.

Potrebni materiali, ki niso priloženi

Glejte »Uporaba reagentov BOND« v priloženi dokumentaciji BOND za uporabnika za popoln seznam materialov, ki so potrebni za obdelavo vzorcev in imunohistokemijsko barvanje pri uporabi sistema BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III).

Shranjevanje in stabilnost

Hraniti pri temperaturi 2–8 °C. Ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti, navedenem na oznaki na vsebniku.

Znaki, ki kažejo kontaminacijo in/ali nestabilnost protitelesa Melan A (A103), so: motnost raztopine, prisotnost vonja in oborine.

Takoj po uporabi ohladite na temperaturo 2–8 °C.

Uporabnik mora potrditi ustreznost pogojev shranjevanja, če se ti razlikujejo od zgoraj navedenih¹.

Previdnosti ukrepi

- Ta izdelek je namenjen za diagnostično uporabo *in vitro*.
- Koncentracija konzervansa ProClin™ 950 je 0,35 %. Vsebuje aktivno učinkovino 2-metil-4-izotiazolin-3-on in lahko povzroči draženje kože, oči, sluznice ter zgornjih dihalnih poti. Kadar delate z reagenti, nosite rokavice za enkratno uporabo.
- Če želite varnostni list, se obrnite na svojega lokalnega distributerja ali regionalno pisarno družbe Leica Biosystems; najdete ga lahko tudi na spletnem mestu www.LeicaBiosystems.com

- Z vzorci, pred fiksiranjem in po njem, in vsemi materiali, s katerimi so prišli v stik, morate rokovati, kot da bi lahko prenašali okužbe, in pri njihovem odstranjevanju upoštevati ustrezne previdnostne ukrepe.² Nikoli ne pipetirajte reagentov skozi usta; pazite, da reagenti in vzorci ne pridejo v stik s kožo ali sluznicami. Če reagenti ali vzorci pridejo v stik z občutljivimi deli, jih izperite z obilo vode. Poiščite zdravniško pomoč.
- Sledite zveznim, državnim ali lokalnim predpisom za odstranjevanje katerih koli morebitno strupenih sestavin.
- Pazite, da ne pride do mikrobnih okužbe reagentov, saj lahko povzroči nespecifično barvanje.
- Če uporabite čas ali temperaturo razkrivanja in inkubacije, ki se razlikujejo od navedenih, lahko pridobite napačne rezultate. Uporabnik mora validirati morebitne spremembe.

Navodila za uporabo

Primarno protiteleso Melan A (A103) je bilo razvito za uporabo na avtomatiziranem sistemu BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III) skupaj s sistemom BOND Polymer Refine Detection (DS9800) ali BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Priporočeni protokol barvanja za Melan A (A103) sta protokol IHC Protocol F pri uporabi sistema BOND Polymer Refine Detection in protokol IHC Protocol J pri uporabi sistema BOND Polymer Refine Red Detection. Za toplotno pridobivanje epitopa se priporoča uporaba raztopine BOND Epitope Retrieval Solution 2 za 20 minut.

Pričakovani rezultati

Normalna tkiva

Klon A103 zazna antigen melana A v citoplazmi melanocitov. Vežavo lahko opazimo tudi v skorji nadledvične žleze in testisih. (Skupno število ocenjenih normalnih primerov = 85).

Tumorska tkiva

Klon A103 je obarval 12/119 ocenjenih tumorjev, med katerimi so bili kožni tumorji (12/76, in sicer 12/14 malignih melanomov, 0/16 ploščatoceličnih karcinomov, 0/14 bazalnoceličnih karcinomov, 0/10 karcinomov znojnice, 0/10 dermatofibrosarkomov, 0/3 metastatskih adenokarcinomov, 0/3 malignih nevrinomov, 0/2 adenoidnih cističnih karcinomov, 0/1 fibrosarkoma, 0/1 adenokarcinoma lojnice, 0/1 pleomorfnega nediferenciranega sarkoma in 0/1 leiomiomasarkoma), jetrni karcinomi (0/5), tumorji jajčnikov (0/4), pljučni karcinomi (0/4), papilarni karcinomi ščitnice (0/4), možganski tumorji (0/2), karcinomi skvamoznih celic požiralnika (0/2), karcinomi dojke (0/2), adenokarcinomi želodca (0/2), tumorji mehkih tkiv (0/2), karcinomi skvamoznih celic jezika (0/2), metastatski tumorji neznanega izvora (0/2), karcinomi ledvičnih celic (0/2), karcinomi skvamoznih celic materničnega vratu (0/2), seminomi testisov (0/2), adenokarcinomi debelega črevesa (0/2), adenokarcinomi rektuma (0/2), karcinomi skvamoznih celic grla (0/1) in atipičnimi karcinoidnimi tumorji priželjca (0/1) (skupno število ocenjenih primerov s tumorji = 119).

Uporaba protitelesa Melan A (A103) je priporočljiva za oceno melana A v melanocitnih lezijah.

Specifične omejitve izdelka

Družba Leica Biosystems je protiteleso Melan A (A103) optimizirala za uporabo s sistemom BOND Polymer Refine Detection ali BOND Polymer Refine Red Detection in pomožnimi reagenti BOND. Uporabniki, ki odstopijo od priporočenih preizkusnih postopkov, morajo prevzeti odgovornost za razlago bolnikovih rezultatov pod temi pogoji. Trajanje protokola se lahko spremeni zaradi razlik pri fiksiranju tkiv in učinkovitosti izboljšave antigena ter se mora določiti empirično. Uporabiti morate negativne kontrolne reagentne, kadar optimizirate pogoje razkrivanja in trajanje protokola.

Odpravljanje težav

Glejte 3. navedbo za ukrep za odpravljanje napake.

Če želite preočati o nenavadnem obarvanju, se obrnite na svojega lokalnega distributerja ali regionalno pisarno družbe Leica Biosystems.

Dodatne informacije

Dodatne informacije o imunološkem barvanju z reagenti BOND lahko najdete v priloženi dokumentaciji za uporabnike sistema BOND »Uporaba reagentov BOND« v poglavjih Načelo postopka, Potrebni materiali, Priprava vzorcev, Kontrola kakovosti, Verifikacija testa, Tolmačenje obarvanja, Legenda za simbole na oznakah in Splošne omejitve.

Literatura

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15–21.
5. Loy TS, Philips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170–172.
6. Clarkson KS, Sturdge IC and Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196–200.
7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. Journal of Pathology. 2001; 193:13–20.
8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2107–2115.
9. Blessing K, Grant JJH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. Journal of Clinical Pathology. 2000; 53:591–595.

10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*. 1998; 32 (2):139-146.
11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiten D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-I and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Datum izdaje

10 september 2018

BOND™ Primární protilátka připravená k použití

Melan A (A103)

Kat. č.: PA0233

Zamýšlené použití

Tato reagensie je určena k diagnostickému použití *in vitro*.

Monoklonální protilátka Melan A (A103) je určena k použití při kvalitativním stanovení lidské molekuly melan A světelnou mikroskopií ve tkáni fixované formalínem a zaité v parafínu imunohistochemickým barvením pomocí automatického systému BOND system (zahrnujícího systémy Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system).

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

Souhrn a vysvětlení

Imunohistochemické techniky lze použít k průkazu přítomnosti antigenů ve tkáni a v buňkách (viz „Použití reagensí BOND“ v uživatelské dokumentaci BOND). Primární protilátka Melan A (A103) je produkt připravený k použití, který byl specificky optimalizován k použití se soupravou BOND Polymer Refine Detection (DS9800) nebo BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Průkazu lidské molekuly melan A se dosáhne tím, že se nejprve umožní vazba Melanu A (A103) na fezu, a poté se tato vazba vizualizuje pomocí reagensí dodaných v detekčním systému. Použití těchto produktů v kombinaci s automatickým systémem BOND system (včetně systému Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system) snižuje možnost lidské chyby a inherentní variability v důsledku ředění jednotlivých reagensí, manuálního pipetování a použití reagensí.

Dodávané reagensie

Melan A (A103) je myši monoklonální protilátka proti lidským antigenům vyráběná jako supernatant z tkáňové kultury a dodávaná ve fyziologickém roztoku pufovaném Tris s přenášejším proteinem, obsahující jako konzervační prostředek 0,35% ProClin™ 950.

Celkový objem = 7 ml.

Klon

A103.

Imunogen

Prokaryotický rekombinantní fúzní protein odpovídající molekule lidského melanu A.

Specifita

Lidský melan A rozpoznává dublet 20 až 22 kD u mRNA-pozitivních melanomových buněčných linií melanu A. Nereaguje s mRNA-negativními liniemi melanu A.

Třída Ig

IgG1.

Koncentrace celkového proteinu

Přibližně 10 mg/ml.

Koncentrace protilátek

0,5 mg/l nebo vyšší, stanovená metodou ELISA.

Ředění a míchání

Primární protilátka Melan A (A103) je optimálně naředěná k použití v systému BOND system (včetně systému Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system). Rekonstituce, míchání, ředění ani titrace této reagensie nejsou nutné.

Potřebný materiál, který není součástí dodávky

Úplný seznam materiálů potřebných ke zpracování vzorku a k imunohistochemickému barvení pomocí systému BOND system (včetně systému Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system) je uveden v bodě „Použití reagensí BOND“ v uživatelské dokumentaci BOND.

Skladování a stabilita

Uchovávejte při teplotě 2–8 °C. Nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na štítku nádoby.

Známky signalizující kontaminaci a/nebo nestabilitu Melanu A (A103) jsou: zkalení roztoku, vznik zápachu a přítomnost precipitátů.

Okamžitě po použití vraťte do prostředí s teplotou 2–8 °C.

Podmínky skladování jiné než výše uvedené musí uživatel¹ validovat.

Bezpečnostní opatření

- Tento produkt je určen pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
- Koncentrace přípravku ProClin™ 950 je 0,35 %. Obsahuje aktivní složku 2-methyl-4-isothiazolin-3-on a může způsobit podráždění kůže, očí, sliznic a horních cest dýchacích. Při manipulaci s reagensii používejte rukavice na jedno použití.
- Výtisk bezpečnostního listu materiálu získáte od místního distributora nebo oblastní kanceláře společnosti Leica Biosystems, nebo můžete navštívit webové stránky Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com

- Se vzorky, před fixací i po fixaci, a se všemi materiály, které s nimi přišly do kontaktu, je nutno zacházet, jako by mohly přenášet infekci, a zlikvidovat je s použitím příslušných bezpečnostních opatření². Nikdy reagencie nepipetujte ústy a zabraňte kontaktu reagensů a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagencie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody. Vyhleďte lékařskou pomoc.
- Údaje o likvidaci jakýchkoli potenciálně toxických komponent prostudujte ve federálních, státních nebo místních nařízeních.
- Minimalizujte mikrobiální kontaminaci reagensů, mohlo by dojít ke zvýšení výskytu nespecifického barvení.
- Odmaskování, inkubační doby nebo teploty jiné než specifikované mohou vést k chybným výsledkům. Všechny takové změny musí být uživatelem validovány.

Návod k použití

Primární protilátka Melan A (A103) byla vyvinuta k použití v automatickém systému BOND system (včetně systému Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system) v kombinaci buď se soupravou BOND Polymer Refine Detection (DS9800) nebo BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Protokol doporučeného barvení primární protilátky Melan A (A103) imunohistochemický protokol F při použití soupravy BOND Polymer Refine Detection a protokol J při použití soupravy BOND Polymer Refine Red Detection. Teplem indukované odmaskování epitopu se doporučuje s použitím roztoku BOND Epitope Retrieval Solution 2 po dobu 20 minut.

Očekávané výsledky

Normální tkáně

Klon A103 detekuje antigen Melan A v cytoplazmě melanocytů. Určitou pozitivitu lze pozorovat rovněž u kůry nadledvin a varlete. (Celkový počet normálních vyšetřovaných tkání = 85).

Nádorové tkáně

Klon A103 barvil 12/119 vyšetřovaných nádorů, včetně nádorů kůže (12/76, včetně 12/14 maligních melanomů, 0/16 karcinomů skvamózních buněk, 0/14 karcinomů bazálních buněk, 0/10 karcinomů potních žláz, 0/10 dermatofibrosarkomů, 0/3 metastatických adenokarcinomů, 0/3 maligních schwanomů, 0/2 adenoidních cystických karcinomů, 0/1 fibrosarkomu, 0/1 sebaceózního adenokarcinomu, 0/1 pleomorfního nediferencovaného sarkomu a 0/1 leiomyosarkomu), karcinomů jater (0/5), ovarálních nádorů (0/4), karcinomů plic (0/4), thyroideálních papilárních karcinomů (0/4), nádorů mozku (0/2), karcinomů skvamózních buněk jícnu (0/2), karcinomů prsu (0/2), adenokarcinomů žaludku (0/2), nádorů měkkých tkání (0/2), karcinomů skvamózních buněk jazyka (0/2), metastatických nádorů neznámého původu (0/2), karcinomů renálních buněk (0/2), karcinomů skvamózních buněk děložního hrdla (0/2), testikulárních seminomů (0/2), adenokarcinomů tlustého střeva (0/2), adenokarcinomů rektu (0/2), karcinomů skvamózních buněk hrtanu (0/1) a atypického karcinoidního nádoru thymu (0/1) (Celkový počet vyšetřovaných nádorů = 119).

Melan A (A103) se doporučuje použít k hodnocení melanu A u melanocytických lézí.

Omezení specifická pro tento produkt

Melan A (A103) byl společností Leica Biosystems optimalizován k použití buď se soupravou BOND Polymer Refine Detection nebo BOND Polymer Refine Red Detection a s pomocnými reagensy BOND. Uživatelé, kteří se při vyšetření odchýlí od doporučeného postupu, musí za těchto okolností přijmout odpovědnost za interpretaci výsledků u pacienta. Doby uvedené v protokolu se mohou lišit v důsledku odchylek při fixaci tkání a účinnosti při výraznění antigenu a musí být stanoveny empiricky. Při optimalizaci podmínek pro odmaskování a pro doby v protokolu musí být použity reagencie pro negativní kontrolu.

Řešení problémů

Nápravná opatření jsou uvedena v odkaze 3.

S hlášením neobvyklého barvení kontaktujte místního distributora nebo oblastní kancelář společnosti Leica Biosystems.

Další informace

Další informace o imunobarvení reagensy BOND naleznete pod názvy Princip metody, Potřebné materiály, Příprava vzorku, Kontrola kvality, Ověření testů, Interpretace barvení, Vysvětlení symbolů na štítcích a Obecná omezení v uživatelské dokumentaci BOND, v bodě „Použití reagensů BOND“.

Literatura

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JB and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15–21.
5. Loy TS, Philips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170–172.
6. Clarkson KS, Sturdge IC and Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196–200.
7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. Journal of Pathology. 2001; 193:13–20.
8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2107–2115.
9. Blessing K, Grant JJH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. Journal of Clinical Pathology. 2000; 53:591–595.

10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*. 1998; 32 (2):139-146.
11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiters D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1 and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Datum vydání

10 září 2018

BOND™ Pripravené na Použitie Primárne Protilátky Melan A (A103)

Katalógové č.: PA0233

Zamýšľané použitie

Toto činidlo je určené na diagnostické použitie *in vitro*.

Monoklonálna protilátka Melan A (A103) je určená na použitie pri kvalitatívnej identifikácii ľudskej molekuly melan A svetelnou mikroskopiou v tkanive fixovanom formalínom a zaliatom do parafínu prostredníctvom imunohistochemického farbenia s použitím automatizovaného systému BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III).

Klinická interpretácia akéhokoľvek zafarbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými vyšetreniami a zodpovedajúcimi kontrolami. Výsledky je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a ďalších diagnostických testov vedených kvalifikovaným patológom.

Zhrnutie a vysvetlenie

Imunohistochemické techniky možno použiť na preukázanie prítomnosti antigénov v tkanivách a bunkách (pozrite si časť „Používanie činidiel BOND“ v používateľskej dokumentácii k systému BOND). Primárna protilátka Melan A (A103) je produkt pripravený na okamžité použitie, ktorý bol špecificky optimalizovaný na použitie so systémom BOND Polymer Refine Detection (DS9800) alebo BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Preukázanie ľudskej molekuly melan A sa vykonáva tak, že najprv sa umožní väzba prípravku Melan A (A103) na rez a táto väzba sa následne vizualizuje pomocou činidiel poskytnutých v detekčnom systéme. Použitie týchto produktov v spojitosti s automatizovaným systémom BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) znižuje možnosť ľudskej chyby a inherentnej variability vyplývajúcej z individuálneho nariadenia činidiel, manuálneho pipetovania a aplikácie činidiel.

Dodané činidlá

Melan A (A103) je myšia anti-ľudská monoklonálna protilátka vyprodukovaná ako supernatant bunkových kultúr a dodávaná v tris-pufrovanom fyziologickom roztoku s transportným proteínom, obsahujúca 0,35 % prípravku ProClin™ 950 ako konzervačnej látky. Celkový objem = 7 ml.

Klon

A103.

Imunogén

Prokaryotický rekombinantný fúzaný proteín zodpovedajúci ľudskej molekule melan A.

Špecifická

Ľudský melan A, ktorý rozpoznáva dublet 20 až 22 kD v bunkových líniiach melanómu pozitívneho na mRNA melanu A. Nereaguje s bunkovými líniami negatívnymi na mRNA melanu A.

Trieda Ig

IgG1.

Celková koncentrácia proteínov

Cca 10 mg/ml.

Koncentrácia protilátok

Vyššia alebo rovnaká ako 0,5 mg/l podľa ELISA.

Riedenie a miešanie

Primárna protilátka Melan A (A103) je optimálne zriedená na použitie v systéme BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III). Rekonštitúcia, miešanie, riedenie ani titrácia tohto činidla nie sú potrebné.

Požadovaný nedodaný materiál

Úplný zoznam materiálov potrebných na prípravu vzorky a imunochemické zafarbenie pomocou systému BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) si pozrite v časti „Používanie činidiel BOND“ v používateľskej dokumentácii k systému BOND.

Ukladanie a stabilita

Skladujte pri teplote 2 – 8 °C. Nepoužívajte po uplynutí dátumu expirácie uvedeného na štítku zásobníka.

Známky signalizujúce kontamináciu alebo nestabilitu prípravku Melan A (A103) sú: zakalenosť roztoku, vznik zápachu a prítomnosť zrazeniny.

Okamžite po použití vráťte do teploty 2 – 8 °C.

Iné než vyššie uvedené podmienky skladovania si vyžadujú validáciu používateľom¹.

Bezpečnostné opatrenia

- Tento produkt je určený na diagnostické použitie *in vitro*.
- Koncentrácia produktu ProClin™ 950 je 0,35 %. Obsahuje aktívnu zložku 2-metyl-4-izotiazolín-3-ón a môže spôsobiť podráždenie kože, očí, sliznic a horných dýchacích ciest. Pri manipulácii s činidlami používajte jednorazové rukavice.
- Materiálový bezpečnostný list vám poskytne miestny distribútor alebo regionálna pobočka spoločnosti Leica Biosystems, prípadne navštívte webovú lokalitu spoločnosti Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com.

- So vzorkami pred fixáciou a po nej a všetkými materiálmi, ktoré s nimi prišli do kontaktu, je nutné manipulovať ako s potenciálne infekčnými a zlíkvidovať ich pri dodržaní zodpovedajúcich bezpečnostných opatrení. 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.
- Likvidáciu prípadných potenciálne toxických súčastí definujú federálne, štátne alebo miestne predpisy.
- Minimalizujte mikrobiálnu kontamináciu činidiel. V opačnom prípade môže dôjsť k zvýšeniu nešpecifického zafarbenia.
- Nedodržanie predpísaných dôb záchytu, inkubačných dôb alebo teplôt môže viesť k nesprávnym výsledkom. Všetky takéto zmeny si vyžadujú validáciu používateľom.

Návod na použitie

Prímárna protilátka Melan A (A103) bola vytvorená na použitie v automatizovanom systéme BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) v spojitosti so systémom BOND Polymer Refine Detection (DS9800) alebo BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). Odporúčané protokoly farbenia pre primárnu protilátku Melan A (A103) sú IHC Protocol F v prípade použitia systému BOND Polymer Refine Detection a IHC Protocol J v prípade použitia systému BOND Polymer Refine Red Detection. Záchyt epitopov s tepelnou indukciou sa odporúča pomocou prípravku BOND Epitope Retrieval Solution 2 po dobu 20 minút.

Očakávané výsledky

Normálne tkanivá

Klon A103 deteguje antigén melanu A v cytoplazme melanocytov. Určitú pozitívnu vidno aj v kôre nadobličiek a semenníku. (Celkový počet normálnych vyšetrených prípadov = 85).

Nádorové tkanivá

Klon A103 zafarbil 12/119 vyšetovaných nádorov vrátane nádorov kože (12/76, vrátane 12/14 malígnych melanómov, 0/16 skvamocelulárnych karcinómov, 0/14 karcinómov bazálnych buniek, 0/10 karcinómov potných žliaz, 0/10 dermatofibrosarkómov, 0/3 metastatických adenokarcinómov, 0/3 malígnych schwannómov, 0/2 adenoidných cystických karcinómov, 0/1 fibrosarkómov, 0/1 sebaceoých adenokarcinómov, 0/1 pleomorfných nediferencovaných sarkómov a 0/1 leiomyosarkómov), karcinóm pečene (0/5), nádorov vaječníka (0/4), karcinómov pľúc (0/4), papilárnych karcinómov šľtnej žľazy (0/4), nádorov mozgu (0/2), skvamocelulárnych karcinómov pažeráka (0/2), karcinómov prsníka (0/2), adenokarcinómov žalúdka (0/2), nádorov mäkkých tkanív (0/2), skvamocelulárnych karcinómov jazyka (0/2), metastatických nádorov neznámeho pôvodu (0/2), karcinómov renálnych buniek (0/2), skvamocelulárnych karcinómov krčka (0/2), seminómov semenníka (0/2), adenokarcinómov hrubého čreva (0/2), adenokarcinómov konečníka (0/2), skvamocelulárnych karcinómov hrtana (0/1) a atypických karcinoidných nádorov detskej žľazy (0/1) (Celkový počet vyšetrených nádorov = 119).

Melan A (A103) sa odporúča na vyhodnotenie prítomnosti melanu A v melanocytických léziách.

Špecifické obmedzenia pre tento výrobok

Melan A (A103) bol v spoločnosti Leica Biosystems optimalizovaný na použitie so systémom BOND Polymer Refine Detection alebo BOND Polymer Refine Red Detection a pomocnými činidlami BOND. Používatelia, ktorí sa odchyľia od odporúčaných testovacích postupov, musia akceptovať zodpovednosť za interpretáciu výsledkov pacienta za týchto okolností. Časy podľa protokolu sa môžu líšiť z dôvodu odchýlok vo fixácii tkaniva a účinnosti zvyraznenia antigénu a musia sa zistiť empiricky. Pri optimalizácii podmienok záchytu a časov podľa protokolov je potrebné použiť negatívne kontroly činidiel.

Riešenie problémov

Pri náprave môže byť nápomocná referencia 3.

Neobyklé zafarbenie ohlásť miestnemu distribútorovi alebo regionálnej pobočke spoločnosti Leica Biosystems.

Ďalšie informácie

Ďalšie informácie o imunofarbení s činidlami BOND nájdete v častiach Princíp postupu, Požadované materiály, Príprava vzorky, Kontrola kvality, Overenie testu, Interpretácia zafarbenia, Legenda k symbolom na označení a Všeobecné limitácie v používateľskej dokumentácii k systému BOND „Používanie činidiel BOND“.

Literatúra

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VB Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15–21.
5. Loy TS, Phillips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170–172.
6. Clarkson KS, Sturdess IC and Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196–200.
7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. Journal of Pathology. 2001; 193:13–20.
8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2107–2115.
9. Blessing K, Grant JH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. Journal of Clinical Pathology. 2000; 53:591–595.

10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*. 1998; 32 (2):139-146.
11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiters D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. *British Journal of Cancer*. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1 and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. *Cancer Research* 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 1996; 93:5915–5919.

Dátum vydania

10 septembra 2018

BOND™ تيلولاً ةداضملاً ماسجلاً مادختسلاً زهاج

Melan A (A103)

رقم الدليل: PA0233

الاستعمال المستهدف

هذا الكشف مخصص للاستعمال في أعراض التشخيص في المختبرات.

إن الغرض من الجسم المضاد أحادي النسيلة (A103) Melan هو استخدامه في التحديد النوعي بواسطة المجهر الضوئي لأجزاء ميلان A البشرية في النسيج المثبت بالفورمالين، والمضمن في البارافين عن طريق التلطيق الكيميائي النسيجي المناعي باستخدام نظام BOND الألي (يشمل نظامي Leica BOND-MAX و Leica BOND-III). ينبغي أن يُستكمل التفسير السريري لوجود أي تلوّح أو غيابه من خلال الدراسات المورفولوجية والخصائص الصحية، وينبغي تقييم ذلك في سياق التاريخ السريري للمريض وغيره من الاختبارات التشخيصية التي يُجرىها أخصائي مؤهل في علم الأمراض.

الملخص والشرح

يمكن استخدام الأساليب الكيميائية النسيجية المناعية لإثبات وجود مؤشرات المضادات في النسيج والخلايا (انظر "استعمال كواشف BOND" في وثائق مستخدم BOND التي بحوزتك). الجسم المضاد الأولي (A103) Melan عبارة عن منتج جاهز للاستعمال تم تحسينه تحديداً من أجل استخدامه مع أحد نظامي الكشف إما BOND Polymer Refine Detection (DS9800) أو BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). يتحقق إظهار جزئي ميلان بشري A من خلال السماح أولاً بربط Melan A (A103) بالقطاع، ثم تصوير هذا الربط باستخدام الكواشف المتوفرة في نظام الكشف. يقل استخدام هذه المنتجات، جنباً إلى جنب مع نظام BOND الألي (يشمل نظامي Leica BOND-MAX و Leica BOND-III)، من إمكانية حدوث خطأ بشري وتغيرات متصلة ناتجة عن تخفيف الكاشف الفردي، والمصن البيوي، واستعمال الكاشف.

الكواشف المتوفرة

يعتبر Melan A (A103) جسماً مضاداً مضاداً بشرياً أحادي النسيلة لدى الفئران يتم إنتاجه كمادة طافية لزراعة الأنسجة، ويتم توفيره في محلول ملحي ثلاثي منظم مع بروتين حامل، ويحتوي على 0.35% من 950 ProCin™ كمادة حافظة.

الحجم الكلي = 7 مل.

المستسخ

A103.

المستضد

بروتين انصباح ماثيوب بدائي النواة متوافق مع جزئي ميلان البشري A.

الخصوصية

يتعرف ميلان A البشري على خط ثنائي 20 إلى 22 kd في خطوط خلايا سرطان الجلد الإيجابية ARNm لميلان A. لا يتفاعل مع خطوط الخلايا السلبية ARNm لميلان A.

فئة الغلوبولين المناعي

IgG1.

تركيز البروتين الكلي

نحو 10 مجم/مل تقريباً

تركيز الجسم المضاد

أكثر من أو يساوي 0.5 مجم/لتر/حسبما تحدد مقايمة الممتاز المناعي المرتبط بالإينزيم (ELISA).

التخفيف والخلط

يتم تخفيف الجسم المضاد الأولي (A103) Melan للحد الأمثل لاستخدامه في نظام BOND (يشمل نظامي Leica BOND-MAX و Leica BOND-III). لا يلزم إعادة تشكيل هذا الكاشف، أو خلطه، أو تخفيفه، أو معايرته.

المواد المطلوبة لكنها غير متوفرة

ارجع إلى "استعمال كواشف BOND" في وثائق مستخدم BOND التي بحوزتك للحصول على قائمة كاملة بالمواد المطلوبة لمعالجة العينات والتلطيق الكيميائي النسيجي المناعي باستخدام نظام BOND (يشمل نظامي Leica BOND-MAX و Leica BOND-III).

التخزين والاستقرار

يُخزن في درجة حرارة 2-8 درجة مئوية. لا يُستعمل بعد تاريخ الانتهاء المدون على ملصق الحاوية.

تمثل العلامات التي تشير إلى تلوّح (A103) Melan و/أو عدم استقراره في: تعكر المحلول، وانبعاث رائحة، ووجود راسب.

أعد درجة الحرارة إلى 2-8 درجة مئوية بعد الاستعمال مباشرةً.

يجب التحقق من ظروف التخزين بمعرفة المستخدم بخلاف الظروف المحددة أعلاه¹.

الاحتياطات

- هذا المنتج مخصص للاستعمال في أعراض التشخيص في المختبرات.
- تركيز 950 ProCin™ هو 0.35%. وهو يحتوي على العنصر النشط 2-ميثيل-4-أيزوثيازولين-3-واحد، وقد يسبب تهيجاً في الجلد، والعينين، والأغشية المخاطية، والجهاز التنفسي العلوي. عليك بالارتداء قفاز للاستعمال مرة واحدة عند التعامل مع الكواشف.
- الحصول على نسخة من صحيفة بيانات سلامة المواد، اتصل بالموزع المحلي لديك أو مكتب Leica Biosystems الإقليمي، أو يمكنك بدلاً من ذلك زيارة موقع Leica Biosystems على شبكة الويب على العنوان الإلكتروني www.LeicaBiosystems.com
- ينبغي التعامل مع العينات، قبل التثبيت وبعده، وكذلك مع جميع المواد التي تتعرض لها كما ولو كانت قادرة على نقل العدوى، وينبغي التخلص منها مع اتخاذ الاحتياطات السليمة². لا تلمس الكواشف مطلقاً عن طريق الفم، وتجنب احتكاك الجلد والأغشية المخاطية بالكواشف أو العينات. إذا كانت الكواشف أو العينات تحتك بمناطق حساسة، فغسل هذه المناطق بكميات وفيرة من الماء. اطلب المشورة الطبية.
- راجع اللوائح الفيدرالية، أو لوائح الولاية، أو اللوائح المحلية للتخلص من أي مكونات سامة محتملة.
- تُلل التلوّح الميكروبي للكواشف وإلا قد تحدث زيادة في التلوّح غير المحدد.
- قد تؤدي ظروف الاسترجاع، أو أوقات الحضانة، أو درجات الحرارة بخلاف تلك الظروف المحددة إلى الحصول على نتائج خاطئة. يجب التحقق من أي تغيير كهذا من جانب المستخدم.

تعليمات الاستعداد

تم تطوير الجسم المضاد الأولي Melan A (A103) لاستخدامه في نظام BOND الآلي (يشمل نظائري Leica BOND-MAX و Leica BOND-III) بالاقتران إما مع نظام BOND Polymer Refine Red Detection (DS9800) أو نظام BOND Polymer Refine Red Detection (DS9390). تتمثل بروتوكولات التطبيق الموصى بها للجسم المضاد الأولي Melan A (A103) في IHC Protocol F عند استخدام نظام BOND Polymer Refine Red Detection، و IHC Protocol J بروتوكول ل IHC Protocol عند استخدام نظام BOND Polymer Refine Red Detection. يوصى بإجراء استرجاع الحامأة المثار بالحرارة باستخدام محلول استرجاع BOND Epitope Retrieval Solution 2 لمدة 20 دقيقة.

النتائج المتوقعة

الأسجة العادية

يكتشف مستضد A103 مستضد Melan A في سيتوبلازم الخلايا الميلانينية. قد تتم مشاهدة بعض الإيجابية أيضاً في القشرة الكظرية والخصية. (إجمالي عدد الحالات العادية التي تم تقييمها = 85).

الأسجة الورمية

مستضد A103 ملتحق من 12/119 من الأورام التي تم تقييمها، وتشمل أورام الجلد (12/76)، ومنها 12/14 من ورم الجلد الخبيث، و 0/16 من سرطان الخلايا الحرشفية، و 0/14 من سرطان الخلايا القاعدية، و 0/10 من سرطان الغدة العرقية، و 0/10 من سرطان الجلد الليفي، و 0/3 من السرطان النقيبي الغدي، و 0/3 من السرطان الشفائي الخبيث، و 0/2 من السرطان الكيسي الغدي، و 0/1 من السرطان الليفي، و 0/1 من السرطان الغدي الزهمي، و 0/1 من السرطانات غير المتميزة متعددة الأشكال، و 0/1 من الساركومة العضلية الغلساء، و سرطان الكبد (0/5)، وأورام المبيض (0/4)، وسرطان الرئة (0/4)، وسرطان الغدة الدرقية الحليمي (0/4)، وأورام المخ (0/2)، وسرطان الخلايا الحرشفية بالمريء (0/2)، وسرطان الثدي (0/2)، والسرطان الغدي بالمعدة (0/2)، وأورام الأنسجة الرخوة (0/2)، وسرطان الخلايا الحرشفية باللسان (0/2)، والأورام النقيبية من أصل غير معروف (0/2) وسرطان الخلايا الكلوية (0/2)، وسرطان الخلايا الحرشفية بغض الثدي (0/2)، والأورام الغدية الخصوية (0/2)، والسرطان الغدي بالقلولون (0/2)، والسرطان الغدي بالمستقيم، (0/2)، وسرطان الخلايا الحرشفية بالحنجرة (0/1)، والأورام السرطانية غير المنطوية بالعدة الصعترية (0/1) (إجمالي عدد الحالات الورمية التي تم تقييمها = 119).

يوصى باستخدام (A103) Melan A في تقييم ميلان A في الأوقات الخلوية الميلانينية.

القيود الخاصة بالمنتج

تم تحسين (A103) Melan A باستخدام Leica Biosystems لاستخدامه إما مع نظام BOND Polymer Refine Detection أو نظام BOND Polymer Refine Red Detection وكواشف المساعدة. على المستخدمين الذين يحدون عن إجراءات الاختبار الموصى بها قبول تحمل المسؤولية عن تفسير نتائج المرضى في ظل هذه الظروف. قد يختلف عدد مرات البروتوكول، بسبب الاختلاف في تثبيت الأنسجة وفعالية تعزيز المستضد، وذلك يجب تحديده تجريبياً. ينبغي استعمال ضوابط الكواشف السلبية عند تحسين ظروف الاسترجاع وعدد مرات البروتوكول.

اكتشاف المشكلات وحلها

ارجع إلى المرجع رقم 3 للاطلاع على الإجراء العلاجي.

اتصل بالموزع المحلي لديك أو بكتب Leica Biosystems الإقليمي للإبلاغ عن أي تظليخ غير اعتيادي.

المزيد من المعلومات

يمكن العثور على المزيد من المعلومات حول التظليخ المناعي باستخدام كواشف BOND، تحت العناوين التالية: مبدأ الإجراء، المواد المطلوبة، إعداد العينة، ضبط الجودة، التحقق من صحة القمص، تفسير التظليخ، مفتاح الرموز المدونة على المصنفات، والقيود العامة، وذلك في قسم "استعمال كواشف BOND" في وثائق مستخدم BOND التي بحوزتكم.

قائمة المراجع

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JB and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Shidham VD Qi D, Rao RN et al. Improved immunohistochemical evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma with 'MCW Melanoma Cocktail' - A mixture of monoclonal antibodies to MART-1, melan-A and tyrosinase. BMC Cancer. 2003; 3(1):15-21.
5. Loy TS, Philips RW and Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors: an immunohistochemical study of 316 cases. Archives of Pathology & Laboratory Medicine 2002; 126(2):170-172.
6. Clarkson KS, Sturdge IC and Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). Journal of Clinical Pathology. 2001; 54: 196-200.
7. de Vries TJ, Smeets M, de Graaf R et al. Expression of gp100, MART-1, tyrosinase and S100 paraffin-embedded primary melanomas and locoregional, lymph node, and visceral metastases: implications for diagnosis and immunotherapy. A study conducted by the EORTC Melanoma Cooperative Group. Journal of Pathology. 2001; 193:13-20.
8. Fang D, Hallman J, Sangha N et al. Expression of microtubule-associated protein 2 in benign and malignant melanocytes. American Journal of Pathology. 2001; 158(6):2107-2115.
9. Blessing K, Grant JH, Sanders DSA et al. Small cell malignant melanoma: variant of nevoid melanoma. Clinicopathological features and histological differential diagnosis. Journal of Clinical Pathology. 2000; 53:591-595.
10. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody Melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. Histopathology. 1998; 32 (2):139-146.
11. De Vries TJ, Trancikova D, Ruiters D et al. High expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1, tyrosinase and TRP-1 in uveal melanoma. British Journal of Cancer. 1998; 78(9): 1156-1161.
12. De Vries TJ, Fourkour A, Wobbes T, et al. Heterogeneous expression of immunotherapy candidate proteins gp100, MART-1 and Tyrosinase in human melanoma cell lines and in human melanocytic lesions. Cancer Research 1997; 57: 3223-3229.
13. Chen YT, Stockert E, Jungbluth A et al. Serological analysis of melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 1996; 93:5915-5919.

تاريخ الإصدار

10 سبتمبر 2018

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