

BOND™ Ready-To-Use Primary Antibody p16 (6H12)

Catalog No: PA0016

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



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

Instructions for Use

Please read before using this product.

Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

Istruzioni per l'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

Instrucciones de uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

Bruksanvisning

Var god läs innan ni använder produkten.

Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

Bruksanvisning

Læs venligst før produktet tages i brug.

Gebbruksinstructies

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.

Instruḡiuni de utilizare

Citiḡi aceste instruḡiuni 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.

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.

Verificati 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.

BOND™ Ready-To-Use Primary Antibody

p16 (6H12)

Catalog No: PA0016

Intended Use

This reagent is for *in vitro* diagnostic use.

p16 (6H12) monoclonal antibody is intended to be used for the qualitative identification by light microscopy of human p16 protein 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). p16 (6H12) primary antibody is a ready to use product that has been specifically optimized for use with BOND Polymer Refine Detection. The demonstration of human p16 protein is achieved by first allowing the binding of p16 (6H12) 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

p16 (6H12) 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

6H12

Immunogen

Prokaryotic recombinant fusion protein corresponding to the entire human p16 molecule.

Specificity

Human p16 protein.

Ig Class

IgG2b

Total Protein Concentration

Approx 10 mg/mL.

Antibody Concentration

Greater than or equal to 5 mg/L as determined by ELISA.

Dilution and Mixing

p16 (6H12) 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 a 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 p16 (6H12) 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

p16 (6H12) primary antibody was developed for use on the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system) in combination with BOND Polymer Refine Detection. The recommended staining protocol for p16 (6H12) primary antibody is IHC Protocol F. Heat induced epitope retrieval is recommended using BOND Epitope Retrieval Solution 2 for 20 minutes.

Results Expected

Normal Tissues

Clone 6H12 detects the p16 protein that is expressed in a highly restricted pattern in certain cells within specific tissues. The staining pattern is nuclear, but cytoplasmic staining is observed in most cell types that express p16. Immunoreactivity was observed in reticulated crypt epithelium and follicular dendritic cells in tonsil, islet cells in the pancreas, Leydig cells of the testis, scattered urothelial cells and in occasional glandular epithelial cells in endometrium. Occasional weak staining was seen in antral glands of the stomach, glandular and myo-epithelium in the breast, and in the adrenal gland. Staining of macrophages and some fibroblasts was also seen. No additional staining was observed in a variety of other normal tissues evaluated (Total number of normal cases = 149).

Tumor Tissues

Clone 6H12 stained 30/42 cervical cancers (including 25/31 squamous cell carcinomas of the cervix, 2/4 adenocarcinomas of the cervix, 2/2 endometrioid adenocarcinomas, 1/2 endocervical adenocarcinomas, 0/2 intestinal type adenocarcinomas and 0/1 serous papillary carcinomas), 21/39 oropharyngeal squamous cell carcinomas, 3/6 breast tumors (including 2/4 invasive ductal carcinomas and 1/2 fibroadenomas), 2/10 tumors of the bowel (including 2/4 adenocarcinomas of the colon, 0/3 adenocarcinomas of the rectum, 0/2 adenomas of the bowel and 0/1 adenocarcinomas of the small intestine), 2/5 hepatocellular carcinomas, 2/5 head and neck tumors (including 1/1 adenocarcinoma of the oral cavity, 1/1 pleomorphic adenoma of the salivary gland, 0/1 adenoid cystic carcinoma, 0/1 squamous cell carcinoma of the tongue and 0/1 nasopharyngeal carcinoma), 2/4 brain tumors (including 1/3 meningiomas and 1/1 astrocytoma), 2/4 adenocarcinomas of the stomach, 2/4 lung tumors (including 1/1 adenocarcinoma, 1/1 small cell carcinoma and 0/2 squamous cell carcinoma), 2/3 adenocarcinomas of the prostate, 2/2 adenocarcinomas of the endometrium, 1/5 thyroid tumors (including 1/1 follicular carcinoma, 0/1 follicular papillary adenocarcinoma and 0/3 adenomas), 1/5 metastatic tumors, 1/4 squamous cell carcinomas of the esophagus, 1/4 ovarian tumors (including 1/2 endometrioid adenocarcinomas, 0/1 granulosa cell tumor and 0/1 adenocarcinoma), 1/2 bone tumors (including 1/1 chondrosarcoma and 0/1 osteosarcoma), and 1/1 adenocarcinoma of the pancreas. No staining was detected in lymphomas (0/3), bladder tumors (0/3), renal tumors (0/3), skin tumors (0/3), adrenal tumors (0/2), seminomas (0/2) and a prostatic hyperplasia (0/1). (Total number of abnormal cases evaluated = 162).

p16 (6H12) is recommended for the detection of p16 protein in normal and neoplastic tissues, as an adjunct to conventional histopathology using non-immunologic histochemical stains.

Product Specific Limitations

p16 (6H12) has been optimized at Leica Biosystems for use with BOND Polymer Refine 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. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Date of Issue

02 July 2019

Anticorps primaires prêts à l'emploi BOND™

p16 (6H12)

Numéro de référence : PA0016

Utilisation prévue

Ce réactif est destiné à un usage de diagnostic *in vitro*.

p16 (6H12) est un anticorps monoclonal destiné à l'identification qualitative par microscopie optique de la protéine p16 humaine dans les tissus fixés au formol et enrobés de paraffine par coloration immunohistochimique à l'aide du système automatisé BOND (dont les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III).

L'interprétation clinique d'une coloration ou d'une absence de coloration doit être complétée par des études morphologiques et des contrôles adéquats et doit être évaluée dans le contexte des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques réalisés par un pathologiste qualifié.

Résumé et explication

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 p16 (6H12) est prêt à l'emploi et a été spécialement optimisé pour BOND Polymer Refine Detection. La démonstration de la protéine p16 humaine s'effectue d'abord par la liaison de p16 (6H12) à la coupe, puis par la visualisation de cette liaison au moyen des réactifs fournis dans le système de détection. L'utilisation de ces produits avec le système automatisé BOND (dont les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III) réduit la possibilité d'erreur humaine et la variabilité inhérente qui résulte de la dilution de réactifs individuels, du pipetage manuel et de l'application des réactifs.

Réactifs fournis

p16 (6H12) 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

6H12

Immunogène

Protéine de fusion procaryote recombinante correspondant à l'entièreté de la molécule p16 humaine.

Spécificité

Protéine humaine p16.

Classe Ig

IgG2b

Concentration totale en protéines

Env. 10 mg/ml

Concentration en anticorps

Supérieure ou égale à 5 mg/l tel que déterminé par ELISA.

Dilution et mélange

L'anticorps primaire p16 (6H12) est dilué de manière optimale pour une utilisation sur le système BOND (dont les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III). Il n'est pas nécessaire de reconstituer, mélanger, diluer ou titrer ce réactif.

Matériels nécessaires mais non fournis

Consultez la section relative à « l'utilisation des réactifs BOND » de votre documentation d'utilisateur BOND pour obtenir la liste complète des matériaux requis pour le traitement et la coloration immunohistochimique des échantillons à l'aide d'un système BOND (dont les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III).

Conservation et stabilité

Entreposer entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon.

Les signes indiquant une contamination ou une instabilité de p16 (6H12) sont les suivants : turbidité de la solution, développement d'une odeur et présence de précipité.

Remettre immédiatement entre 2 °C et 8 °C après utilisation.

Les conditions de conservation autres que celles spécifiées ci-dessus doivent faire l'objet d'une vérification par l'utilisateur¹.

Précautions

- Ce produit est destiné à un usage de diagnostic *in vitro*.
- La concentration de ProClin™ 950 est de 0,35 %. Il contient l'ingrédient actif 2-méthyl-4-isothiazolin-3-one et peut provoquer une irritation de la peau, des yeux, des membranes muqueuses et des voies respiratoires supérieures. Porter des gants jetables pour la manipulation des réactifs.
- Pour obtenir un exemplaire de la Fiche de données de sécurité, contactez votre distributeur local ou le bureau régional de Leica Biosystems. Vous pouvez également consulter le site Internet de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- Les échantillons, avant et après la fixation, ainsi que tous les matériaux exposés à ces échantillons, doivent être traités comme s'ils étaient susceptibles de transmettre une infection et éliminés avec les précautions qui s'imposent². Ne jamais pipeter les réactifs à la bouche et éviter le contact de la peau et des membranes muqueuses avec les réactifs ou les échantillons. Rincer avec de grandes quantités d'eau en cas de contact des réactifs ou des spécimens avec des zones sensibles. Demander conseil à un médecin.

- Consulter les réglementations nationales, régionales ou locales relatives à l'élimination des composants potentiellement toxiques.
- Minimiser la contamination microbienne des réactifs, faute de quoi un accroissement du marquage non spécifique est susceptible de se produire.
- La récupération ou des durées ou températures d'incubation autres que celles précisées peuvent donner des résultats erronés. Toute modification de ces paramètres doit être validée par l'utilisateur.

Mode d'emploi

L'anticorps primaire p16 (6H12) a été développé pour être utilisé sur le système automatisé BOND (dont les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III) en combinaison avec le BOND Polymer Refine Detection. Le protocole de marquage recommandé pour l'anticorps primaire p16 (6H12) est IHC Protocol F. La récupération d'épitopes induite par la chaleur est recommandée avec BOND Epitope Retrieval Solution 2 durant 20 minutes.

Résultats attendus

Tissus normaux

Le clone 6H12 détecte la protéine p16 dont l'expression est caractéristique de certaines cellules au sein de tissus spécifiques. La coloration est nucléaire, mais on observe une coloration cytoplasmique dans la plupart des types cellulaires qui expriment la p16. Une immunoréactivité a été observée dans les cellules réticulées de l'épithélium de la crypte et les cellules dendritiques folliculaires des amygdales, les cellules des îlots de Langerhans du pancréas, les cellules de Leydig des testicules et dans certaines cellules épithéliales glandulaires de l'endomètre. Une faible coloration a été occasionnellement observée dans les glandes antrales de l'estomac, dans l'épithélium glandulaire et le myo-épithélium du sein, et dans les glandes surrénales. On a également observé une coloration des macrophages et de certains fibroblastes. Aucune autre coloration n'a été observée dans divers autres tissus normaux évalués (Nombre total de cas normaux = 149).

Tissus tumoraux

Le clone 6H12 a coloré 30/42 cancers du col de l'utérus (dont 25/31 carcinomes épidermoïdes du col de l'utérus, 2/4 adénocarcinomes du col de l'utérus, 2/2 adénocarcinomes endométrioïdes, 1/2 adénocarcinomes endocervicaux, 0/2 adénocarcinomes de type intestinal et 0/1 carcinome papillaire grave), 21/39 carcinomes épidermoïdes de l'oropharynx, 3/6 tumeurs du sein (dont 2/4 carcinomes canauxaires invasifs et 1/2 fibroadénomes), 2/10 tumeurs intestinales (dont 2/4 adénocarcinomes du colon, 0/3 adénocarcinomes du rectum, 0/2 adénomes de l'intestin et 0/1 adénocarcinome de l'intestin grêle), 2/5 carcinomes hépatocellulaires, 2/5 tumeurs de la tête et du cou (dont 1/1 adénocarcinome de la cavité buccale, 1/1 adénome pléomorphe des glandes salivaires, 0/1 carcinome adénoïde kystique, 0/1 carcinome épidermoïde de la langue et 0/1 carcinome du nasopharynx), 2/4 tumeurs du cerveau (dont 1/3 méningiomes et 1/1 astrocytome), 2/4 adénocarcinomes gastriques, 2/4 tumeurs pulmonaires (dont 1/1 adénocarcinome, 1/1 carcinome à petites cellules et 0/2 carcinomes épidermoïdes), 2/3 adénocarcinomes de la prostate, 2/2 adénocarcinomes de l'endomètre, 1/5 tumeurs de la thyroïde (dont 1/1 carcinome folliculaire, 0/1 adénocarcinome papillaire folliculaire et 0/3 adénomes), 1/5 tumeurs métastatiques, 1/4 carcinomes épidermoïdes de l'oesophage, 1/4 tumeurs ovariennes (dont 1/2 adénocarcinomes endométrioïdes, 0/1 tumeur à cellules granuleuses et 0/1 adénocarcinome), 1/2 tumeurs osseuses (dont 1/1 chondrosarcome et 0/1 ostéosarcome), et 1/1 adénocarcinome du pancréas. Aucune coloration n'a été détectée dans des lymphomes (0/3), des tumeurs de la vessie (0/3), des tumeurs rénales (0/3), des tumeurs de la peau (0/3), des tumeurs des surrénales (0/2), des séminomes (0/2) et une hyperplasie de la prostate (0/1). (Nombre total de cas anormaux évalués = 162).

Le p16-6H12 est recommandé pour la détection de la protéine p16 dans les tissus normaux et néoplasiques, en complément à l'histopathologie traditionnelle utilisant des marqueurs histochimiques non immunologiques.

Limites spécifiques au produit

p16 (6H12) a été optimisé chez Leica Biosystems pour une utilisation avec BOND Polymer Refine Detection et les réactifs auxiliaires BOND. Les utilisateurs qui s'écartent des procédures de test recommandées doivent accepter la responsabilité de l'interprétation des résultats de patient dans ces circonstances. La durée du protocole peuvent varier en raison de différences dans la fixation de tissu et de l'efficacité de l'amplification de l'antigène, et doivent être déterminées de manière empirique. Des réactifs de contrôle négatifs doivent être utilisés lors de l'optimisation des conditions de récupération et de la durée du protocole.

Dépannage

Consultez la référence 3 pour les mesures correctives.

Contactez le distributeur local ou le bureau régional de Leica Biosystems pour signaler une coloration inhabituelle.

Autres informations

De plus amples informations concernant l'immunomarquage avec les réactifs BOND, sous les rubriques Principes des modalités opératoires, Matériel nécessaire, Préparation de l'échantillon, Contrôle de qualité, Vérification de l'analyse, Interprétation de la coloration, Légendes des symboles sur les étiquettes et Limites générales, se trouvent dans « Utilisation des réactifs BOND » dans la documentation utilisateur 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 M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Date de publication

02 juillet 2019

Anticorpo primario BOND™ pronto per l'uso p16 (6H12)

N. di catalogo: PA0016

Uso previsto

Questo reagente è per uso diagnostico *in vitro*.

L'anticorpo monoclonale p16 (6H12) è stato pensato per l'identificazione qualitativa al microscopio ottico della proteina umana p16 in tessuti fissati in formalina, inclusi in paraffina e sottoposti a colorazione immunohistochimica con il sistema automatizzato BOND (include i sistemi Leica BOND-MAX e Leica BOND-III).

L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione o della sua assenza deve essere completata da studi morfologici usando controlli appropriati e va valutata nel contesto della storia clinica del paziente e di qualsiasi altro test diagnostico da parte di un patologo qualificato.

Sommario e spiegazione

Grazie alle tecniche di immunohistochimica è possibile dimostrare la presenza di antigeni nel tessuto e nelle cellule (vedere "Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente di BOND). L'anticorpo primario p16 (6H12) è un prodotto pronto per l'uso che è stato ottimizzato in modo specifico per l'impiego con il BOND Polymer Refine Detection. La dimostrazione della proteina p16 umana si ottiene in primo luogo consentendo il legame di p16 (6H12) alla sezione, quindi visualizzando tale legame per mezzo dei reagenti forniti nel sistema di rilevazione. L'uso di questi prodotti, in combinazione con il Sistema automatizzato BOND (che include i sistemi Leica BOND-MAX e Leica BOND-III), riduce la possibilità di errore umano e variabilità inerente dovuti alla singola diluizione del reagente, al pipettamento manuale e all'applicazione del reagente.

Reagenti forniti

p16 (6H12) è un anticorpo monoclonale murino anti-umano prodotto come surnatante di coltura tissutale e fornito in soluzione salina tamponata Tris con proteina carrier, contenente lo 0,35% di ProClin™ 950 come conservante.

Volume totale = 7 ml.

Clone

6H12

Immunogeno

Proteina ricombinante procarciotica di fusione corrispondente all'intera molecola p16 umana.

Specificità

Proteina umana p16.

Classe Ig

IgG2b

Concentrazione proteica totale

Circa 10 mg/ml.

Concentrazione anticorpale

Superiore o uguale a 5 mg/l, come determinato mediante test ELISA.

Diluizione e miscelazione

L'anticorpo primario p16 (6H12) è diluito in modo ottimale per essere usato con il sistema BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III). Questo reagente non necessita di ricostituzione, miscelazione, diluizione né titolazione.

Materiali necessari ma non forniti

Fare riferimento a "Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente di BOND per l'elenco completo dei materiali necessari per il trattamento e la colorazione immunohistochimica dei campioni con un sistema BOND (che include i sistemi Leica BOND-MAX e Leica BOND-III).

Conservazione e stabilità

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

I segni di contaminazione e/o instabilità di p16 (6H12) sono: torbidità della soluzione, sviluppo di odori e presenza di precipitato.

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

Condizioni di conservazione diverse da quelle specificate sopra devono essere verificate dall'utilizzatore¹.

Precauzioni

- Il presente prodotto è destinato all'uso diagnostico *in vitro*.
- La concentrazione di ProClin™ 950 è pari allo 0,35%. Contiene il principio attivo 2-metil-4-isotiazolin-3-one, e può causare irritazione alla pelle, agli occhi, alle mucose e al tratto respiratorio superiore. Indossare guanti coibentati quando si maneggiano i reagenti.
- Per ottenere una copia della Scheda di sicurezza sui materiali, rivolgersi al distributore di zona o all'ufficio regionale di Leica Biosystems. In alternativa, visitare il sito Web di Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- I campioni, pre e post fissazione, e tutti i materiali ad essi esposti, vanno maneggiati come oggetti potenzialmente in grado di trasmettere infezioni e smaltiti con precauzione². Non pipettare mai i reagenti con la bocca ed evitare che i reagenti o i campioni vengano a contatto con la pelle o le mucose. Se i reagenti o i campioni biologici vengono a contatto con aree sensibili del corpo, lavare le parti interessate con abbondanti quantità d'acqua. Consultare un medico.

- Per lo smaltimento di eventuali componenti potenzialmente tossici consultare i regolamenti nazionali, regionali o locali.
- Ridurre al minimo la contaminazione microbica dei reagenti, allo scopo di evitare un aumento di colorazione aspecifica.
- Tempi di recupero o incubazione o temperature diversi da quelli specificati possono generare risultati erronei. Qualsiasi cambiamento del genere deve essere convalidato dall'utilizzatore.

Istruzioni per l'uso

L'anticorpo primario p16 (6H12) è stato sviluppato per l'uso nel sistema automatizzato BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III) in combinazione con il BOND Polymer Refine Detection. Il protocollo di colorazione consigliato per l'anticorpo primario p16 (6H12) è l'IHC Protocol F. Per lo smascheramento termoindotto dell'epitopo si consiglia l'uso della BOND Epitope Retrieval Solution 2 per 20 minuti.

Risultati attesi

Tessuti normali

Il clone 6H12 rileva la proteina p16 espressa in un modello altamente limitato in determinate cellule all'interno di tessuti specifici. Il modello di colorazione è nucleare, sebbene la colorazione citoplasmatica sia osservata nella maggior parte dei tipi di cellule che esprimono p16. È stata osservata immunoreattività nell'epitelio reticolare delle cripte e nelle cellule dendritiche follicolari delle tonsille, nelle isole di Langerhans del pancreas, nelle cellule di Leydig dei testicoli, nelle cellule sparse uroteliali e occasionalmente nelle cellule epiteliali ghiandolari dell'endometrio. È stata occasionalmente osservata colorazione debole nelle ghiandole antrali dello stomaco, nell'epitelio ghiandolare e nel miopitelio del seno e nel surrene. È stata inoltre osservata colorazione dei macrofagi e di alcuni fibroblasti. Nessuna ulteriore colorazione è stata riscontrata in una serie di altri tessuti normali esaminati (Numero totale di casi normali = 149).

Tessuti neoplastici

Il clone 6H12 ha colorato 30 di 42 cancro cervicali (compresi 25 di 31 carcinomi a cellule squamose della cervice, 2 di 4 adenocarcinomi della cervice, 2 di 2 adenocarcinomi endometrioidi, 1 di 2 adenocarcinomi endocervicali, 0 di 2 adenocarcinomi di tipo intestinale e 0 di 1 carcinoma sieroso papillare), 21 di 39 carcinomi orofaringei a cellule squamose, 3 di 6 tumori del seno (compresi 2 di 4 carcinomi duttali invasivi e 1 di 2 fibroadenomi), 2 di 10 tumori dell'intestino (compresi 2 di 4 adenocarcinomi del colon, 0 di 3 adenocarcinomi del retto, 0 di 2 adenomi dell'intestino e 0 di 1 adenocarcinoma dell'intestino tenue), 2 di 5 carcinomi epatocellulari, 2 di 5 tumori della testa e del collo (compresi 1 di 1 adenocarcinoma della cavità orale, 1 di 1 adenoma pleomorfo delle ghiandole salivari, 0 di 1 carcinoma adenoidistico, 0 di 1 carcinoma a cellule squamose della lingua e 0 di 1 carcinoma nasofaringeo), 2 di 4 tumori del cervello (compresi 1 di 3 meningiomi e 1 di 1 astrocitoma), 2 di 4 adenocarcinomi dello stomaco, 2 di 4 tumori del polmone (compresi 1 di 1 adenocarcinoma, 1 di 1 carcinoma a piccole cellule e 0 di 2 carcinomi a cellule squamose), 2 di 3 adenocarcinomi della prostata, 2 di 2 adenocarcinomi dell'endometrio, 1 di 5 tumori della tiroide (compresi 1 di 1 carcinoma follicolare, 0 di 1 adenocarcinoma papillare follicolare e 0 di 3 adenomi), 1 di 5 tumori metastatici, 1 di 4 carcinomi a cellule squamose dell'esofago, 1 di 4 tumori dell'ovaio (compresi 1 di 2 adenocarcinomi endometrioidi, 0 di 1 tumore a cellule della granulosa e 0 di 1 adenocarcinoma), 1 di 2 tumori alle ossa (compresi 1 di 1 condrosarcoma e 0 di 1 osteosarcoma) e 1 di 1 adenocarcinoma del pancreas. Nessuna colorazione è stata rilevata nei linfomi (0 di 3), nei tumori della vescica (0 di 3), nei tumori renali (0 di 3), nei tumori della pelle (0 di 3), nei tumori del surrene (0 di 2), nei seminomi (0 di 2) e in una iperplasia prostatica (0 di 1). (Numero totale di casi anormali esaminati = 162).

L'uso di p16 (6H12) è consigliato per il rilevamento della proteina p16 in tessuti normali e neoplastici, in aggiunta all'istopatologia convenzionale che si avvale di colorazioni istochimiche non immunologiche.

Limitazioni specifiche per il prodotto

Il p16 (6H12) è stato ottimizzato da Leica Biosystems per l'uso con il BOND Polymer Refine Detection e con i reagenti ausiliari BOND. Gli utenti che modificano le procedure raccomandate devono assumersi la responsabilità dell'interpretazione dei risultati relativi ai pazienti in tali circostanze. I tempi previsti dal protocollo possono variare in base alle differenze di fissazione tissutale e all'efficienza di potenziamento dell'antigene e, pertanto, devono essere definiti empiricamente. Durante l'ottimizzazione delle condizioni di riconoscimento e dei tempi del protocollo occorre utilizzare controlli negativi del reagente.

Ricerca e risoluzione problemi

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

Se si notano colorazioni inusuali, informarne il distributore di zona o l'ufficio regionale Leica Biosystems.

Ulteriori informazioni

Ulteriori informazioni sull'immunocolorazione con i reagenti BOND, sotto le intestazioni Principio della procedura, Materiali necessari, Preparazione del campione, Controllo qualità, Verifica del saggio, Interpretazione della colorazione, Legenda dei simboli sulle etichette e Limitazioni generali, possono essere reperite in "Usi dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utilizzatore 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. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Data di pubblicazione

02 luglio 2019

Gebrauchsfertiger BOND™ Primärantikörper p16 (6H12)

Artikel-Nr.: PA0016

Verwendungszweck

Dieses Reagenz ist zur *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.

Der monoklonale Antikörper p16 (6H12) wurde für die lichtmikroskopische qualitative Bestimmung von humanem p16-Protein 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 Interpretation jeglicher Färbungen oder das Ausbleiben dieser sollte durch morphologische Studien und Anwendung geeigneter Kontrollen ergänzt und unter Berücksichtigung der Krankengeschichte des Patienten sowie im Rahmen anderer diagnostischer Tests durch einen qualifizierten Pathologen bewertet 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 p16 (6H12) ist ein gebrauchsfertiges Produkt, das speziell für den Gebrauch mit BOND Polymer Refine Detection optimiert wurde. Der Nachweis von humanem p16-Protein erfolgt durch Bindung von p16 (6H12) 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 Gefahr vom Menschen verursachter Fehler und einer inhärenten Variabilität aufgrund einer individuellen Reagenzienverdünnung, einer manuellen Pipettierung und einer Reagenzienanwendung.

Mitgelieferte Reagenzien

p16 (6H12) ist ein aus Zellkulturüberstand hergestellter, monoklonaler Maus-anti-Human-Antikörper, der in Tris-gepufferter Salzlösung mit einem Trägerprotein geliefert wird und 0,35 % ProCin™ 950 als Konservierungsmittel enthält.

Gesamtvolumen = 7 ml.

Klon

6H12

Immunogen

Prokaryotisches rekombinantes Fusionsprotein, das dem gesamten humanen p16-Molekül entspricht.

Spezifität

Humanes p16-Protein.

Ig-Klasse

IgG2b

Gesamtproteinkonzentration

Ungefähr 10 mg/ml.

Antikörperkonzentration

Größer als oder gleich 5 mg/l gemäß ELISA-Bestimmung.

Verdünnen und mischen

Der Primärantikörper p16 (6H12) 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). Ein Rekonstituieren, Mischen, Verdünnen oder Titrieren dieses Reagenzes ist nicht erforderlich.

Erforderliche, jedoch nicht mitgelieferte Materialien

Bitte entnehmen Sie die vollständige Liste der für die Probenvorbereitung und die immunhistochemische Färbung mithilfe eines BOND-Systems (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) benötigten Materialien dem Kapitel „Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien“ in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch.

Lagerung und Stabilität

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

Zeichen, die auf eine Kontamination und/oder Instabilität von p16 (6H12) hinweisen, sind eine Trübung der Lösung, Geruchsentwicklung und das Vorhandensein von Präzipitat.

Nach dem Gebrauch sofort wieder bei 2–8 °C lagern.

Lagerbedingungen, die von den oben genannten Bedingungen abweichen, müssen vom Benutzer verifiziert werden¹.

Vorsichtsmaßnahmen

- Dieses Produkt ist zur *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
- Die Konzentration von ProCin™ 950 liegt bei 0,35 %. Das Produkt enthält den Wirkstoff 2-Methyl-4-isothiazolin-3-on und kann zur Reizung von Haut, Augen, Schleimhäuten und den oberen Atemwegen führen. Beim Umgang mit Reagenzien Einmalhandschuhe tragen.
- Ein Exemplar des Material-Sicherheitsdatenblatts erhalten Sie von Ihrem lokalen Vertriebspartner oder der regionalen Niederlassung von Leica Biosystems. Sie können auch die Website von Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com, besuchen.

- Proben vor und nach der Fixierung und alle mit ihnen in Kontakt kommenden Materialien sind wie infektiöses Material zu behandeln und mit den entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen² zu entsorgen. Reagenzien dürfen niemals mit dem Mund pipettiert werden. Der Kontakt von Haut und Schleimhäuten mit Reagenzien oder Proben muss vermieden werden. Falls Reagenzien oder Proben mit empfindlichen Bereichen in Kontakt gekommen sind, müssen diese mit reichlich Wasser gespült werden. Ärztlichen Rat einholen.
- Hinsichtlich der Entsorgung potenziell giftiger Komponenten muss auf die jeweils geltenden Bestimmungen Bezug genommen werden.
- Die mikrobielle Verunreinigung von Reagenzien ist zu minimieren, da ansonsten eine erhöhte unspezifische Färbung auftreten kann.
- Eine von den angegebenen Spezifikationen abweichende Maskierung, Inkubationszeit oder Temperatur kann zu fehlerhaften Resultaten führen. Alle derartigen Änderungen müssen vom Anwender validiert werden.

Gebrauchsanweisung

Der Primärintkörper p16 (6H12) 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 entwickelt. Das empfohlene Färbeverfahren für den Primärintkörper p16 (6H12) ist das IHC Protocol F. Die hitzeinduzierte Epitopdemaskierung wird unter Verwendung der BOND Epitope Retrieval Solution 2 für 20 Minuten empfohlen.

Erwartete Ergebnisse

Normalgewebe

Der Klon 6H12 erkennt das p16-Protein, das in einem stark eingeschränkten Muster in bestimmten Zellen in spezifischen Geweben exprimiert wird. Das Färbemuster ist nuklear, aber bei den meisten Zelltypen, die p16 exprimieren, ist eine zytoplasmatische Färbung zu beobachten. Bei reitkulierten Kryptenepithel- und follikulären dendritischen Zellen der Mandeln, Inselzellen der Pankreas, Leydig-Zellen der Hoden, verstreuten Urothelzellen und in einigen Drüsenepithelzellen im Endometrium war eine Immunreaktivität zu beobachten. In einigen Fällen trat bei den Antraldrüsen des Magens, Drüsen- und Myo-Epithelien der Brust und in der Nebenniere eine leichte Färbung auf. Es konnte auch eine Färbung von Makrophagen und einigen Fibroblasten beobachtet werden. Bei verschiedenen anderen normalen Geweben war keine zusätzliche Färbung zu beobachten (Gesamtanzahl der normalen Fälle = 149).

Tumorgewebe

Klon 6H12 färbte 30/42 Gebärmutterhalskrebs (einschließlich 25/31 Plattenepithelkarzinome der Zervix, 2/4 Adenokarzinome der Zervix, 2/2 endometrioiden Adenokarzinome, 1/2 endozervikale Adenokarzinome, 0/2 Adnokarzinome vom intestinalen Typ und 0/1 seröses papilläres Karzinom), 21/39 oropharyngealen Plattenepithelkarzinomen, 3/6 Brusttumore (einschließlich 2/4 invasiven Duktalkarzinomen und 1/2 Fibroadenomen), 2/10 Darmtumore (einschließlich 2/4 Adenokarzinomen des Dickdarms, 0/3 Adenokarzinomen des Rektums, 0/2 Darmadenome und 0/1 Adenokarzinome des Dünndarms), 2/5 hepatozelluläre Karzinome, 2/5 Kopf- und Halstumore (einschließlich 1/1 Adenokarzinom der Mundhöhle, 1/1 pleomorphes Adenom der Speicheldrüse, 0/1 adenoid-zystisches Karzinom, 0/1 Plattenepithelkarzinom der Zunge und 0/1 nasopharyngeales Karzinom), 2/4 Hirntumore (einschließlich 1/3 Meningeomen und 1/1 Astrozytom), 2/4 Adenokarzinome des Magens, 2/4 Lungentumore (einschließlich 1/1 Adenokarzinom, 1/1 kleinzelliges Karzinom und 0/2 Plattenepithelkarzinome), 2/3 Adenokarzinome der Prostata, 2/2 Adenokarzinome des Endometrium, 1/5 Schilddrüsentumore (einschließlich 1/1 follikuläres Karzinom, 0/1 follikuläres papilläres Adenokarzinom und 0/3 Adenome), 1/5 metastasierende Tumore, 1/4 Plattenepithelkarzinome der Speiseröhre, 1/4 Eierstocktumore (einschließlich 1/2 endometrioiden Karzinome, 0/1 Granulosazelluläres und 0/1 Adenokarzinom), 1/2 Knochentumore (einschließlich 1/1 Chondrosarkom und 0/1 Osteosarkom) und 1/1 Adenokarzinom der Pankreas. Es gab keine Färbung bei Lymphomen (0/3), Blasen Tumoren (0/3), Nierentumoren (0/3), Hauttumoren (0/3), Nebennierenrindentumoren (0/2), Seminomen (0/2) und einer Prostatahyperplasie (0/1). (Anzahl der insgesamt untersuchten abnormalen Fälle = 162.)

p16 (6H12) wird für den Nachweis von p16-Protein in normalem und neoplastischem Gewebe als zusätzliches Hilfsmittel zur herkömmlichen Histopathologie unter Verwendung nicht-immunologischer histochemischer Färbemittel empfohlen.

Produktspezifische Beschrankungen

p16 (6H12) wurde von Leica Biosystems zur Verwendung mit dem BOND Polymer Refine Detection und BOND-Zusatzreagenzien optimiert. Anwender, die von den empfohlenen Testverfahren abweichen, müssen die Verantwortung für eine Auswertung der Patientenergebnisse unter diesen Umständen übernehmen. Die Protokollzeit kann aufgrund von Unterschieden in der Gewebefixierung und der Wirksamkeit der Antigenverstärkung variieren und muss empirisch bestimmt werden. Zur Optimierung der Demaskierungsbedingungen und der Protokolllaufzeiten sollten Negativkontrollreagenzien verwendet werden.

Fehlersuche und -behebung

Fehlerbehebungsmaßnahmen finden Sie in Referenz 3.

Falls Sie ungewöhnliche Farbeergebnisse 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.

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 M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Ausgabedatum

02 Juli 2019

Anticuerpo Primario Listo Para Usar BOND™ p16 (6H12)

N.º de catálogo: PA0016

Uso previsto

Este reactivo es para uso diagnóstico *in vitro*.

El anticuerpo monoclonal p16 (6H12) está diseñado para la caracterización cualitativa por microscopia óptica de la proteína p16 humana en tejidos fijados en formol e incluidos en parafina mediante tinción inmunohistoquímica con el sistema automatizado BOND (incluye los sistemas Leica BOND-MAX y Leica BOND-III).

La interpretación clínica de toda tinción o de su ausencia deberá complementarse con estudios morfológicos que utilicen los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado deberá realizar su evaluación dentro del contexto de los antecedentes médicos del paciente y de 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 p16 (6H12) es un producto listo para usar que se ha optimizado específicamente para su uso con BOND Polymer Refine Detection. La demostración de la proteína p16 humana se puede llevar a cabo primero permitiendo la unión de p16 (6H12) a la sección y luego visualizando esta unión usando los reactivos proporcionados en el sistema de detección. El uso de estos productos, en combinación con el sistema automatizado BOND (incluye los sistemas Leica BOND-MAX y Leica BOND-III), reduce la posibilidad de error humano y la variabilidad inherente derivada de la dilución de reactivos, el pipeteado manual y la aplicación de reactivos.

Reactivos suministrados

El p16 (6H12) 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

6H12

Inmunógeno

Proteína de fusión recombinante procarciótica correspondiente a la molécula p16 humana completa.

Especificidad

Proteína p16 humana.

Clase Ig

IgG2b

Concentración total de proteína

Aprox. 10 mg/ml.

Concentración de anticuerpo

Igual o superior a 5 mg/L, según lo determinado por ELISA.

Dilución y mezcla

El anticuerpo primario p16 (6H12) se diluye óptimamente para usarse en el sistema BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III). Este reactivo no requiere reconstitución, mezcla, dilución ni titulación.

Materiales necesarios pero no suministrados

Consulte "Uso de reactivos BOND" en su documentación del usuario del sistema BOND para ver un listado completo con los materiales necesarios para el tratamiento de las muestras y la tinción inmunohistoquímica mediante un sistema BOND (incluye los sistemas Leica BOND-MAX y Leica BOND-III).

Almacenamiento y estabilidad

Almacenar a 2-8 °C. No utilizar después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del recipiente.

Los signos de contaminación y/o inestabilidad de la p16 (6H12) son: turbidez de la solución, aparición de olor y presencia de precipitado.

Devuélvalo a 2-8 °C inmediatamente después de su uso.

Las condiciones de almacenamiento distintas a las especificadas anteriormente deberán ser verificadas por el usuario¹.

Precauciones

- Este producto está indicado para uso diagnóstico *in vitro*.
- La concentración de ProClin™ 950 es de 0,35 %. Contiene el ingrediente activo 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, y puede provocar irritación en la piel, los ojos, las membranas mucosas y el tracto respiratorio superior. Deberán utilizarse guantes desechables al manipular los reactivos.
- Para obtener un ejemplar de la Ficha de datos de seguridad del material, póngase en contacto con su distribuidor local o con la sucursal regional de Leica Biosystems; también puede visitar el sitio web de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com
- Las muestras, antes y después de ser fijadas, y todos los materiales expuestos a ellas, deben ser tratados como sustancias capaces de transmitir infecciones y deben eliminarse tomando las precauciones adecuadas². Nunca pipete reactivos con la boca; evite el

contacto de la piel y las mucosas con reactivos o muestras. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas delicadas, lávelas con abundante agua. Consulte con un médico.

- Consulte la normativa pertinente sobre la eliminación de componentes potencialmente tóxicos.
- Reduzca al mínimo la contaminación microbiana de los reactivos; de lo contrario, podría producirse un aumento de la tinción no específica.
- La recuperación, los tiempos de incubación y las temperaturas distintos a los especificados pueden dar lugar a resultados erróneos. Cualquiera de estos cambios debe ser validado por el usuario.

Instrucciones de uso

El anticuerpo primario p16 (6H12) se ha desarrollado para usarse en el sistema BOND automatizado (incluye el sistema Leica BONDMAX y el sistema Leica BOND-III) en combinación con la BOND Polymer Refine Detection. El protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo primario p16 (6H12) es IHC Protocol F. Se recomienda la exposición de epítomos inducida por calor usando BOND Epitope Retrieval Solution 2 durante 20 minutos.

Resultados esperados

Tejidos normales

El clon 6H12 detecta la proteína p16 que se expresa en un patrón altamente restringido en ciertas células dentro de unos tejidos específicos. El patrón de tinción es nuclear, pero se observa tinción citoplasmática en la mayoría de tipos de células que expresan p16. Se observó inmunorreactividad en el epitelio de la cripta reticulada y en las células foliculares dendríticas en las amígdalas, células de islote en el páncreas, células Leydig de los testículos, células uroteliales dispersas y en células epiteliales glandulares ocasionales en el endometrio. Se observó tinción débil ocasional en las glándulas antrales del estómago, glandulares y del mioepitelio en la mama y en la glándula suprarrenal. También se observó tinción de los macrófagos y de algunos fibroblastos. No se observó tinción adicional en otros tumores de diversos tejidos normales evaluados (número total de casos normales = 149).

Tejidos tumorales

El clon 6H12 tiñó 30/42 cánceres de cuello uterino (incluidos 25/31 carcinomas de células escamosas del cuello uterino, 2/4 adenocarcinomas del cuello uterino, 2/2 adenocarcinomas endometrioides, 1/2 adenocarcinomas endocervicales, 0/2 adenocarcinomas de tipo intestinal y 0/1 carcinomas papilares serosos), 21/39 carcinomas bucofaríngeos de células escamosas, 3/6 tumores de mama (incluidos 2/4 carcinomas ductales invasivos y 1/2 fibroadenomas), 2/10 tumores intestinales (incluidos 2/4 adenocarcinomas del colon, 0/3 adenocarcinomas del recto, 0/2 adenomas del intestino y 0/1 adenocarcinomas del intestino delgado), 2/5 carcinomas hepatocelulares, 2/5 tumores en cabeza y cuello (incluidos 1/1 adenocarcinoma de la cavidad oral, 1/1 adenoma pleomórfico de la glándula salival, 0/1 carcinoma adenóide cístico, 0/1 carcinoma de células escamosas de la lengua y 0/1 carcinoma nasofaríngeo), 2/4 tumores cerebrales (incluidos 1/3 meningiomas y 1/1 astrocitoma), 2/4 adenocarcinomas del estómago, 2/4 tumores pulmonares (incluidos 1/1 adenocarcinoma, 1/1 carcinoma de célula pequeña y 0/2 carcinoma de células escamosas), 2/3 adenocarcinomas de la próstata, 2/2 adenocarcinomas del endometrio, 1/5 tumores tiroideos (incluidos 1/1 carcinoma folicular, 0/1 adenocarcinoma papilar folicular y 0/3 adenomas), 1/5 tumores metastásicos, 1/4 carcinomas de células escamosas del esófago, 1/4 tumores ováricos (incluidos 1/2 adenocarcinomas endometrioides, 0/1 tumor de células granulosas y 0/1 adenocarcinoma), 1/2 tumores óseos (incluidos 1/1 condrosarcoma y 0/1 osteosarcoma) y 1/1 adenocarcinoma del páncreas. No se detectó tinción en linfomas (0/3), tumores de vejiga (0/3), tumores renales (0/3), cánceres de piel (0/3), tumores suprarrenales (0/2), seminomas (0/2) y una hiperplasia prostática (0/1). (Número total de casos anómalos evaluados = 162).

El p16 (6H12) está recomendado para la detección de la proteína p16 en tejidos normales y neoplásicos, como complemento de la histopatología tradicional con tinciones histoquímicas no inmunológicas.

Limitaciones específicas del producto

El p16 (6H12) se ha optimizado en Leica Biosystems para su uso con BOND Polymer Refine Detection y reactivos auxiliares BOND. Los usuarios que no sigan los procedimientos de prueba recomendados deben aceptar la responsabilidad de la interpretación de los resultados de pacientes en esas circunstancias. Los tiempos del protocolo puede oscilar, debido a la variación en la fijación del tejido y la eficacia de la mejora del antígeno, y deben determinarse empíricamente. Se utilizarán controles de los reactivos negativos a la hora de optimizar las condiciones de la recuperación y los tiempos del protocolo.

Solución de problemas

Consulte la referencia 3 para encontrar la acción correctora.

Póngase en contacto con su distribuidor local o con la sucursal regional de Leica Biosystems para notificar tinciones anormales.

Información adicional

Se puede encontrar información adicional sobre la inmunotinción con los reactivos BOND en los apartados Principio del procedimiento, Materiales necesarios, Preparación de las muestras, Control de calidad, Verificación del ensayo, Interpretación de la tinción, Explicación de los símbolos de las etiquetas y Limitaciones generales en la sección "Uso de los reactivos BOND" de la documentación del usuario del sistema BOND.

Biografía

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. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Fecha de publicación

02 de julio de 2019

Anticorpo Primário Pronto a Usar BOND™

p16 (6H12)

Ref.^o de Catálogo: PA0016

Utilização prevista

Este reagente destina-se à utilização em diagnóstico *in vitro*.

O anticorpo monoclonal p16 (6H12) destina-se a ser utilizado na identificação qualitativa por microscopia ótica da proteína p16 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 e os devidos controlos, avaliando-se no contexto da história clínica do doente e de outros exames de diagnóstico por um anatomopatologista qualificado.

Resumo e explicação

As técnicas de imuno-histoquímica 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 p16 (6H12) consiste num produto pronto usar que foi especificamente otimizado para utilização com BOND Polymer Refine Detection. A demonstração da proteína p16 humana é alcançada ao permitir primeiro a ligação do p16 (6H12) à secção e, em seguida, observar esta ligação usando os reagentes fornecidos no sistema de detecção. A utilização destes produtos, em combinação com o sistema BOND automático (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III), reduz a possibilidade de erro humano e a variabilidade inerente resultante da diluição do reagente individual, da pipetagem manual e da aplicação do reagente.

Reagentes fornecidos

p16 (6H12) é um anticorpo monoclonal anti-humano de rato produzido como sobrenadante de cultura tecidular e fornecido em solução salina com tampão Tris com proteína transportadora, contendo 0,35 % de ProClin™ 950 como conservante.

Volume total = 7 ml

Clone

6H12

Imunogénico

Proteína de fusão recombinante procarionótica correspondente à molécula p16 humana.

Especificidade

Proteína p16 humana.

Classe de Ig

IgG2b

Concentração total de proteína

Aprox. 10 mg/ml.

Concentração de anticorpo

Superior ou igual a 5 mg/l, conforme determinado por ELISA.

Diluição e mistura

O anticorpo primário p16 (6H12) é devidamente diluído para uso no sistema BOND (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III). Não é necessário reconstituir, misturar, diluir ou titular este reagente.

Materiais necessários mas não fornecidos

Consulte "Utilização dos Reagentes BOND" na documentação do utilizador BOND para obter uma lista completa dos materiais necessários para o tratamento das amostras e a coloração imuno-histoquímica utilizando um sistema BOND (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III).

Armazenamento e Estabilidade

Armazenar a 2–8 °C. Não utilizar após a data de validade indicada no rótulo do frasco.

Os sinais indicativos de contaminação e/ou instabilidade do p16 (6H12) são: turvação da solução, desenvolvimento de odores e presença de precipitado.

Voltar a colocar entre 2 °C e 8 °C imediatamente após a utilização.

Outras condições de armazenamento além das especificadas anteriormente têm de ser verificadas pelo utilizador¹.

Precauções

- Este produto destina-se à utilização em diagnóstico *in vitro*.
- A concentração de ProClin™ 950 é 0,35%. Contém o ingrediente ativo 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, e pode causar irritação à pele, olhos, membranas mucosas e trato respiratório superior. Utilizar luvas descartáveis quando manusear o produto.
- Para obter uma cópia da Ficha de Dados de Segurança do Material, contacte o seu distribuidor local, gabinete regional da Leica Biosystems ou, em alternativa, visite o site da Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com/pt/
- As amostras, antes e depois da fixação, bem como todos os materiais a elas expostos, devem ser manuseadas como se fossem capazes de transmitir doenças infecciosas e descartadas com as devidas precauções². Nunca pipete os reagentes com a boca e evite o contacto dos reagentes e das amostras com a pele e as mucosas. Caso os reagentes ou as amostras entrarem em contacto com áreas sensíveis, lave com água abundante. Procure assistência médica.

- Consulte os regulamentos locais, nacionais ou internacionais relativamente à eliminação de eventuais componentes que possam ser tóxicos.
- Minimize a contaminação microbiana dos reagentes, senão poderá ocorrer um aumento da coloração não específica.
- Recuperação, períodos de incubação ou temperaturas diferentes das especificadas podem originar resultados erróneos. Qualquer alteração deve ser validada pelo utilizador.

Instruções de utilização

O anticorpo primário p16 (6H12) 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. O protocolo de coloração indicado para o anticorpo primário p16 (6H12) é o IHC Protocol F. Recomenda-se a recuperação de epitopos induzida por calor utilizando a BOND Epitope Retrieval Solution 2 durante 20 minutos.

Resultados previstos

Tecidos normais

O clone 6H12 deteta a proteína p16 que é expressa num padrão altamente limitado em determinadas células em tecidos específicos. O padrão de coloração é nuclear, mas a coloração citoplásmica é observada na maioria dos tipos de células que expressam p16. Foi observada imunoreatividade no epitélio de cripta reticulada e células dendríticas foliculares nas amígdalas, células ilhotas no pâncreas, células de Leydig dos testículos, células uroteliais dispersas e nas células epiteliais glandulares ocasionais no endométrio. Foi observada uma coloração fraca ocasional nas glândulas anrais do estômago, glandular e mioepitélio na mama e na glândula adrenal. Também foi observada coloração adicional num variedade de outros tecidos normais avaliados (número total de casos normais = 149).

Tecidos tumorais

O clone 6H12 corou 30/42 cânceros cervicais (incluindo 25/31 carcinomas de células escamosas do útero, 2/4 adenocarcinomas do útero, 2/2 adenocarcinomas endometrioides, 1/2 adenocarcinomas endocervicais, 0/2 adenocarcinomas do tipo intestinal e 0/1 carcinomas papilares serosos), 21/39 carcinomas de células escamosas orofaríngeas, 3/6 tumores da mama (incluindo 2/4 carcinomas ductais invasivos e 1/2 fibroadenomas), 2/10 tumores do intestino (incluindo 2/4 adenocarcinomas do cólon, 0/3 adenocarcinomas do reto, 0/2 adenomas do intestino e 0/1 adenocarcinomas do intestino delgado), 2/5 carcinomas hepatocelulares, 2/5 tumores na cabeça e pescoço (incluindo 1/1 adenocarcinoma da cavidade oral, 1/1 adenoma pleomórfico da glândula salivar, 0/1 carcinoma adenoide cístico, 0/1 carcinoma de células escamosas da língua e 0/1 carcinoma nasofaríngeo), 2/4 tumores cerebrais (incluindo 1/3 meningiomas e 1/1 astrocitoma), 2/4 adenocarcinomas do estômago, 2/4 tumores pulmonares (incluindo 1/1 adenocarcinoma, 1/1 carcinoma de pequenas células e 0/2 carcinoma de células escamosas), 2/3 adenocarcinomas da próstata, 2/2 adenocarcinomas do endométrio, 1/5 tumores da tireoide (incluindo 1/1 carcinoma folicular, 0/1 adenocarcinoma papilar folicular e 0/3 adenomas), 1/5 tumores metastáticos, 1/4 carcinomas de células escamosas do esófago, 1/4 tumores dos ovários (incluindo 1/2 adenocarcinomas endometrioides, 0/1 tumor de célula granulosa e 0/1 adenocarcinoma), 1/2 tumores dos ossos (incluindo 1/1 condrossarcoma e 0/1 osteossarcoma) e 1/1 adenocarcinoma do pâncreas. Não foi detetada coloração em linfomas (0/3), tumores da bexiga (0/3), tumores renais (0/3), tumores da pele (0/3), tumores adrenais (0/2), seminomas (0/2) e uma hiperplasia da próstata (0/1). (Número total de casos anormais avaliados = 162).

O p16 (6H12) é recomendado para a deteção da proteína p16 em tecidos normais e neoplásicos, como auxiliar da histopatologia convencional, através da utilização de corantes histoquímicos não imunológicos.

Limitações específicas do produto

O p16 (6H12) foi otimizado na Leica Biosystems para utilização com a BOND Polymer Refine Detection e reagentes auxiliares BOND. Os utilizadores que se desviem dos procedimentos de teste recomendados devem assumir a responsabilidade pela interpretação dos resultados do paciente nestas circunstâncias. O tempo de protocolo poderá variar, devido à variação na fixação de tecido e na eficácia do reforço antigénico, e deve ser determinado empiricamente. Os controlos negativos de reagente deverão ser utilizados durante a otimização das condições de recuperação e dos tempos de protocolo.

Resolução de problemas

Consulte a referência 3 quanto a medidas corretivas.

Contacte o distribuidor local ou o gabinete regional da Leica Biosystems para comunicar colorações anormais.

Mais informação

Pode encontrar mais informação sobre a ISH com reagentes BOND nas secções Princípio do procedimento, Materiais necessários, Preparação da amostra, Controlo de qualidade, Verificação do ensaio, Interpretação da coloração, Significado dos símbolos nos rótulos e Limitações gerais em "Utilização dos Reagentes BOND" na documentação de 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. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Data de Emissão

02 de Julho de 2019

BOND™ Primär antikropp - färdig att användas

p16 (6H12)

Artikelnr.: PA0016

Avsedd användning

Detta reagens är avsett för *in vitro*-diagnostik.

p16 (6H12) monoklonal antikropp är avsedd att användas för kvalitativ identifiering med ljusmikroskopi av humant p16-protein i formalinfixerad, paraffinbäddad vävnad med immunhistokemisk färgning, med hjälp av det automatiserade BOND-systemet (omfattar Leica BOND-MAX-systemet och Leica BOND-III-systemet).

Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro kompletteras av morfologiska studier och korrekta kontroller, samt utvärderas mot bakgrund av patientens kliniska historia och andra diagnostiska tester av en kvalificerad patolog.

Sammanfattning och beskrivning

Immunohistokemiska tekniker kan användas för att påvisa förekomsten av antigener i vävnader och celler (se "Hur man använder BOND-reagenser" i din BOND-användardokumentation). p16 (6H12) primär antikropp är en användningsklar produkt som specifikt har optimerats för användning med Polymer Refine Detection. Påvisande av humant p16-protein uppnås genom att man först möjliggör bindning av p16 (6H12) till snittet och sedan visualiserar denna bindning med hjälp av de reagenser som ingår i detektionssystemet. 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.

Medföljande reagenser

p16 (6H12) är en anti-human monoklonal antikropp från mus framställd som en supernatant från vävnadskultur, och levereras i tris-buffrad koksallösning med bärarprotein, innehållande 0,35 % ProClin™ 950 som konserveringsmedel.

Total volym = 7 ml.

Klon

6H12

Immunogen

Prokaryotiskt, rekombinant fusionsprotein motsvarande hela den humana p16-molekylen.

Specifitet

Humant p16-protein.

Ig-klass

IgG2b

Total proteinkoncentration

Ca. 10 mg/ml.

Antikropps-koncentration

Större än eller lika med 5 mg/l enligt bestämning med ELISA.

Spädning och blandning

p16 (6H12) primär antikropp är optimalt utspädd för användning i BOND-systemet (inkluderar Leica BOND-MAX-systemet och Leica BOND-III-systemet). Denna reagens behöver varken rekonstitueras, blandas, spädas eller titreras.

Material som behövs men inte medföljer

Se "Användning av BOND-reagens" i BOND användardokumentation för en komplett lista över material som krävs för provbehandling och immunhistokemisk färgning med BOND-systemet (som innefattar Leica BOND-MAX- och Leica BOND-III-systemet).

Förvaring och stabilitet

Förvaras vid 2–8 °C. Använd inte efter det utgångsdatum som finns angivet på behållarens etikett.

De tecken som indikerar kontaminering och/eller instabilitet hos p16 (6H12) är: grumling av lösningen, utveckling av oödr och närvaro av fällning.

Återgå till 2–8 °C direkt efter användning.

Förvaringsförhållanden som skiljer sig från de ovannämnda måste kontrolleras av användaren¹.

Försiktighetsåtgärder

- Produkten är avsedd för *in vitro*-diagnostik.
- Koncentrationen av ProClin™ 950 är 0,35 %. Det innehåller den aktiva beståndsdelen 2-metyl-4-isotiazolin-3-on och kan orsaka irritation i huden, ögonen, slemhinnorna och övre luftvägarna. Bär engångshandskar vid hantering av reagens.
- Du kan få en kopia av materialsäkerhetsdatabladet genom att kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor eller också på Leica Biosystems webbplats, www.LeicaBiosystems.com
- Prover, både före och efter fixering, samt all materiel som exponeras för dem, bör behandlas och avfallshanteras som potentiellt smittbärande material². Munpipettera aldrig reagens och undvik att hud eller slemhinnor kommer i kontakt med reagens eller prover. Om reagens eller prover skulle komma i kontakt med känsliga områden bör du tvätta dig med rikliga mängder vatten. Rådgör med läkare.

- Angående avfallshantering av potentiellt toxiska material hänvisar vi till gällande europeiska, nationella och lokala bestämmelser och förordningar.
- Minimera mikrobisk kontaminering av reagens annars kan en ökning av ospecifik färgning ske.
- Återvinning, inkubationstider eller temperaturer som avviker mot dem angivna kan ge felaktiga resultat. All sådan ändring måste bekräftas av användaren.

Bruksanvisning

p16 (6H12) primär antikropp utvecklas för användning i det automatiska BOND-systemet (inkluderar Leica BOND-MAX-systemet och Leica BOND-III -systemet) i kombination med BOND Polymer Refine Detection. Det rekommenderade färgningsprotokollet för p16 (6H12) primär antikropp är IHC Protocol F. Värmeinducerad epitopåtervinning rekommenderas med användning av BOND Epitope Retrieval Solution 2 i 20 minuter.

Förväntade resultat

Normala vävnader

Klon 6H12 detekterar p16-proteinet som uttrycks i ett mycket begränsat mönster i vissa celler inom specifika vävnader. Färgningsmönstret är i kärnan, men cytoplasmisk färgning observeras i de flesta celltyper som uttrycker p16. Immunreaktivitet observerades i retikulerad kryptepitel och follikulära dendritiska celler i tonsill, cellöar i bukspottkörteln, Leydig-celler i testiklarna, utspridda urotelceller och i enstaka glandulära epitelceller i endometriet. Enstaka svag färgning sågs i anelkörtlar i magen, kirtlet och myo-epitel i bröstet och i binjuran. Färgning av makrofager och vissa fibroblaster sågs också. Ingen ytterligare färgning observerades i en mängd andra normala vävnader som utvärderades (Totalt antal normala fall = 149).

Tumörvävnader

Klon 6H12 färgade 30/42 livmoderhalscancer (inklusive 25/31 skvettcellscarcinom i livmoderhalsen, 2/4 adenokarcinom i livmoderhalsen, 2/2 endometriida adenokarcinom, 1/2 endokerviska adenokarcinom, 0/2 intestinaltyp adenokarcinom och 0/1 serösa papillära karcinom), 21/39 oropharyngeal squamouscellkarcinomer, 3/6 brösttumörer (inklusive 2/4 invasiva dukala karcinom och 1/2 fibroadenom), 2/10 tumörer i tarmen (inklusive 2/4 adenokarcinom i tjocktarmen, 0/3 adenokarcinom i rektum, 0/2 adenom i tarmen och 0/1 adenokarcinom i tunntarmen), 2/5 hepatocellulära karcinom, 2/5 huvud och nacktumörer (inklusive 1/1 adenokarcinom i munhålan, 1/1 spytkärns karcinom i spyttkörteln, 0/1 adenoicytisk karcinom, 0/1 skorpialcellkarcinom i tungan och 0/1 nasofaryngealkarcinom), 2/4 hjärntumörer (inklusive 1/3 meningiom och 1/1 astrocytom), 2/4 adenokarcinom i magen, 2/4 lungtumörer (inklusive 1/1 adenokarcinom, 1/1 smallcellkarcinom och 0/2 squamouscellkarcinom), 2/3 adenokarcinom i prostata, 2/2 adenokarcinom i endometriumet, 1/5 sköldkörteltumörer (inklusive 1/1 follikelkarcinom, 0/1 follikelpapillära adenokarcinom och 0 / 3 adenom), 1/5 metastatiska tumörer, 1/4 pladecells karcinomer i matstrupen, 1/4 ovarie tumörer (inklusive 1/2 endometriida adenokarcinom, 0/1 granulosa celltumör och 0/1 adenokarcinom), 1/2 bentumörer (inklusive 1/1 kondrosarkom och 0/1 osteosarkom) och 1/1 adenokarcinom i bukspottkörteln. Ingen färgning detekterades i lymfom (0/3), blåstumörer (0/3), njurtumörer (0/3), hudtumörer (0/3), binjurtumörer (0/2), seminom (0/2) och en prostatahyperplasi (0/1). (Totalt antal utvärderade onormala fall = 162).

p16-6H12 rekommenderas för detektering av humant p16-protein i normala eller neoplastiska vävnader, som tillägg till konventionell histopatologi med användande av icke-immunologiska histokemiska fläckar.

Produktspecifika begränsningar

p16 (6H12) har optimerats hos Leica Microsystems för användning med BOND Polymer Refine Detection samt BOND-hjälpreagenser. Användare som avviker från rekommenderade testprocedurer måste ta ansvar för tolkningen av patientens resultat under sådana omständigheter. Protokolltiderna kan variera beroende på variation i vävnadsfixering och effektiviteten av antigenförstärkning och måste bestämmas empiriskt. Negativa reagenskontroller bör användas vid optimering av hämtningsförhållanden och protokolltider.

Felsökning

Se referens 3 för korrigerande 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, Nödvändiga material, Förbereda provet, Kvalitetskontroll, Verifiering av analyser, Tolka infärgningsresultat, Symbolförklaring för etiketter och Allmänna begränsningar i "Använda BOND-reagens" i din BOND användardokumentation.

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. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Utgivningsdatum

02 juli 2019

Έτοιμο για Χρήση Πρωτογενές Αντίσωμα BOND™

p16 (6H12)

Αρ. καταλόγου: PA0016

Χρήση για την οποία προορίζεται

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

Το μονοκλωνικό αντίσωμα p16 (6H12) προορίζεται για την ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός του ανθρώπινης πρωτεΐνης p16 σε μονιμοποιημένο σε φορμόλη και ενσωματωμένο σε παραφίνη ιστό 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 απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται από μορφολογικές μελέτες και κατάλληλους μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολογοανατόμο.

Σύνοψη και εξήγηση

Οι ανοσοϊστοχημικές τεχνικές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να επιδειχθεί η παρουσία αντιγόνων στον ιστό και στα κύτταρα (βλ. «Χρήση Αντιδραστηρίων BOND» στην τεκμηρίωση χρήστη για το BOND σας). Το πρωτεΐον αντίσωμα p16 (6H12) είναι ένα προϊόν έτοιμο για χρήση που έχει βελτιστοποιηθεί συγκεκριμένα για χρήση με το σύστημα ανίχνευσης BOND Polymer Refine Detection. Η κατάδειξη του p16 επιτυγχάνεται πρώτα, επιτρέποντας τη δέσμευση του p16 (6H12) στην τομή και, κατόπιν, απεικονίζοντας τη δέσμευση αυτή 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 την πιθανότητα του ανθρώπινου σφάλματος και την εγγενή ποικιλιότητα που προκαλείται από αραίωση συγκεκριμένου αντιδραστηρίου, χειροκίνητη αναρόφηση με πιπέτα και εφαρμογή αντιδραστηρίου.

Παρεχόμενα αντιδραστήρια

Το p16 (6H12) 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

6H12

Ανοσογόνο

Προκαρμωτική ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη σύντηξης που αντιστοιχεί σε ολόκληρο το ανθρώπινο μόριο p16.

Ειδικότητα

Ανθρώπινη πρωτεΐνη p16.

Τάξη Ig

IgG2b

Ολική συγκέντρωση πρωτεΐνης

Περίπου 10 mg/mL.

Συγκέντρωση αντισώματος

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

Αραίωση και ανάμιξη

Το πρωτογενές αντίσωμα p16 (6H12) 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 τιτλοποίηση αυτού του αντιδραστηρίου.

Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Ανατρέξτε στην ενότητα «Χρήση αντιδραστηρίων BOND» στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης του BOND για μια πλήρη λίστα των υλικών που απαιτούνται για την κατεργασία δειγμάτων και την ανοσοϊστοχημική χρώση με τη χρήση του συστήματος BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III).

Φύλαξη και σταθερότητα

Φυλάσσεται στους 2-8°C. Μην χρησιμοποιείτε μετά την ημερομηνία λήξης που υποδεικνύεται στην ετικέτα του περιέκτη.

Οι ενδείξεις που υποδηλώνουν μόλυνση ή/και αστάθεια του p16 (6H12) είναι: θολερότητα του διαλύματος, ανάπτυξη οσμής και παρουσία ιζήματος.

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

Τυχόν συνθήκες φύλαξης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται παραπάνω πρέπει να επαληθεύονται από τον χρήστη¹.

Προφυλάξεις

- Αυτό το προϊόν προορίζεται για διαγνωστική χρήση *in vitro*.
- Η συγκέντρωση του ProClin™ 950 είναι 0,35 %. Περιέχει το δραστικό συστατικό 2-μεθυλ-4-ισοθιαζολίν-3-όνη και ενδέχεται να προκαλέσει ερεθισμό του δέρματος, των οφθαλμών, των βλεννογόνων και της ανώτερης αναπνευστικής οδού. Φοράτε γάντια μιας χρήσης κατά τον χειρισμό των αντιδραστηρίων.
- Για να πάρετε αντίγραφο του Δελτίου Δεδομένων Ασφαλείας Υλικού, επικοινωνήστε με τον τοπικό σας διανομέα ή το τοπικό γραφείο της Leica Biosystems, ή εναλλακτικά, επισκεφθείτε τον ιστότοπο της Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

- Τα δείγματα, πριν και μετά τη μονιμοποίηση, και όλα τα υλικά που εκτίθενται σε αυτά, θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως ικανά μετέδοσης λοίμωξης και θα πρέπει να απορρίπτονται λαμβάνοντας κατάλληλες προφυλάξεις². Μην κάνετε ποτέ αναρρόφηση αντιδραστήριων με πιπέτα με το στόμα και αποφύγετε 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 άφθονες ποσότητες νερού. Ζητήστε τη συμβουλή ιατρού.
- Συμβουλευτείτε τους ομοσπονδιακούς, πολιτειακούς ή τοπικούς κανονισμούς για την απόρριψη οποιονδήποτε δυνητικώς τοξικών συστατικών.
- Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστήριων, διότι ενδέχεται να συμβεί αύξηση μη ειδικής χρώσης.
- Ανάκτηση, χρόνοι ή θερμοκρασίες επώασης διαφορετικές από αυτές που καθορίζονται ενδέχεται να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Όποιαδήποτε παρόμοια αλλαγή πρέπει να επικυρωθεί από τον χρήστη.

Οδηγίες χρήσης

Το πρωτογενές αντίσωμα r16 (6H12) 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. Το συστημάμενο πρωτόκολλο χρώσης για το πρωτογενές αντίσωμα r16 (6H12) είναι το IHC Protocol F. Συνιστάται ανάκτηση επιπόπου επαγόμενη με θερμότητα χρησιμοποιώντας το BOND Epitope Retrieval Solution 2 για 20 λεπτά.

Αναμενόμενα αποτελέσματα

Φυσιολογικοί ιστοί

Ο κλώνος 6H12 ανιχνεύει την πρωτεΐνη r16 που εκφράζεται με έναν εξαιρετικά περιορισμένο μοτίβο σε ορισμένα κύτταρα εντός συγκεκριμένων ιστών. Το μοτίβο χρώσης είναι πυρηνικό, αλλά η κυτταροπλασματική χρώση παρατηρείται στους περισσότερους τύπους κυττάρων που εκφράζουν το r16. Παρατηρήθηκε ανοσοαντιδραστικότητα σε δικτυωμένο κρυπτικό επιθήλιο και σε θυλακοειδή δενδριτικά κύτταρα στις αμυγδαλές, στα νησίδια κύτταρα στο πάγκρεας, τα κύτταρα Leydig των όρχεων, διασκορπισμένα επιθηλιακά κύτταρα και σε περιστασιακά αδενώδη επιθηλιακά κύτταρα στο ενδομήτριο. Παρατηρήθηκε περιστασιακή ασθενής χρώση σε κοιλιακούς αδένες του στομάχου, αδενώδη και μωσειθηλιακά στον μαστό, και στο επινεφρίδιο. Παρατηρήθηκε επίσης χρώση των μακροφάγων και ορισμένων νοβλαστών. Δεν παρατηρήθηκε επιπλέον χρώση σε μία ποικιλία άλλων φυσιολογικών ιστών που αξιολογήθηκαν (Συνολικός αριθμός φυσιολογικών περιστατικών = 149).

Όγκοι ιστών

Ο κλώνος 6H12 παρουσίασε χρώση για 30/42 καρκίνους του τραχήλου (μεταξύ άλλων 25/31 ακανθοκυτταρικά καρκινώματα του τραχήλου της μήτρας, 2/4 αδενοκαρκινώματα του τραχήλου της μήτρας, 2/2 ενδομητριοειδή αδενοκαρκινώματα, 1/2 ενδοτραχηλικά αδενοκαρκινώματα, 0/2 αδενοκαρκινώματα εντερικού τύπου και 0/1 ορώδη θηλώδη καρκινώματα), 21/39 στοματοφαρυγγικά ακανθοκυτταρικά καρκινώματα, 3/6 όγκους του μαστού (μεταξύ άλλων 2/4 πορογενή διηθητικά καρκινώματα), 1/2 ιναδενώματα), 2/10 όγκους του εντέρου (μεταξύ άλλων 2/4 αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου, 0/3 αδενοκαρκινώματα του ορθού, 0/2 αδενώματα του εντέρου και 0/1 αδενοκαρκινώματα του λεπτού εντέρου), 2/5 ηπατοκυτταρικά καρκινώματα, 2/5 όγκους της κεφαλής και του τραχήλου (μεταξύ άλλων 1/1 αδενοκαρκίνωμα της στοματικής κοιλότητας, 1/1 πλειομορφικό αδένωμα του σιελογόνου αδένου, 0/1 αδενοειδές κυστικό καρκίνωμα, 0/1 ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα της γλώσσας και 0/1 ρινοφαρυγγικό καρκίνωμα), 2/4 όγκους εγκεφάλου (μεταξύ άλλων 1/3 μηνιγγιώματα και 1/1 αστροκύττωμα), 2/4 αδενοκαρκινώματα του στομάχου, 2/4 όγκους πνεύμονα (μεταξύ άλλων 1/1 αδενοκαρκίνωμα, 1/1 μικροκυτταρικό καρκίνωμα και 0/2 ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα), 2/3 αδενοκαρκινώματα του προστάτη, 2/2 αδενοκαρκινώματα του ενδομητρίου, 1/5 όγκους του θυρεοειδούς (μεταξύ άλλων 1/1 θυλακοειδές καρκίνωμα, 0/1 θυλακοειδή θηλώδη αδενοκαρκίνωμα και 0/3 αδενώματα), 1/5 μεταστατικών όγκους, 1/4 ακανθοκυτταρικά καρκινώματα του οισοφάγου, 1/4 όγκους των ωοθηκών (μεταξύ άλλων 1/2 ενδομητριοειδή αδενοκαρκινώματα, 0/1 καρκίνος των κυττάρων της κοκκώδους στρωμάδας και 0/1 αδενοκαρκίνωμα), 1/2 όγκους των οστών (μεταξύ άλλων 1/1 χονδροσάρκωμα και 0/1 οστεοσάρκωμα) και 1/1 αδενοκαρκίνωμα του παγκρέατος. Δεν ανιχνεύθηκε χρώση σε λεμφώματα (0/3), όγκους ουροδόχου κύστεως (0/3), νεφρικούς όγκους (0/3), δερματικούς όγκους (0/3), επινεφριδιακούς όγκους (0/2), σεμινώματα (0/2) και υπερπλασία του προστάτη (0/1). (Συνολικός αριθμός μη φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 162).

Το r16-6H12 συνιστάται για την ανίχνευση της ανθρωπίνης πρωτεΐνης r16 σε φυσιολογικούς και νεοπλασματικούς ιστούς, ως συμπλήρωμα της συμβατικής ιστοπαθολογίας χρησιμοποιώντας μη ανοσολογικές ιστοχημικές χρωστικές.

Περιορισμοί που αφορούν ειδικά το προϊόν

Το r16 (6H12) έχει βελτιστοποιηθεί στην Leica Biosystems για χρήση με το BOND Polymer Refine Detection και τα βοηθητικά αντιδραστήρια BOND. Οι χρήστες που παρεκκλίνουν από τις προτεινόμενες διαδικασίες εξέτασης πρέπει να αναλάβουν την ευθύνη για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων των ασθενών υπό αυτές τις συνθήκες. Οι χρόνοι του πρωτοκόλλου μπορεί να διαφέρουν λόγω της διαφοροποίησης στη μονιμοποίηση του ιστού και την αποτελεσματικότητα της ενίσχυσης του αντιγόνου και συνεπώς πρέπει να προσδιορίζονται εμπειρικά. Για τη βελτιστοποίηση των συνθηκών ανάκτησης και των χρόνων του πρωτοκόλλου θα πρέπει να χρησιμοποιούνται αντιδραστήρια ως αρνητικοί μάρτυρες.

Αντιμετώπιση προβλημάτων

Ανατρέξτε στην παραπομπή 3 για διορθωτικές ενέργειες.

Επικοινωνήστε με τον τοπικό διανομέα ή το τοπικό γραφείο της Leica Biosystems για να αναφέρετε ασυνήθιστη χρώση.

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», «Επιλήθευση προσδιορισμού», «Ερμηνεία της χρώσης», «Υπόμνημα για τα σύμβολα στις ετικέτες» και «Γενικοί περιορισμοί» στην ενότητα «Χρήση αντιδραστήριων 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. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Ημερομηνία έκδοσης

02 Ιουλίου 2019

BOND™ Brugsklart primært antistof

p16 (6H12)

Katalog nr.: PA0016

Tiltænkt brug

Denne reagens er beregnet til *in vitro*-diagnostik.

p16 (6H12)-monoklonalt antistof er beregnet til kvalitativ identifikation ved hjælp af lysmikroskopi af humant p16-protein i formalinfixeret, paraffinindlejret væv ved immunohistokemisk farvning ved brug af det automatiske BOND-system (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Den kliniske tolkning af farvning eller fravær deraf skal komplementeres af morfologiske undersøgelser og passende kontroller og skal bedømmes inden for konteksten af patientens kliniske anamnese og andre diagnostiske test foretaget af en kvalificeret patolog.

Oversigt og forklaring

Immunohistokemiske teknikker kan anvendes til at påvise tilstedeværelse af antigener i væv og celler (se "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugerdokumentationen). p16 (6H12) primært antistof er et brugsklart produkt, som er blevet optimeret specielt til brug sammen med BOND Polymer Refine Detection. Påvisningen af humant p16-protein sker ved først at tillade, at p16 (6H12) bindes til snittet, og derefter visualisere denne binding ved hjælp af de reagenser, der følger med detektionssystemet. Anvendelse af disse produkter sammen med det automatiske BOND-system (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) nedsætter muligheden for menneskelige fejl og iboende variabilitet som følge af individuel fortynding af reagenser, manuel pipettering og tilsætning af reagenser.

Leverede reagenser

p16 (6H12) 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.

Total volumen = 7 ml.

Klon

6H12

Immunogen

Prokaryot, rekombinant fusionsprotein svarende til den humane melan p16-molekyle.

Specifitet

Humant p16-protein.

Ig-klasse

IgG2b

Total proteinkoncentration

Cirka 10 mg/ml.

Antistofkoncentration

Større end eller lig med 5 mg/l, som fastslået af ELISA.

Fortynding og blanding

p16 (6H12) primært antistof er fortyndet optimalt med henblik på brug i BOND-systemet (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet). Genopløsning, blanding, fortynding eller titrering af dette reagens er ikke nødvendig.

Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt

Se "Using BOND Reagents" (Anvendelse af BOND-reagenser) i BOND-brugerdokumentationen vedrørende en komplet liste over de materialer, der skal anvendes til prøvebehandling og immunohistokemisk farvning ved brug af et BOND-system (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Opbevaring og stabilitet

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

Tegn, der tyder på kontamination og/eller ustabilitet af p16 (6H12) er: turbiditet af opløsningen, lugtudvikling og tilstedeværelse af præcipitat.

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

Andre opbevaringsforhold end dem, der er specificeret herover, skal verificeres af brugeren¹.

Forholdsregler

- Dette produkt er beregnet til *in vitro*-diagnostik.
- Koncentrationen af ProClin™ 950 er 0,35 %. Det indeholder den aktive ingrediens 2-metyl-4-isotiazolin-3-on og kan forårsage irritation på hud, øjne, slimhinder og øvre luftveje. Brug engangshandsker ved håndtering af reagenser.
- Hvis du ønsker et eksemplar af sikkerhedsdatabladet, kan du kontakte din lokale forhandler eller regionskontoret til Leica Biosystems, eller du kan besøge Leica Biosystems' hjemmeside på www.LeicaBiosystems.com
- Prøver, før og efter fiksering, og alle materialer som udsættes for dem, skal behandles som om de kan overføre smitte og afskaffes i henhold til de korrekte forholdsregler². Foretag aldrig pipettering med munden, og undgå kontakt med følsomme områder og slimhinder med reagenser eller prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal der skylles med rigelige mængder vand. Søg lægehjælp.

- Bortskaffelse af potentielt toksiske komponenter skal ske i henhold til statslig eller lokal lovgivning.
- Mikrobiel kontamination af reagenser skal minimeres for at undgå en øget ikke-specifik farvning.
- Genfindning, inkubationstider eller temperaturer, der afviger fra de specificerede, kan give fejlagtige resultater. En eventuel sådan ændring skal valideres af brugeren.

Brugsanvisning

p16 (6H12) 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. Den anbefalede farvningsprotokol for p16 (6H12) primært antistof er IHC Protocol F. Varmeinduceret epitopgenfindning anbefales ved hjælp af BOND Epitope Retrieval Solution 2 i 20 minutter.

Forventede resultater

Normalt væv

Klon 6H12 detekterer p16-proteinet, der udtrykkes i et stærkt begrænset mønster i visse celler inden for specifikke væv. Farvningsmønstrer er nukleært, men cytoplasmisk farvning observeres i de fleste celletyper der udtrykker p16. Immunreaktivitet blev observeret i retikuleret kryptepitel og follikulære dendritiske celler i mandlerne, øreceller i bugspytkirtlen, Leydig-celler i testiklerne, spredte uroteleceller og lejlighedsvis i glandulære epithelceller i endometrium. Lejlighedsvis svag farvning blev observeret i ankelkirtler i maven, glandulær og myo-epithelium i brystet og i binyrerne. Farvning af makrofager og nogle fibroblaster blev også observeret. Ingen farvning blev observeret i en række andre normale væv (samlet antal normale tilfælde = 149).

Tumovæv

Klon 6H12 farvede 30/42 tilfælde af livmoderhalskræft (herunder 25/31 pladecellekarcinomer i livmoderhalsen, 2/4 adenocarcinomer i livmoderhalsen, 2/2 endometriide adenocarcinomer, 1/2 endocervikale adenocarcinomer, 0/2 intestinale adenocarcinomer og 0/1 serøse papillære karcinomer), 21/39 pladecellekarcinomer i svælget, 3/6 brysttumorer (herunder 2/4 invasive duktae karcinomer og 1/2 fibroadenomer), 2/10 tumorer i tarmen (inklusive 2/4 adenocarcinomer i tyktarmen, 0/3 adenocarcinomer i endetarmen, 0/2 adenomer af tarmen og 0/1 adenocarcinomer i tyndtarmen), 2/5 hepatocellulære karcinomer, 2/5 hoved- og halstumorer (herunder 1/1 adenocarcinom i mundhulen, 1/1 pleomorphisk adenom i spytkirtlen, 0/1 adenoid cystisk carcinom, 0/1 pladepitelcellekarcinom og 0/1 nasopharyngeal carcinoma), 2/4 hjernetumorer (herunder 1/3 meningiomer og 1/1 astrocytomer), 2/4 adenocarcinomer i maven, 2/4 lungetumorer (inklusive 1/1 adenocarcinom, 1/1 småcellet carcinom og 0/2 pladecellekarcinom), 2/3 adenocarcinomer af prostata, 2/2 adenocarcinomer af endometrium, 1/5 thyroid-tumorer (inklusive 1/1 follikelcarcinom, 0/1 follikelpapillær adenocarcinom og 0/3 adenomer), 1/5 metastatiske tumorer, 1/4 pladeceller esofagus karcinomer, 1/4 ovarietumorer (herunder 1/2 endometriide adenocarcinomer, 0/1 granulosa celletumor og 0/1 adenocarcinom), 1/2 knogle tumorer (inklusive 1/1 chondrosarcoma og 0/1 osteosarcoma) og 1/1 adenocarcinom i bugspytkirtlen. Ingen farvning blev detekteret i lymfomer (0/3), blæretumorer (0/3), nyretumorer (0/3), hudtumorer (0/3), binyretumorer (0/2), seminomer (0/2) og en prostatisk hyperplasi (0/1). (Samlet antal evaluerede, abnorme tilfælde = 162).

p16 (6H12) anbefales til påvisning af humant p16-protein i normale og neoplastiske væv, som et hjælpemiddel til traditionel histopatologi ved brug af ikke-immunologiske histokemiske farvninger.

Produktspecifikke begrænsninger

p16 (6H12) er blevet optimeret hos Leica Biosystems til brug sammen med BOND Polymer Refine Detection og BOND-hjælpereagenser. Brugere, som afviger fra anbefalede testprocedurer, må selv tage ansvaret for tolkningen af patientresultater under disse betingelser. Protokolliderne kan variere pga. variationer i vævsfiksering og effektiviteten af antigenforstærkning og skal bestemmes empirisk. Der skal anvendes negative reagenskontroller ved optimering af genfindingsforhold og protokollider.

Fejlfinding

Se reference 3 for afhjælpende foranstaltninger.

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

Yderligere oplysninger

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

Litteraturliste

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. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Udgivelsesdato

02 juli 2019

BOND™ gebruiksklaar primair antilichaam

p16 (6H12)

Catalogusnr.: PA0016

Beoogd gebruik

Dit reagens is voor gebruik bij diagnose *in vitro*.

p16 (6H12) monoklonaal antilichaam is bedoeld om te worden gebruikt voor de kwalitatieve identificatie, met behulp van lichtmicroscopie, van humaan p16-eiwit 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 een kleuring of de afwezigheid hiervan moet worden aangevuld met morfologische studies en de juiste controles. Ook moeten er evaluaties worden uitgevoerd binnen de context van de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests uitgevoerd door een bevoegd patholoog.

Samenvatting en toelichting

Immunohistochemische technieken kunnen worden gebruikt om de aanwezigheid van antigenen in weefsel en cellen aan te tonen (zie "Using BOND Reagents" (BOND-reagentia gebruiken) in de gebruikersdocumentatie van BOND). p16 (6H12) primair antilichaam is een gebruiksklaar product dat speciaal voor gebruik met BOND Polymer Refine Detection is geoptimaliseerd. Humaan P16-eiwit wordt aangevoerd door eerst p16 (6H12) aan de coupe te laten binden en daarna die binding te visualiseren met behulp van de reagentia die in het detectiesysteem worden geleverd. Het gebruik van deze producten in combinatie met het geautomatiseerde BOND-systeem (inclusief het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem) verkleint de kans op menselijke fouten en de daaraan inherente variabiliteit als gevolg van het afzonderlijk verdunnen van reagentia, het handmatig pipetteren en het handmatig toevoegen van reagentia.

Geleverde reagentia

p16 (6H12) is een antihumaan monoklonaal muizenantilichaam dat wordt geproduceerd als supernatant van weefselweek en wordt geleverd in tris-gebufferde zoutoplossing met dragereiwit, met als conserveringsmiddel 0,35% ProClin™ 950.

Totaal volume = 7 ml.

Kloon

6H12

Immunogeen

Prokaryotisch recombinant fusie-eiwit, overeenkomend met het hele humane p16-molecuul.

Specificiteit

Humaan p16-eiwit.

Ig-klasse

IgG2b

Totale eiwitconcentratie

Ongeveer 10 mg/ml.

Antilichaamconcentratie

Groter dan of gelijk aan 5 mg/l zoals bepaald door ELISA.

Verdunnen en mengen

p16 (6H12) 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, verdunning of titratie van dit reagens is niet nodig.

Benodigde, maar niet meegeleverde materialen

Raadpleeg "Using BOND Reagents" (BOND-reagentia gebruiken) in de gebruikersdocumentatie van BOND voor een volledige lijst van de materialen die nodig zijn voor monsterbehandeling en immunohistochemische kleuring met het BOND-systeem (inclusief het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem).

Opslag en stabiliteit

Bewaren bij 2-8°C. Niet gebruiken na de vervaldatum die op het label van de container staat.

Tekenen van contaminatie en/of instabiliteit van p16 (6H12) zijn: troebelheid van de oplossing, geurontwikkeling en aanwezigheid van precipitaat.

Plaats het product direct na gebruik weer terug bij een temperatuur van 2-8 °C.

Andere dan de hierboven genoemde opslagcondities moeten door de gebruiker worden geverifieerd¹.

Voorzorgsmaatregelen

- Dit product is bedoeld voor gebruik bij in-vitrodiagnostiek.
- De concentratie ProClin™ 950 is 0,35 %. Het bevat het werkzame bestanddeel 2-methyl-4-isothiazolin-3-one en kan irritatie van de huid, ogen, slijmvliezen en bovenste luchtwegen veroorzaken. Draag wegwerphandschoenen bij het hanteren van reagentia.
- Een kopie van het veiligheidsinformatieblad kunt u verkrijgen bij uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems of via de website van Leica Biosystems op www.LeicaBiosystems.com
- Specimens, vóór en na fixatie, en alle materiaal dat hieraan is blootgesteld, moeten worden behandeld als potentiële overdragers van infecties en volgens de juiste voorzorgsmaatregelen worden verwerkt². Pipetteer reagentia nooit met de mond en vermijd contact van

de huid en slijmvliezen met reagentia of monsters. Indien reagentia of monsters in aanraking komen met gevoelige gebieden, moet u deze wassen met een overvloedige hoeveelheid water. Raadpleeg een arts.

- Raadpleeg de nationale, regionale en plaatselijke voorschriften voor de afvoer van alle potentieel giftige stoffen.
- Minimaliseer de kans op microbiële contaminatie van reagentia omdat hierdoor de niet-specifieke kleuring kan toenemen.
- Andere hersteltijden, incubatietijden of temperaturen dan vermeld, kunnen onjuiste resultaten opleveren. Dergelijke wijzigingen moeten door de gebruiker worden gevalideerd.

Gebruiksaanwijzing

p16 (6H12) 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 BOND Polymer Refine Detection. Het aanbevolen kleuringsprotocol voor p16 (6H12) primair antilichaam is IHC Protocol F. Warmte-geïnduceerd epitooferstel wordt aanbevolen met gebruik van BOND Epitope Retrieval Solution 2 gedurende 20 minuten.

Verwachte resultaten

Normale weefsels

Met kloon 6H12 wordt het p16-eiwit gedetecteerd dat tot expressie komt in een zeer beperkt patroon in bepaalde cellen in specifieke weefsels. Het kloonpatroon is kernkleuring, maar cytoplasmatische kleuring wordt waargenomen in de meeste celltypen waarin p16 tot expressie komt. Er werd immunoreactiviteit waargenomen in gereticuleerd crypteepitheel en folliculaire dendritische cellen in de tonsil, cellen van de eilandjes van Langerhans in de pancreas, Leydig-cellen in de testis, verspreide urotheliale cellen en in occasionele glandulaire epitheelcellen in het endometrium. Occasionele zwakke kleuring werd aangetroffen in de antrale klieren van de maag, glandulair en myo-epitheel in de borst en in de bijniertumor. Er werd ook kleuring van macrofagen en sommige fibroblasten aangetroffen. Er werd geen extra kleuring waargenomen in verscheidene andere normale beoordeelde weefsels. (Totaal aantal normale gevallen = 149).

Tumorweefsels

Kloon 6H12 kleurde 30/42 cervixtumoren (waaronder 25/31 plaveiselcelcarcinomen van de cervix, 2/4 adenocarcinomen van de cervix, 2/2 endometrium-adenocarcinomen, 1/2 endocervicale adenocarcinomen, 0/2 adenocarcinomen van het darmtype en 0/1 sereuze papillaire carcinomen), 21/39 orofaryngeale plaveiselcelcarcinomen, 3/6 borsttumoren (waaronder 2/4 invasieve ductale carcinomen en 1/2 fibroadenomen), 2/10 darmtumoren (waaronder 2/4 adenocarcinomen van het colon, 0/3 adenocarcinomen van het rectum, 0/2 adenomen van de darm en 0/1 adenocarcinomen van de dunne darm), 2/5 hepatocellulaire carcinomen, 2/5 hoofd- en nekturen (waaronder 1/1 adenocarcinoom van de mondholte, 1/1 pleomorfe adenoom van de speekselklier, 0/1 adenoïde cystisch carcinoom, 0/1 plaveiselcelcarcinoom van de tong en 0/1 nasofaryngeaal carcinoom), 2/4 hersentumoren (waaronder 1/3 meningiomen en 1/1 astrocytome), 2/4 adenocarcinomen van de maag, 2/4 longtumoren (waaronder 1/1 adenocarcinoom, 1/1 kleincellig carcinoom en 0/2 plaveiselcelcarcinoom), 2/3 adenocarcinomen van de prostaat, 2/2 adenocarcinomen van het endometrium, 1/5 schildkliertumoren (waaronder 1/1 folliculair carcinoom, 0/1 folliculair papillair adenocarcinoom en 0/3 adenomen), 1/5 gemetastaseerde tumoren, 1/4 plaveiselcelcarcinomen van de slokdarm, 1/4 ovariumtumoren (waaronder 1/2 endometrioid-adenocarcinomen, 0/1 granulosaactinomyoma en 0/1 adenocarcinoom), 1/2 bottumoren (waaronder 1/1 chondrosarcoom en 0/1 osteosarcoom) en 1/1 adenocarcinoom van de pancreas. Er werd geen kleuring gedetecteerd in lymfomen (0/3), blaastumoren (0/3), niertumoren (0/3), huidtumoren (0/3), bijniertumoren (0/2), seminomen (0/2) en een prostaathyperplasie (0/1). (Totaal aantal afwijkende gevallen dat werd geëvalueerd = 162.)

p16 (6H12) wordt aanbevolen voor het detecteren van p16-eiwit in normaal en neoplastische weefsels, als aanvulling op conventionele histopathologie waarbij niet-immunologische histochemische kleuringen worden gebruikt.

Productspecifieke beperkingen

p16 (6H12) is door Leica Biosystems geoptimaliseerd voor gebruik met BOND Polymer Refine Detection en BOND-hulpreegentia. Gebruikers die afwijken van de aanbevolen testprocedures moeten de verantwoordelijkheid aanvaarden voor de interpretatie van patiëntresultaten verkregen onder deze omstandigheden. Protocoltijden kunnen variëren door variatie in weefselfixatie en de effectiviteit van antigeenversterking, en moeten empirisch worden bepaald. Bij het optimaliseren van de herstelcondities en de protocoltijden moeten negatieve reagenscontroles worden gebruikt.

Probleemoplossing

Raadpleeg referentie 3 voor herstelacties.

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

Overige informatie

Meer informatie over immunokleuring met BOND-reagentia vindt u onder de titels Principe van de procedure, Benodigde materialen, Monsterpreparatie, Kwaliteitscontrole, Verificatie van de testen, Interpretatie van de kleuring, Verklaring van symbolen op etiketten en Algemene beperkingen in "Using BOND Reagents" (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 JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Datum uitgave

02 juli 2019

BOND™ Primært antistoff klart til bruk

p16 (6H12)

Katalognr.: PA0016

Tiltenkt bruk

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

p16 (6H12) monoklonalt antistoff skal brukes til kvalitativ identifisering med lysmikroskopering av humant p16-protein i formalinfiksert, parafinnstøpt vev med immunhistokjemisk farging ved bruk av det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Den kliniske tolkningen av enhver farging eller fravær av farging skal understøttes av morfologiske studier og gode kontroller og skal evalueres i sammenheng med pasientens sykehistorie og andre diagnostiske tester av en kvalifisert patolog.

Sammendrag 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 p16 (6H12) er et produkt som er klart for bruk og spesielt optimalisert for bruk sammen med BOND Polymer Refine Detection. Påvisningen av det humane p16-proteinet oppnås ved først å la p16 (6H12) binde seg til snittet, for deretter å visualisere bindingsprosessen ved hjelp av reagensene som brukes i deteksjonssystemet. Ved å bruke disse produktene i kombinasjon med det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) reduseres muligheten for menneskelig feil og iboende variabilitet som følge av individuell reagensfortynning, manuell pipettering og reagenspåføring.

Medfølgende reagenser

p16 (6H12) er et antihumant monoklonalt antistoff fra mus som er produsert som vevskultur supernatant, og leveres i tris-bufret saltvann med bærepotein med 0,35 % ProClin™ 950 som konserveringsmiddel.

Totalvolum = 7 ml.

Klon

6H12

Immunogen

Prokaryotisk rekombinant protein tilsvarende det hele humant p16-molekylet.

Spesifisitet

Humant p16-protein.

Ig-klasse

IgG2b

Total proteinkonsentrasjon

Ca. 10 mg/ml.

Antistoffkonsentrasjon

Større enn eller lik 5 mg/l som fastslått av ELISA.

Fortynning og blanding

Det primære antistoffet p16 (6H12) er optimalt fortynnet for bruk med BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet). Rekonstitusjon, blanding, fortynning eller titrering av denne reagensen er ikke nødvendig.

Nødvendige materialer som ikke følger med

Se "Bruk av BOND-reagenser" i BOND-brukerdokumentasjonen for å finne en fullstendig liste over materialer som trengs for behandling av prøvemateriale og immunhistokjemisk farging ved bruk av et BOND-system (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 beholderens etikett.

Tegnene som indikerer kontaminering og/eller ustabilitet i p16 (6H12), er: turbiditet av løsningen, luktutvikling og tilstedeværelse av bunnfall.

Returner til 2–8 °C umiddelbart etter bruk.

Andre oppbevaringsforhold enn de som er angitt ovenfor må verifiseres av brukeren¹.

Forholdsregler

- Dette produktet er beregnet for *in vitro*-diagnostisk bruk.
- Konsentrasjonen av ProClin™ 950 er 0,35 %. Det inneholder den aktive ingrediensen 2-metyl-4-isotiazolin-3-on, og kan forårsake irritasjon på hud, øyne, slimhinner og øvre luftveier. Bruk engangshansker ved håndtering av reagenser.
- Hvis du ønsker et eksemplar av sikkerhetsdatabladet, kan du kontakte din lokale forhandler eller regionkontoret til Leica Biosystems, eller du kan besøke Leica Biosystems nettsted på www.LeicaBiosystems.com
- Prøvematerialer, tør og etter fiksering, og alle materialer som er utsatt for dem, skal behandles som om de kan overføre smitte og avhendes med riktige forholdsregler². Reagenser skal aldri pipetteres med munnen, og unngå at reagenser eller prøvematerialer kommer i kontakt med hud eller slimhinner. Hvis reagenser eller prøvematerialer kommer i kontakt med følsomme områder, skyll med rikelige mengder vann. Kontakt lege.

- Se lokale, regionale eller statlige forskrifter for avfallshåndtering av eventuelle potensielle giftkomponenter.
- Minimer mikrobiell kontaminering av reagenser, ellers kan det forekomme en økning i uspesifikk farging.
- Demaskering, inkuberingsstider eller temperaturer annet enn det som er angitt, kan gi unøyaktige resultater. Enhver slik endring må valideres av brukeren.

Bruksanvisning

p16 (6H12) primært antistoff er optimalt utviklet til bruk på BOND-systemet (inkluderer Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) i kombinasjon med BOND Polymer Refine Detection. Anbefalt fargingsprotokoll for p16 (6H12) primært antistoff er IHC Protocol F. Det anbefales varmeindusert epitop demaskering ved bruk av BOND Epitope Retrieval Solution 2 i 20 minutter.

Forventede resultater

Normale vev

Klon 6H12 detekterer p16-proteinet som uttrykkes i et svært begrenset mønster i visse celler i spesifikke vev. Fargemønsteret er kjernefysisk, men cytoplasmisk farging observeres i de fleste celletyper som uttrykker p16. Immunoreaktivitet ble observert i retikulært kryptepitel og follikulære dendritiske celler i mandel, øyeceller i bukspyttkjertelen, Leydigceller i testisklene, spredte urotelceller og sporadiske glandulære epitelceller i endometrium. Sporadisk svak farging ble sett i antralkjertler i mage, glandular og myo-epitel i brystet og i binyrene. Farge i makrofager og noen fibroblaster ble også sett. Ingen ytterligere farging ble observert i en rekke andre normale vurderte vev (totalt antall normale tilfeller = 149).

Tumorvev

Klon 6H12-farget 30/42 livmorhalskreft (inkludert 25/31 plateepitelkarsinomer i livmorhalsen, 2/4 adenokarsinomer i livmorhalsen, 2/2 endometriale adenokarsinomer, 1/2 endokervikal adenokarsinom, 0/2 intestinal type adenokarsinomer og 0/1 serøs papillær karsinomer), 21/39 orofaryngeal plateepitelkarsinom, 3/6 brysttumorer (inkludert 2/4 invasive duktales karsinomer og 1/2 fibroadenomas), 2/10 tumorer i tarmen (inkludert 2/4 adenokarsinomer i tykktarmen, 0/3 adenokarsinomer i endetarmen, 0/2 adenomer i tarmen og 0/1 adenokarsinomer i tynntarmen), 2/5 hepatocellulære karsinomer, 2/5 hode og hals-tumorer (inkludert 1/1 adenokarsinom i munnhulen, 1/1 Pleomorft adenom i spyttkjertelen, 0/1 adenoid cystisk karsinom, 0/1 squamous cellekarsinom i tunge og 0/1 nasopharyngeal carcinoma), 2/4 hjernesvulster (inkludert 1/3 meningiomer og 1/1 astrocytom), 2/4 adenokarsinomer i magen, 2/4 lungetumorer (inkludert 1/1 adenokarsinom, 1/1 småcellet karsinom og 0/2 plateepitelkarsinomer), 2/3 adenokarsinomer i prostata, 2/2 adenokarsinomer i endometrium, 1/5 skjoldbrusktumorer (inkludert 1/1 follikulær karsinom, 0/1 follikel papillær adenokarsinom og 0 / 3 adenomer), 1/5 metastaserende svulster, 1/4 squamous cellkarsinomer i spiserøret, 1/4 ovarie tumorer (inkludert 1/2 endometrioid adenokarsinomer, 0/1 granulosa celletumor og 0/1 adenokarsinom), 1/2 bensvulster (inkludert 1/1 kondrosarkom og 0/1 osteosarkom) og 1/1 adenokarsinom i bukspyttkjertelen. Ingen farging ble oppdaget i lymfomer (0/3), blæretumorer (0/3), nyretumorer (0/3), hudtumorer (0/3), binyretumorer (0/2), seminomer (0/2) og en prostatahyperplasi (0/1). (Totalt antall unormale tilfeller evaluert = 162).

p16 (6H12) anbefales for deteksjon av p16-protein i normale og neoplastiske vev, som tillegg til konvensjonell histopatologi med bruk av ikke-immunologiske histokjemiske farger.

Produktspesifikke begrensninger

p16 (6H12) har blitt optimalisert hos Leica Biosystems til bruk med BOND Polymer Refine Detection og BOND-hjelpereagenser. Brukere som avviker fra de anbefalte testprosedyrene, må ta ansvaret for tolkningen av pasientresultatene under disse forholdene. Protokolltidene kan variere pga. variasjon i vevsfiksering og effektiviteten til antigenforsterkningen, og må fastslås empirisk. Det skal brukes negative reagenskontroll når demaskeringsforhold og protokolltid optimeres.

Feilsøking

Se referanse 3 for utbedringstiltak.

Kontakt din lokale forhandler eller regionale kontor for Leica Biosystems for rapportering av uvanlig misfarging.

Mer informasjon

Mer informasjon om immunfarging med BOND-reagenser, under overskriftene Prinsipp for prosedyrene, Nødvendige materialer, Forberedelse av prøvematerialer, Kvalitetskontroll, Analyseverifisering, Tolkning av farging, Symbolforklaring på etiketter og Generelle begrensninger, finner du under "Bruk av BOND-reagenser" i BOND-brukerdokumentasjonen.

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 JG and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Utstedelsesdato

02 juli 2019

BOND™ Kullanıma Hazır Primer Antikor

p16 (6H12)

Katalog No: PA0016

Kullanım Amacı

Bu reaktif, *in vitro* diagnostik kullanım içindir.

p16 (6H12) monoklonal antikorunun formalinle fikse edilmiş, parafin bloklarda saklanmış dokuda insan p16 proteininin otomatik BOND sistemi (Leica BOND-MAX sistemini ve Leica BOND-III sistemini içerir) kullanılarak immünohistokimyasal boyama yoluyla, ışık mikroskopisinde nitel belirlenmesi için kullanılması amaçlanmıştır.

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

Özet ve Açıklama

Dokular ve hücrelerde antijenlerin varlığını göstermek için immünohistokimyasal teknikler kullanılabilir (BOND kullanıcı dokümantasyonunuzdaki "BOND Reagent'larının Kullanılması" bölümüne bakınız). von Willebrand Factor (6H12) primer antikor özellikle BOND Polymer Refine Detection ile kullanılmak üzere optimize edilmiş, kullanıma hazır bir üründür. İnsan p16 proteininin gösterimi, öncelikle p16'nın (6H12) kesite bağlanmasıyla sağlanması ve ardından tespit sisteminde verilen reaktifler kullanılarak bu bağlanmanın görüntülenmesiyle elde edilir. Bu ürünlerin otomatik BOND sistemi (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemi) ile birlikte kullanılması bağımsız reaktif seyreltme, manüel pipetleme ve reaktif uygulama işlemlerinde meydana gelebilecek insan hataları ve değişken sonuçlar olasılığını düşürür.

Sağlanan Reaktifler

p16 (6H12), bir doku kültürü süpematantı olarak üretilen ve koruyucu madde olarak %0,35 ProClin™ 950 içeren, bir taşıyıcı proteinle Tris tamponlu salinde sağlanan bir fare anti-insan monoklonal antikorudur

Toplam hacim = 7 mL.

Clone

6H12

İmmünojen

İnsan A molekülüne karşılık gelen prokaryotik rekombinant füzyon proteini.

Özgüllük

İnsan p16 proteini.

Ig Sınıfı

IgG2b

Toplam Protein Konsantrasyonu

Yaklaşık 10 mg/mL.

Antikor Konsantrasyonu

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

Seyreltme ve Karıştırma

p16 (6H12) primer antikorunu BOND sisteminde (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemini içeren) kullanılmak üzere optimum olarak seyreltilmiştir. Bu reaktif için sulandırma, karıştırma, seyreltme veya titrasyon gerekli değildir.

Gereken Ancak Sağlanmayan Materyaller

BOND sistemi (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemi dahil) kullanılarak numune hazırlama ve immünohistokimyasal boyama için gerekli malzemelerin tam listesi için, BOND kullanıcı kılavuzlarındaki "BOND Reaktiflerinin Kullanımı" bölümüne bakın.

Saklama ve Stabilite

2-8°C'de saklayın. Kaptaki etikette belirtilen son kullanma tarihi geçtiyse kullanmayın.

p16'da (6H12) kontaminasyona ve/veya instabiliteye işaret eden belirtiler şunlardır: Çözeltilde bulanıklık, koku gelişimi ve presipitat oluşumu.

Kullandıktan hemen sonra 2-8°C'ye geri alın.

Yukarıda belirtilenlerin dışındaki saklama koşulları kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır¹.

Önlemler

- Bu ürün, *in vitro* diagnostik kullanım içindir.
- ProClin™ 950 konsantrasyonu %0.35'tir. Etken madde olarak 2-metil-4-izotiazolin-3-one içerir ve cilt, gözler, mukoz ve üst solunum yollarında tahrişe neden olabilir. Reaktifleri kullanırken tek kullanımlık eldiven takın.
- Malzeme Güvenlik Bilgileri Formunun bir kopyası için yerel distribütörünüzle veya Leica Biosystems bölgesel ofisiyle iletişime geçin ya da bunun yerine Leica Biosystems'in Web sitesini ziyaret edebilirsiniz: www.LeicaBiosystems.com
- Fiksasyondan önce ve sonra numuneler ve bunlara maruz kalan tüm malzemeler enfeksiyon bulaştırabilen maddeler olarak ele alınmalı ve uygun önlemler alınarak imha edilmelidir². Reaktifleri hiçbir zaman ağız yoluyla pipetlemeyin ve reaktifler veya numunelerle ten temasından ve mukoz temasından kaçının. Reaktifler veya numuneler hassas bölgelere temas ederse bol miktarda suyla yıkayın. Tıbbi yardım isteyin.

- Potansiyel olarak toksik bileşenlerin atılmasıyla ilgili yerel, ulusal veya bölgesel düzenlemeleri dikkate alın.
- Reaktiflerin mikrobiyotik kontaminasyonunu minimize edin, aksi takdirde spesifik olmayan boyamada bir artış meydana gelebilir.
- Belirtilenler dışındaki geri kazanım, inkübasyon süreleri veya sıcaklıklar hatalı sonuçlara neden olabilir. Bu tür herhangi bir değişiklik kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Kullanım Talimatları

p16 (6H12) primer antikorunu BOND Polymer Refine Detection ile birlikte otomatik BOND sisteminde (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sisteminin içeren) kullanılmak üzere geliştirilmiştir. p16 (6H12) primer antikor için önerilen boyama protokolü IHC Protocol F'tir. BOND Epitope Retrieval Solution 2 kullanılarak 20 dakika ısı induklü epitop alımı önerilir.

Öngörülen Sonuçlar

Normal Dokular

6H12 klonu, spesifik dokular içinde belirli hücrelerde çok kısıtlı bir paternde ekspresye edilen p16 proteinini saptar. Boyama paterni nükleerdir, ancak sitoplazmik boyama, p16 ekspresye eden çoğu hücre tipinde gözlemlenir. Tonsildeki retiküler kript epitelyum ve foliküler dendritik hücrelerde, pankreastaki adacık hücrelerinde, testisteki Leydig hücrelerinde, dağılmış ürotelyal hücrelerde ve endometriumdaki az rastlanan glandüler epitelyal hücrelerde immünoreaktivite gözlemlendi. Midedeki antral bezlerde, memedeki glandüler ve miyo-epitelyumda ve adrenal bezinde az sıklıkla zayıf boyanma görüldü. Aynı zamanda makrofajlar ve bazı fibroblastlarda boyama görüldü. Diğer çeşitli normal dokularda boyanma gözlemlenmedi (Toplam normal olgu sayısı = 149).

Tümör Dokuları

6H12 klonu, 30/42 serviks kanserini (25/31 servikal skuamöz hücreli karsinom, 2/4 serviks adenokarsinomu, 2/2 endometrioid adenokarsinomu, 1/2 endoserviks adenokarsinomu, 0/2 intestinal tip adenokarsinom ve 0/1 seröz papiller karsinom dahil), 21/39 orofarengeal skuamöz hücreli karsinomunu, 3/6 meme tümörünü (2/4 invaziv duktal karsinom ve 1/2 fibroadenom dahil), 2/10 bağırsak tümörünü (2/4 kolon adenokarsinomu, 0/3 rektum adenokarsinomu, 0/2 bağırsak adenomu ve 0/1 ince bağırsak adenokarsinomu dahil), 2/5 hepatoselüler karsinomu, 2/5 baş ve boyun tümörünü (1/1 oral kavite adenokarsinomu, 1/1 salya bezi pleomorfik adenomu, 0/1 adenoid sistik karsinom, 0/1 dil skuamöz hücreli karsinom ve 0/1 nazofarengeal karsinom dahil), 2/4 beyin tümörünü (1/3 meninjiyom ve 1/1 astrositom dahil), 2/4 mide adenokarsinomu, 2/4 akciğer tümörünü (1/1 adenokarsinom, 1/1 küçük hücreli karsinom ve 0/2 skuamöz hücreli karsinom dahil), 2/3 prostat adenokarsinomu, 2/2 endometrium adenokarsinomu, 1/5 tiroid tümörünü (1/1 foliküler karsinom, 0/1 foliküler papiller adenokarsinom ve 0/3 adenom dahil), 1/5 metastatik tümörü, 1/4 özofagus skuamöz hücreli karsinomunu, 1/4 yumurtalık tümörünü (1/2 endometrioid adenokarsinom, 0/1 granuloza hücre tümörü ve 0/1 adenokarsinom dahil), 1/2 kemik tümörünü (1/1 kondrosarkom ve 0/1 osteosarkom dahil) ve 1/1 pankreas adenokarsinomu boyadı. Lenfomalarda (0/3), mesane tümörlerinde (0/3), renal tümörlerde (0/3), cilt tümörlerinde (0/3), adrenal tümörlerde (0/2), seminomlarda (0/2) ve bir prostatik hiperplazide (0/1) boyama görülmüdü. (Değerlendirilen toplam anormal olgu sayısı = 162).

p16 (6H12), immünoojik olmayan histokimyasal boyamalar kullanılarak yapılan geleneksel histopatolojiye yardımcı olarak normal ve neoplastik dokularda CD79A proteininin saptanması için önerilir.

Ürüne Özgü Sınırlamalar

p16 (6H12), BOND Polymer Refine Detection'la ve BOND yardımcı reaktiflerle kullanılmak üzere Leica Biosystems'ta optimize edilmiştir. Önerilen test prosedürlerinden sapan kullanıcılar bu şartlar altında hasta sonuçlarının yorumlanmasının sorumluluğunu almaktadır. Doku fiksasyonu ve antijen alınımının etkinliğindeki değişiklikler nedeniyle protokol süreleri değişiklik gösterebilir ve bu süreler ampirik olarak belirlenmelidir. Geri kazanım koşulları ve protokol süreleri optimize edilirken negatif reaktif kontrolleri kullanılmamalıdır.

Sorun Giderme

İyileştirici işlem için referans 3'e bakın.

Olağan dışı bir boyamayı bildirmek için yerel distribütörünüzle veya Leica Biosystems bölge ofisiyle iletişime geçin.

Daha Fazla Bilgi

BOND reaktifleri ile immün-Boyama hakkında daha fazla bilgi BOND kullanıcı belgelerinizde "BOND Reaktiflerinin Kullanımı" bölümündeki İşlem Prensipleri, Gereken Materyaller, Numune Hazırlama, Kalite Kontrol, Tahlii Doğrulama, Boyanmanın Yorumlanması, Etiketlerdeki Semboller için Anahtar ve Genel Sınırlamalar başlıkları altında bulunabilir.

Bibliyografya

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. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Yayın Tarihi

02 Temmuz 2019

Готово за употреба първично анти тяло BOND™

p16 (6H12)

Каталожен №: PA0016

Предназначение

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

Моноклоналното анти тяло p16 (6H12) е предназначено за качествената идентификация чрез оптична микроскопия на човешки протеин p16 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.

Описателна и разяснителна

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 p16 (6H12) е готов за употреба продукт, който е специално оптимизиран за използване с BOND Polymer Refine Detection. Показването на човешки протеин p16 се постига, като първо се позволява свързването на p16 (6H12) с участъка, след което това свързване се визуализира, като се използват реагентите, 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

p16 (6H12) е мише античовешко моноклонално анти тяло, получено като пречистен 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

6H12

Имуноген

Прокариотен рекомбинантен фузионен протеин, съответстващ на цялата човешка молекула p16.

Специфичност

Човешки протеин p16.

Имуноглобулинов клас

IgG2b

Обща концентрация на протеин

Приблизително 10 mg/mL.

Концентрация на антигела

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

Разреждане и смесване

Първичното анти тяло p16 (6H12) 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 реагент.

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, като се използва система 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 контаминация и/или нестабилност на p16 (6H12) са: мътноста 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-изотиазолон-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, се свържете с вашия местен дистрибутор или регионален офис на Leica Biosystems или посетете уеб сайта на Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com
- Спесимените преди и след фиксация, както и всички материали, изложени на тяхното влияние, трябва да бъдат третирани като способни да предадат инфекция и да бъдат изхвърлени, прилагайки съответните предпазни мерки². Никога не

пипетирайте реактиви с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реактиви или спесимени. При контакт на реагенти или спесимени с чувствителни зони измийте зоните 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 реагентите, в противен случай 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

Първичното анти тяло p16 (6H12) е разработено за употреба с автоматизираната система BOND (включваща системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III) в комбинация с BOND Polymer Refine Detection. Препоръчителният протокол за оцветяване за първичното анти тяло p16 (6H12) е IHC Protocol F. Препоръчва се термично индуцирано извличане на епитоп с помощта на BOND Epitope Retrieval Solution 2 в продължение на 20 минути.

Очаквани резултати

Нормални тъкани

Клонинг 6H12 открива протеина p16, експресиран по силно ограничен модел в определени клетки в рамките на конкретни тъкани. Моделът на оцветяване е на ядрата, но цитоплазмено оцветяване се наблюдава в повечето типове клетки, които експресират p16. Наблюдава се имуна реактивност в ретикуларния криптен епител и фоликуларните дендритни клетки на тонзилите, островните клетки на панкреаса, клетките на Лайдиг в тестисите, разпръснати уротелиални клетки и в случайни клетки на хлестия епител на ендометриума. Случайно слабо оцветяване е наблюдавано в антралните жлези на стомаха, в хлестия епител и миоепитела на гърдата и в надбъбречната жлеза. Наблюдавано е също оцветяване на макрофаги и някои фибробласти. Не се наблюдава допълнително оцветяване при редица други оценени нормални тъкани (Общ брой на нормалните случаи = 149).

Туморни тъкани

Клонинг 6H12 оцветява 30/42 случая на рак на маточната шийка (включително 25/31 плоскоклетъчни карцинома на цервикса, 2/4 аденокарцинома на цервикса, 2/2 ендометриоидни аденокарцинома, 1/2 ендочервикални аденокарцинома, 0/2 чревен тип аденокарцинома и 0/1 серозни папиларни карцинома), 21/39 орофарингеални плоскоклетъчни карцинома, 3/6 тумора на гърдата (включително 2/4 инвазивни дуктални карцинома и 1/2 фиброаденома), 2/10 тумора на червата (включително 2/4 аденокарцинома на ободното черво, 0/3 аденокарцинома на правото черво, 0/2 аденома на червата и 0/1 аденокарцинома на тънките черва), 2/5 хепатоклетъчни карцинома, 2/5 тумора на главата и шията (включително 1/1 аденокарцинома на устната кухина, 1/1 плеоморфни аденома на слюнчената жлеза, 0/1 аденоидни кистозни карцинома, 0/1 плоскоклетъчни карцинома на езика и 0/1 назофарингеални карцинома), 2/4 тумора на мозъка (включително 1/3 менингиома и 1/1 астроцитома), 2/4 аденокарцинома на стомаха, 2/4 тумора на белия дроб (включително 1/1 аденокарцинома, 1/1 дребноклетъчни карцинома и 0/2 плоскоклетъчни карцинома), 2/3 аденокарцинома на простатата, 2/2 аденокарцинома на ендометриума, 1/5 тумора на щитовидната жлеза (включително 1/1 фоликуларни карцинома, 0/1 фоликуларно-папиларни аденокарцинома и 0/3 аденома), 1/5 метастатични тумора, 1/4 плоскоклетъчни карцинома на хранопровода, 1/4 овариални тумора (включително 1/2 ендометриоидни аденокарцинома, 0/1 тумора на гранулозните клетки и 0/1 аденокарцинома), 1/2 тумора на костите (включително 1/1 хондросаркома и 0/1 остеосаркома) и 1/1 аденокарцинома на панкреаса. Не е открито оцветяване в лимфоми (0/3), тумори на пикочния мехур (0/3), бъбречни тумори (0/3), кожни тумори (0/3), тумори на надбъбречната жлеза (0/2), семиноми (0/2) и хиперплазия на простатата (0/1). (Общ брой на оценените абнормни случаи = 162).

p16 (6H12) се препоръчва за откриване на протеин p16 в нормални и неопластични тъкани като допълнение към конвенционалната хистопатология с използване на неимунологични хистохимични оцветявания.

Специфични ограничения на продукта

Продуктът p16 (6H12) е оптимизиран от Leica Biosystems за употреба с BOND Polymer Refine Detection и спомагателните реагенти 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 коригиращо действие.

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. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Дата на издаване

02 Юли 2019

BOND™ használatra kész elsődleges antitest

p16 (6H12)

Katalógusszám: PA0016

Alkalmazási terület

Ez a reagens *in vitro* diagnosztikai használatra szolgál.

A p16 (6H12) monoklonális antitest a humán p16 fehérje fénymikroszkóppal történő kvalitatív azonosítására szolgál formailag 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

Immunhisztokémiai technikák segítségével lehet kimutatni az antigének jelenlétét a szövetben és a sejtekben (lásd „A BOND-reagensek használata” című részt a BOND felhasználói dokumentációban). A p16 (6H12) elsődleges antitest azonnal használható termék, amelyet kifejezetten a BOND Polymer Refine Detection készlettel együtt történő alkalmazásra optimalizáltak. A humán p16 fehérje kimutatása úgy történik, hogy előbb lehetővé kell tenni a p16 (6H12) 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 reagensek alkalmazásából származó eredendő eltérések.

Biztosított reagensek

A p16 (6H12) egér eredetű, antihumán monoklonális antitest, amelyet szövettenyésztet felülüzöként állítanak elő. Kiszáradása: tris-pufferelt sóoldatban, hordozófehérjével, amely tartósítószerként 0,35% ProClin™ 950-et tartalmaz.

Teljes mennyiség = 7 ml.

Klón

6H12

Immunogén

A teljes humán p16 molekulának megfelelő prokarióta eredetű rekombináns fúziós fehérje.

Specifitás

Humán p16 fehérje.

Ig-osztály

IgG2b

Összfehérje-koncentráció

Kb. 10 mg/ml.

Antitest-koncentráció

Legalább 5 mg/l, ELISA módszerrel meghatározva.

Hígítás és elegyítés

A p16 (6H12) 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 reagensek használata” című részében.

Tárolás és stabilitás

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

A p16 (6H12) 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 reagensek 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 az azoknak kitett összes anyagot úgy kell kezelni, mintha fertőzőképesek volnának, 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 feltárási körülmények, inkubációs idők és hőmérsékletek hibás eredményekhez vezethetnek. A felhasználónak minden ilyen jellegű változtatást validálnia kell.

Használati útmutató

A p16 (6H12) elsődleges antitest automata BOND rendszerrel (így a Leica BOND-MAX rendszerrel vagy a Leica BOND-III rendszerrel) és a BOND Polymer Refine Detection kittel való együttes használatra lett kifejlesztve. A p16 (6H12) elsődleges antitesthez javasolt festési protokoll az IHC Protocol F. A hőindukált epitópfeltáráshoz BOND Epitope Retrieval Solution 2 oldat 20 percig tartó alkalmazása javasolt.

Várható eredmények

Normál szövetek

Az 6H12 klón a p16 fehérje kimutatására szolgál, ami nagyon szigorú mintázat szerint expresszálódik bizonyos szövetek bizonyos sejteiben. A festődési mintázat magfestődés, azonban a p16-ot kifejező legtöbb sejt esetében a citoplazma festődését is megfigyelték. Immunreakciókat figyeltek meg a tonsilla hálózatos kripta epitéliumban és follikuláris dendritikus sejteiben, a hasnyálmirigy szigetsejteiben, a here Leydig-sejteiben, valamint az endometriumban a szórványos urotéliejteiben és esetenként a mirigyes epitelsejteiben. Szórványos gyenge festődés volt megfigyelhető az antrum mirigyekben a gyomorban, az emlő mirigyes és mioepitéliumban, valamint a mellékvesében. Megfigyelték makrofágok és egyes fibroblasztok festődését is. A további különböző kiértékelt normál szövetekben nem volt festődés megfigyelhető (normál esetek összesített száma = 149).

Tumorszövetek

A 6H12 klón megfestett 30/42 méhnyakrákot (köztük 25/31 laphámsejtes méhnyakkarcinómát, 2/4 méhnyak-adenokarcinómát, 2/2 endometrioid adenokarcinómát, 1/2 endocervikális adenokarcinómát, 0/2 intesztinális típusú adenokarcinómát és 0/1 szerózus papilláris karcinómát), 21/39 orofaringeális laphámsejtes karcinómát, 3/6 emlődaganatot (köztük 2/4 invazív dukális karcinómát és 1/2 fibroadenómát), 2/10 bél-daganatot (köztük 2/4 vastagbél-adenokarcinómát, 0/3 végbél-adenokarcinómát, 0/2 béladenómát és 0/1 vékonybél-adenokarcinómát), 2/5 hepatocelluláris karcinómát, 2/5 fej- és nyaki daganatot (köztük 1/1 szájrégi adenokarcinómát, 1/1 nyálmirigy pleomorfnádómát, 0/1 adenoid cisztikus karcinómát, 0/1 laphámsejtes nyelvkarinómát és 0/1 nazofaringeális karcinómát), 2/4 agydaganatot (köztük 1/3 meningiómát és 1/1 asztrocitómát), 2/4 gyomor-adenokarcinómát, 2/4 tüdő-daganatot (köztük 1/1 adenokarcinómát, 1/1 kis sejtjes karcinómát és 0/2 laphámsejtes karcinómát), 2/3 prosztata-adenokarcinómát, 2/2 endometrium-adenokarcinómát, 1/5 pajzsmirigy-daganatot (köztük 1/1 follikuláris karcinómát, 0/1 follikuláris papilláris adenokarcinómát és 0/3 adenómát), 1/5 áttétes daganatot, 1/4 laphámsejtes nyelöcső-karcinómát, 1/4 petefészek-daganatot (köztük 1/2 endometrioid adenokarcinómát, 0/1 granulosa-sejtjes daganatot és 0/1 adenokarcinómát), 1/2 csontdaganatot (köztük 1/1 chondrosarkómát és 0/1 oszteosarkómát), valamint 1/1 hasnyálmirigy-adenokarcinómát. Nem volt festődés észlelhető limfómák (0/3), húgyhólyagdaganatok (0/3), vesedaganatok (0/3), bőrdaganatok (0/3), mellékvese-daganatok (0/2), szeminómák (0/2), illetve egy prosztata-hiperplázia (0/1) esetén. (Vizsgált kóros esetek összesített száma = 162).

A p16 (6H12) a p16 fehérje detektálására ajánlott normális és tumoros szövetekben, a nem immunológiai hisztokémiai festést használó hagyományos kórszöveteti eljárások kiegészítéseként.

Termékspecifikus korlátozások

A p16 (6H12) terméket a Leica Biosystems a BOND Polymer Refine Detection kittel és a BOND segédreagensekkel való használatra optimalizálta. A tesztelési eljárásoktól való eltérés eredményezheti a felhasználó felelőssége a betegeredmények 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 feltárási körülmények és a protokollidők optimalizálásakor negatív reagensek ellenőrzése 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. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Kiadás dátuma

02 július 2019

Anticorp primar gata de utilizare BOND™

p16 (6H12)

Nr. catalog: PA0016

Utilizare prevăzută

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

Anticorpul monoclonal p16 (6H12) este destinat utilizării pentru identificarea calitativă, prin intermediul microscopiei optice, a proteinei p16 umane din 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 antecedentelor clinice ale pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

Rezumat și explicație

Tehniciile imunohistochemice pot fi utilizate pentru a demonstra prezența antigenelor în țesuturi și celule (a se vedea „Utilizarea reactivilor BOND” în documentația dumneavoastră de utilizare a sistemului BOND). Anticorpul primar p16 (6H12) este un produs gata de utilizare care a fost optimizat în mod specific pentru utilizarea cu BOND Polymer Refine Detection. Demonstrarea prezenței proteinei p16 umane este realizată mai întâi prin permiterea legării p16 (6H12) 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

p16 (6H12) este un anticorp monoclonal anti-uman de șoarece produs ca supernatant de cultură tisulară purificat și furnizat în soluție salină tamponată cu trometamină cu proteină purtătoare, care conține 0,35 % ProClin™ 950 drept conservant.

Volu total = 7 ml.

Clonă

6H12

Imunogen

Proteină procarionică recombinantă de fuziune corespunzând întregii molecule p16 umane.

Specificitate

Proteina umană p16.

Clasa Ig

IgG2b

Concentrație proteină totală

Aproximativ 10 mg/ml.

Concentrație anticorpi

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

Diluare și amestecare

Anticorpul primar p16 (6H12) 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 speciemenelor 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 p16 (6H12) 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 pentru material, 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
- Speciemenele, 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 probelor cu pielea și membranele mucoase. Dacă reactivii sau probele vin în contact cu suprafețele sensibile, spălați cu apă din abundență. Solicitați asistență medicală.

- Consultați reglementările naționale, județene sau locale pentru informații privind eliminarea oricăror componente cu potențial toxic.
- Reduceți la minimum contaminarea microbiană a reactivilor, în caz contrar poate apărea o creștere a colorării nespecifice.
- Timpii sau temperaturile de recuperare, includ care diferă de valorile specificate pot genera rezultate eronate. Orice astfel de modificare trebuie validată de către utilizator.

Instrucțiuni de utilizare

Anticorpus primar p16 (6H12) 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. Protocolul de colorare recomandat pentru anticorpus primar p16 (6H12) este IHC Protocol F. Se recomandă recuperarea indusă de căldură a epitopiilor utilizând BOND Epitope Retrieval Solution 2 timp de 20 de minute.

Rezultate așteptate

Tesuturi normale

Clona 6H12 detectează proteina p16 care este exprimată într-un model deosebit de restrâns în anumite celule în țesuturi specifice. Modelul de colorare este nuclear, dar se observă colorație citoplasmatică în majoritatea tipurilor de celule care exprimă p16. S-a observat imunoreactivitate în epiteliul criptic reticulat și celulele dendritice foliculare din amigdală, celulele insulare din pancreas, celulele Leydig din testicul, celulele uroteliale împrăștiate și ocazional în celulele epiteliiale glandulare din endometru. S-a observat ocazional o colorație slabă în glandele antrale ale stomacului, epiteliul glandular și mioepiteliul mamar și în glanda suprarenală. S-a observat de asemenea colorarea macrofagelor și unor fibroblaste. Nu s-a observat vreo colorare la diverse alte țesuturi normale (Număr total de cazuri normale = 149).

Tesuturi tumorale

Clona 6H12 a colorat 30/42 canceruri de col uterin (incluzând 25/31 carcinoame cu celule scuamoase ale colului uterin, 2/4 adenocarcinoame ale colului uterin, 2/2 adenocarcinoame endometrioid, 1/2 adenocarcinoame endocervicale, 0/2 adenocarcinoame de tip intestinal și 0/1 carcinoame papilare seroase), 21/39 carcinoame orofaringiene cu celule scuamoase, 3/6 tumori mamare (incluzând 2/4 carcinoame ductale invazive și 1/2 fibroadenoame), 2/10 tumori intestinale (incluzând 2/4 adenocarcinoame ale colonului, 0/3 adenocarcinoame ale rectului, 0/2 adenoame intestinale și 0/1 adenocarcinoame ale intestinului subțire), 2/5 carcinoame hepatocelulare, 2/5 tumori ale capului și gâtului (incluzând 1/1 adenocarcinom al cavității bucale, 1/1 adenom pleomorfic al glandei salivare, 0/1 carcinom chistic adenoid, 0/1 carcinom cu celule scuamoase ale limbii și 0/1 carcinom nasofaringian), 2/4 tumori cerebrale (incluzând 1/3 meningioame și 1/1 astrocitom), 2/4 adenocarcinoame ale stomacului, 2/4 tumori pulmonare (incluzând 1/1 adenocarcinom, 1/1 carcinom cu celule mici și 0/2 carcinom cu celule scuamoase), 2/3 adenocarcinoame ale prostatei, 2/2 adenocarcinoame ale endometrului, 1/5 tumori tiroidiene (incluzând 1/1 carcinom folicular, 0/1 adenocarcinom papilar folicular și 0/3 adenoame), 1/5 tumori metastatice, 1/4 carcinoame cu celule scuamoase ale esofagului, 1/4 tumori ovariene (incluzând 1/2 adenocarcinoame endometrioid, 0/1 tumoare cu celule granuloase și 0/1 adenocarcinom), 1/2 tumori osoase (incluzând 1/1 condrosarcom și 0/1 osteosarcom), și 1/1 adenocarcinom al pancreasului. Nu s-a observat vreo colorare în limfoame (0/3), tumori ale vezicii urinare (0/3), tumori renale (0/3), tumori ale pielii (0/3), tumori suprarenale (0/2), seminoame (0/2) și hiperplazie prostatică (0/1). (Numărul total al cazurilor anormale evaluate = 162).

p16 (6H12) este recomandat pentru detectarea antigenului p16 uman în țesuturile normale și neoplazice, ca adjuvant al histopatologiei convenționale, utilizând coloranți histochimici non-imunologici.

Restricții specifice produsului

p16 (6H12) a fost optimizat la Leica Biosystems pentru utilizarea cu BOND Polymer Refine Detection și cu reactivii 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 imunocolorarea 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. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Data publicării

02 iulie 2019

Готовое к применению первичное антитело BOND™

p16 (6H12)

Номер по каталогу: PA0016

Назначение

Этот реактив предназначен для диагностики *in vitro*.

Моноклональные антитела p16 (6H12) предназначены для качественного определения p16-протеина 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 контролями и должна быть оценена квалифицированным патологом с учетом анамнеза пациента и других диагностических тестов.

Краткое изложение и пояснение

Иммуногистохимические методы можно использовать для выявления антигенов в тканях и клетках (см. «Применение реактивов BOND» в документации пользователя BOND). Первичное антитело p16 (6H12) является готовым к применению продуктом, специально оптимизированным для использования в системе BOND Polymer Refine Detection. Подтверждение присутствия p16-протеина человека достигается, во-первых, за счет связывания p16 (6H12) со срезом ткани с последующей визуализацией участка связывания, что осуществляется с использованием реактивов, которые предусмотрены системой детекции. 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

p16 (6H12) 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 мл.

Клон

6H12

Иммуноген

Рекомбинантный слитый белок из прокариотических клеток, соответствующий всей молекуле p16 человека.

Специфичность

p16-протеин человека.

Класс иммуноглобулинов

IgG2b

Общая концентрация белка

Примерно 10 мг/мл.

Концентрация антитела

Не менее 5 мг/л при измерении методом ИФА.

Разведение и смешивание

Первичные антитела p16 (6H12) имеют 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 p16 (6H12), 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 активный компонент 2-метил-4-изотиазолин-3-он и может раздражать кожу, глаза, слизистые оболочки и верхние дыхательные пути. При работе с реактивами надевайте одноразовые перчатки.
- Для получения копии паспорта безопасности химической продукции обратитесь к местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems либо посетите веб-сайт компании Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com

- Образцы (до и после фиксации) и все контактирующие с ними материалы следует считать способными к передаче инфекции, и при их удалении в отходы следует соблюдать надлежащие меры предосторожности². Никогда не набирайте реактивы в пипетку 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

Первичное антитело p16 (6H12) было разработано для использования в автоматизированной системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica) в сочетании с BOND Polymer Refine Detection. Рекомендуемым протоколом иммуногистохимического окрашивания с использованием первичных антител p16 (6H12) является IHC Protocol F. Тепловую демаскировку эпитопа рекомендуется выполнять с применением раствора для демаскирования BOND Epitope Retrieval Solution 2 в течение 20 минут.

Ожидаемые результаты

Нормальные ткани

Клон 6H12 обнаруживает белок p16, выраженный в рамках крайне ограниченной картины в некоторых клетках определенных тканей. Эта картина имеет характер ядерного окрашивания, однако в большинстве типов клеток с экспрессией p16 наблюдается цитоплазматическое окрашивание. Иммунореактивность наблюдалась в ретикулярном эпителии крипт и фолликулярных дендритических клетках миндалин, инсулярных клетках поджелудочной железы, клетках Лейдига яичек, рассеянных уротелиальных клетках и в отдельных клетках железистого эпителия в эндометрии. Спорадическое слабое окрашивание наблюдалось в антральных железах желудка, железистом эпителии и миоэпителии молочной железы, а также в надпочечниках. Кроме того, наблюдалось окрашивание макрофагов и отдельных фибробластов. Во множестве других проанализированных здоровых тканей дополнительного окрашивания не наблюдалось (общее число случаев изучения неизмененных тканей = 149).

Ткани опухолей

Клон 6H12 окрасил 30/42 случаев рака шейки матки (включая 25/31 случая плоскоклеточной карциномы шейки матки, 2/4 случаев аденокарциномы шейки матки, 2/2 случаев эндометриоидной аденокарциномы, 1/2 случаев эндоцервикальной аденокарциномы, 0/2 случаев аденокарциномы кишечного типа и 0/1 случая серозной папиллярной карциномы), 21/39 случаев орофарингеальной плоскоклеточной карциномы, 3/6 случаев опухоли молочной железы (включая 2/4 случаев инвазивной карциномы протоков и 1/2 случаев фиброаденомы), 2/10 случаев опухоли кишечника (включая 2/4 случаев аденокарциномы толстого кишечника, 0/3 случаев аденокарциномы прямой кишки, 0/2 случаев аденомы кишечника и 0/1 случая аденокарциномы тонкого кишечника), 2/5 случаев гепатоцеллюлярной карциномы, 2/5 случаев опухоли головы и шеи (включая 1/1 случая аденокарциномы ротовой полости, 1/1 случая плеоморфной аденомы слюнной железы, 0/1 случая аденоидной кистозной саркомы, 0/1 случая плоскоклеточной карциномы языка и 0/1 случая назофарингеальной карциномы), 2/4 случаев опухоли мозга (включая 1/3 случаев менингиомы и 1/1 случая астроцитомы), 2/4 случаев аденокарциномы желудка, 2/4 случаев опухоли легкого (включая 1/1 случая аденокарциномы, 1/1 случая мелкоклеточной карциномы и 0/2 случаев плоскоклеточной карциномы), 2/3 случаев аденокарциномы простаты, 2/2 случаев аденокарциномы эндометрия, 1/5 случаев опухоли щитовидной железы (включая 1/1 случая фолликулярной карциномы, 0/1 случая фолликулярной папиллярной аденокарциномы и 0/3 случаев аденомы), 1/5 случаев метастатических опухолей, 1/4 случаев плоскоклеточной карциномы пищевода, 1/4 случаев опухоли яичников (включая 1/2 случаев эндометриоидной аденокарциномы, 0/1 случая гранулезоклеточной опухоли и 0/1 случая аденокарциномы), 1/2 случаев опухоли костей (включая 1/1 случая хондросаркомы и 0/1 случая остеосаркомы) и 1/1 случая аденокарциномы поджелудочной железы. Не обнаружено окрашивания в лимфомах (0/3), опухолях мочевого пузыря (0/3), опухолях почек (0/3), опухолях кожи (0/3), опухолях надпочечников (0/2), в сарcomaх (0/2) и в гиперплазии простаты (0/1). (Общее число исследованных патологически измененных образцов = 162).

p16 (6H12) рекомендуется для обнаружения p16-протеина в здоровых и пораженных опухолью тканях в качестве дополнения к стандартным гистопатологическим исследованиям с применением неиммунного гистохимического окрашивания.

Ограничения, специфичные для этого продукта

p16 (6H12) оптимизирован компанией Leica Biosystems для применения с реактивами BOND Polymer Refine Detection и вспомогательными 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 реактивами BOND содержится в подразделах «Принцип метода», «Необходимые материалы», «Подготовка образцов», «Контроль качества», «Проверка достоверности анализа», «Интерпретация окрашивания», «Значения символов на этикетках» и «Общие ограничения» 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. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Дата выпуска

02 Июль 2019

Gotowe do użycia ciało przeciwciało pierwszorzędowe BOND™ p16 (6H12)

Nr katalogowy: PA0016

Przeznaczenie

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

Przeciwciała monoklonalne p16 (6H12) służy do identyfikacji jakościowej z zastosowaniem mikroskopii świetlnej ludzkiego białka p16 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

Techniki immunohistochemiczne można stosować do wykazania obecności antygenów w tkankach i komórkach (patrz punkt „Używanie odczynników BOND” w dokumentacji dla użytkownika odczynników BOND). Przeciwciało pierwszorzędowe p16 (6H12) jest gotowym do użycia produktem, specjalnie zoptymalizowanym pod kątem stosowania z BOND Polymer Refine Detection. Obecność ludzkich cząsteczek p16 jest wykazywana w pierwszej kolejności przez umożliwienie wiązania p16 (6H12) ze skrawkiem, 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 rozcieńczania odczynników, ręcznego pobierania pipetą i stosowania odczynników.

Odczynniki znajdujące się w zestawie

p16 (6H12) jest myśim anty-ludzkim przeciwciałem monoklonalnym, produkowanym jako oczyszczony supernatant hodowli tkankowej i dostarczony w roztworze soli fizjologicznej buforowanej roztworem Tris z białkiem nośnikowym, konserwowanym 0,35% ProClin™ 950.

Łączna objętość = 7 ml.

Klon

6H12

Immunogen

Prokariotyczne rekombinowane białko fuzyjne odpowiadające całej ludzkiej cząsteczce p16.

Swoistość

Ludzkie białko p16.

Klasa Ig

IgG2b

Całkowite stężenia białka

Okolo 10 mg/ml.

Stężenie przeciwciał

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

Rozcieńczanie i mieszanie.

Przeciwciało pierwszorzędowe p16 (6H12) 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, rozcieńczanie 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 p16 (6H12) 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

- Ten odczynnik jest przeznaczony do diagnostyki *in vitro*
- Stężenie ProClin™ 950 wynosi 0,35 %. Zawiera składnik czynny 2-metylo-4-izotiazolon-3-jeden i może powodować podrażnienie skóry, oczu, błon śluzowych i górnych dróg oddechowych. Podczas pracy z odczynnikami należy nosić rękawice jednorazowego użytku.
- Aby uzyskać egzemplarz karty charakterystyki, należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub regionalnym biurem Leica Biosystems lub odwiedzić stronę internetową Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

- Próbkę przed i po utrwaleniu oraz wszelkie materiały narażone na kontakt z nimi należy traktować jak materiały potencjalnie zakaźne i należy je utylizować z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności². 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 odczynniki 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

Przeciwiąca pierwszorzędowe p16 (6H12) została opracowana z myślą o zastosowaniu w automatycznym systemie BOND (obejmującym systemy Leica BOND-MAX i Leica BOND-III) w połączeniu z BOND Polymer Refine Detection. Zalecany protokół barwienia dla przeciwiąca pierwszorzędowego p16 (6H12) to IHC Protocol F. Zaleca się ciepłe odmaskowywanie epitopu przy użyciu roztworu BOND Epitope Retrieval Solution 2 przez 20 minut.

Oczekiwane wyniki

Tkanki prawidłowe

Klon 6H12 wykrywa białko p16, które ulega ekspresji w wyspecjalizowanym wzorze w pewnych komórkach w określonych tkankach. Wzór barwienia jest jądrowy, ale barwienie cytoplazmatyczne obserwuje się w większości typów komórek, które ekspresyjną p16. Immunoreaktywność obserwowano w siatkowym nabłonku krypty i komórkach dendrytycznych pęcherzyków w migdałkach, komórkach wysp trzustkowych, komórkach Leydya w jądrach, rozproszonych komórkach nabłonka dróg żołądkowych i sporadycznie w gruczołowych komórkach nabłonka w śluzówce macicy. Sporadycznie słabe barwienie obserwowano w gruczołach wydzielniczych żołądka, komórkach gruczołowych i mioepitelialnych w sutku i w nadnerczach. Zaobserwowano również barwienie makrofagów i niektórych fibroblastów. Nie stwierdzono barwienia wielu innych prawidłowych tkanek (całkowita liczba prawidłowych przypadków = 149).

Tkanki nowotworowe

Klon 6H12 wybarwił 30/42 raki szyjki macicy (w tym 25/31 raki płaskonabłonkowe, 2/4 gruczolakoraki szyjki macicy, 2/2 gruczolakoraki endometrioidalne, 1/2 gruczolakoraka endokrynnego, 0/2 gruczolakoraków typu jelitowego i 0/1 surowicznych raków brodawkowatych), 21/39 raki płaskonabłonkowe jamy ustnej i gardła, 3/6 nowotwory piersi (w tym 2/4 inwazyjne raki przewodowe i 1/2 gruczolakowłóknia), 2/10 guzy jelit (w tym 2/4 gruczolakoraki okrężnicy, 0/3 gruczolakoraków odbytnicy, 0/2 gruczolaki jelita i 0/1 gruczolakoraków jelita cienkiego), 2/5 komórek wątrobowokomórkowych, 2/5 guzy głowy i szyi (w tym 1/1 gruczolakoraka jamy ustnej, 1/1 gruczolaka wielopostaciowego gruczolu ślinowego, 0/1 raków torbielowatych, 0/1 raków płaskokomórkowych języka i 0/1 raków jamy nosowo-gardłowej), 2/4 guzy mózgu (w tym 1/3 oponiaka i 1/1 gwiaździaka), 2/4 gruczolakoraki żołądka, 2/4 guzy płuc (w tym 1/1 gruczolakoraka, 1/1 raka komórek śródmożgowia i 0/2 raków płaskonabłonkowych), 2/3 gruczolakoraki gruczolu krokowego, 2/2 gruczolakoraki endometrium, 1/5 guza tarczycy (w tym 1/1 raka pęcherzykowego, 0/1 gruczolakoraków brodawkowatych i 0/3 gruczolaków), 1/5 guza przerzutowego, 1/4 raka kolczystokomórkowego przelyku, 1/4 guza jajnika (w tym 1/2 gruczolakoraka endometrioidalnego, 0/1 guzów z komórek ziarnistych i 0/1 gruczolakoraków), 1/2 nowotwór kości (w tym 1/1 chrząstniakomięsaka i 0/1 kostniakomięsaków) i 1/1 gruczolakoraka trzustki. Nie wykryto wybarwienia w chłoniakach (0/3), guzach pęcherza moczowego (0/3), guzach nerek (0/3), guzach skóry (0/3), guzach nadnerczy (0/2), nasieniakach (0/2) i przerście gruczolu krokowego (0/1). Łączna liczba ocenionych nieprawidłowych przypadków = 162).

Zaleca się stosowanie p16 (6H12) do wykrywania białka p16 w tkankach zdrowych i rakowych jako uzupełnienie konwencjonalnego badania histopatologicznego opartego na nieimmunologicznym barwieniu histologicznym.

Szczególne ograniczenia dla produktu

Przeciwiąca p16 (6H12) zostało zoptymalizowane w Leica Biosystems pod kątem stosowania z BOND Polymer Refine 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 utrwalenia tkanek i skuteczności wzmocnienia przez przeciwiąca i należy je określić doświadczalnie. Odczynniki kontroli negatywnej należy stosować podczas optymalizacji warunków odmaskowywania i czasów protokołu.

Rozwiązywanie problemów

W celu uzyskania dalszych informacji o działaniu zaradczym 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 działach „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. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Data publikacji

02 lipca 2019

Pripravljeno primarno protitelo BOND™

p16 (6H12)

Kataloška št.: PA0016

Predvidena uporaba

Ta reagent je namenjen diagnostični uporabi *in vitro*.

Monoklonsko protitelo p16 (6H12) je namenjeno kvalitativni identifikaciji molekule humanega proteina p16 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 dopolnjevati 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 p16 (6H12) je vnaprej pripravljen izdelek, ki je bil specifično optimiziran za uporabo s sistemom za izpopolnjeno polimerno zaznavanje BOND Polymer Refine Detection. Prikaz humanega proteina p16 se doseže tako, da se najprej dovoli vezava protitelesa p16 (6H12) 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

p16 (6H12) je mišje monoklonsko protitelo, usmerjeno 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

6H12

Imunogen

Prokariontski rekombinantni fuzijski protein, ki ustreza celotni molekuli človeškega p16.

Specifičnost

Humani protein p16.

Razred Ig

IgG2b

Skupna koncentracija beljakovin

Približno 10 mg/ml.

Koncentracija protiteles

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

Redčenje in mešanje

Primarno protitelo p16 (6H12) 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 p16 (6H12), 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.
- Kopijo varnostnega lista lahko dobite pri lokalnem distributerju ali regionalni pisarni družbe Leica Biosystems ali 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 slediti ustreznim previdnostnim ukrepom². 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 mikrobné okužbe reagentov, saj lahko povzročí nespecifično barvanje.
- Če uporabite čas ali temperature razkrivanja in inkubacije, ki se razlikujejo od navedenih, lahko pridobite napačne rezultate. Uporabnik mora validirati morebitne spremembe.

Navodila za uporabo

Primarno protitelo p16 (6H12) 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. Priporočeni protokol barvanja za primarno protitelo p16 (6H12) je protokol IHC Protocol F. Za toplotno pridobivanje epitopa se priporoča uporaba raztopine BOND Epitope Retrieval Solution 2 za 20 minut.

Pričakovani rezultati

Normalna tkiva

Klon 6H12 zazna protein p16, ki se v nekaterih celicah določenih tkiv izraža z zelo omejenim vzorcem. Vzorec barvanja vključuje barvanje jedra, barvanje citoplazme pa opazimo pri večini vrst celic, ki izražajo p16. Imunsko reaktivnost so opazili pri mrežastem epiteliju kripte in folikularnih dendritičnih celicah tonzile, celicah otočkov trebušne slinavke, Leydigovih celicah testisov, razpršenih urotelijskih celicah ter občasno v žleznih epitelijih celicah endometrija. Občasno šibko obarvanje so zaznali v antralnih žlezah želodca, žlezem epiteliju in mioepiteliju dojke ter v nadledvični žlezi. Opazili so tudi obarvanje makrofagov in nekaterih fibroblastov. V številnih drugih ocenjenih normalnih tkivih (skupno število normalnih primerov = 149) ni bilo opaziti dodatnega obarvanja.

Tumorska tkiva

Klon 6H12 je obarval 30/42 rakov materničnega vratu (vključno s 25/31 karcinomov ploščatih celic materničnega vratu, 2/4 adenokarcinomov materničnega vratu, 2/2 endometrioidnih adenokarcinomov, 1/2 endocervikalnih adenokarcinomov, 0/2 adenokarcinomov črevesnega tipa in 0/1 hudega papilarnega karcinoma), 21/39 orofaringealnih adenokarcinomov, 3/6 tumorjev dojke (vključno z 2/4 invazivnih duktalnih karcinomov in 1/2 fibroadenomov), 2/10 črevesnih tumorjev (vključno z 2/4 adenokarcinomov kolona, 0/3 adenokarcinomov rektuma, 0/2 adenomov črevesa in 0/1 adenokarcinoma tankega črevesa), 2/5 hepatocelularnih karcinomov, 2/5 tumorjev glave in vratu (vključno z 1/1 adenokarcinoma ustne votline, 1/1 pleomorfne adenoma žleze slinavke, 0/1 adenoidnega cističnega karcinoma, 0/1 ploščatoceličnega karcinoma jezika in 0/1 nazofaringealnega karcinoma), 2/4 možganskih tumorjev (vključno z 1/3 meningiomov in 1/1 astrocitoma), 2/4 adenokarcinomov želodca, 2/4 pljučnih tumorjev (vključno z 1/1 adenokarcinoma, 1/1 drobnoceličnega karcinoma in 0/2 ploščatoceličnih karcinomov), 2/3 adenokarcinomov prostate, 2/2 adenokarcinomov endometrija, 1/5 tumorjev ščitnice (vključno z 1/1 folikularnega karcinoma, 0/1 folikularnega papilarnega adenokarcinoma in 0/3 adenomov), 1/5 metastatskih tumorjev, 1/4 ploščatoceličnih karcinomov požiralnika, 1/4 tumorjev jajčnikov (vključno z 1/2 endometrioidnih adenokarcinomov, 0/1 tumorja granuloznih celic in 0/1 adenokarcinoma), 1/2 kostnih tumorjev (vključno z 1/1 hondrosarkoma in 0/1 osteosarkoma) in 1/1 adenokarcinoma trebušne slinavke. Obarvanja niso zaznali pri limfomih (0/3), tumorjih sečnega mehurja (0/3), ledvičnih tumorjih (0/3), kožnih tumorjih (0/3), tumorjih nadledvične žleze (0/2), seminomih (0/2) in hiperplaziji prostate (0/1). (Skupno število ocenjenih anomalnih primerov = 162).

Izdelek p16 (6H12) se priporoča za zaznavanje proteina p16 v normalnih in neoplastičnih tkivih kot dodatna analiza ob konvencionalni histopatologiji z uporabo neimunskih histokemičnih barvil.

Specifične omejitve izdelka

Družba Leica Biosystems je protitelo p16 (6H12) optimizirala za uporabo s sistemom BOND Polymer Refine Detection in pomožnih reagentih 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 reagente, 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. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Datum izdaje

02 julij 2019

Primární protilátka BOND™ připravená k okamžitému použití p16 (6H12)

Kat. č.: PA0016

Zamýšlené použití

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

Monoklonální protilátka p16 (6H12) je určena k použití při kvalitativním stanovení lidského proteinu p16 světelnou mikroskopií ve tkáni fixované formalínem a zalité v parafínu imunohistochemickým barvením pomocí automatického systému BOND system (zahrmujícího systémy Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system).

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

Souhrn a vysvětlení

Imunohistochemické techniky lze použít k průkazu přítomnosti antigenů ve tkáni a v buňkách (viz „Použití reagenzií BOND“ v uživatelské dokumentaci BOND). Primární protilátka p16 (6H12) je produkt připravený k použití, který byl specificky optimalizován k použití se soupravou BOND Polymer Refine Detection. Průkazu lidského proteinu p16 se dosáhne tím, že se nejprve umožní vazba p16 (6H12) na fezu, a poté se tato vazba vizualizuje pomocí reagenzií 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 reagenzií, manuálního pipetování a použití reagenzií.

Dodávané reagenzie

p16 (6H12) je myši monoklonální protilátka proti lidským antigenům vyráběná jako supernatant z tkáňové kultury a dodávaná ve fyziologickém roztoku pufovaném Tris s přenášejícím proteinem, obsahující jako konzervační prostředek 0,35% ProClin™ 950. Celkový objem = 7 ml.

Klon

6H12

Imunogen

Prokaryotický rekombinantní fúzní protein odpovídající celé lidské molekule p16.

Specifita

Lidský protein p16.

Třída Ig

IgG2b

Koncentrace celkového proteinu

Přibližně 10 mg/ml.

Koncentrace protilátek

5 mg/l nebo vyšší, stanovená metodou ELISA.

Ředění a míchání

Primární protilátka p16 (6H12) 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 reagenzie 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 reagenzií 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 p16 (6H12) 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 reagenziemi 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 reagenzie nepipetujte ústy a zabraňte kontaktu reagenzií a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagenzie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody. Vyhledejte 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.
- Získávání, inkubační doby nebo teploty jiné než specifikované mohou vést k chybným výsledkům. Všechny takové změny musí být uživatelem validovány.

Návod k použití

Primární protilátka p16 (6H12) byla vyvinuta k použití v automatickém systému BOND system (včetně systému Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system) v kombinaci se soupravou BOND Polymer Refine Detection. Protokol doporučeného barvení primární protilátky p16 (6H12) je IHC Protocol F. Teplem indukované odmaskování epitopu se doporučuje s použitím roztoku BOND Epitope Retrieval Solution 2 po dobu 20 minut.

Očekávané výsledky

Normální tkáň

Klon 6H12 detekuje p16 exprimovaný ve velmi omezeném vzoru v určitých buňkách v konkrétních tkáních. Vzor barvení je nukleární, ale ve většině typů buněk, které exprimují protein p16 bylo pozorováno cytoplazmatické barvení. Imunoreaktivita byla pozorována v retikulárním epitelu krypt a folikulárních dendritických buňkách tonzily, ostrůvkových buňkách pankreatu, Leydigových buňkách varlat, roztroušených urothelálních buňkách a v občasných žlázových epitelálních buňkách v endometriu. Občasné slabé barvení bylo pozorováno v antrálních žlázách žaludku, žlázovém epitelu a myoepitelu prsu a v nadledvinách. Bylo rovněž pozorováno barvení makrofágů a některých fibroblastů. Další barvení nebylo zjištěno u různých ostatních normálních tkání (celkový počet normálních tkání = 149).

Nádorové tkáň

Klon 6H12 barvil 30/42 nádorů děložního hrdla (včetně 25/31 dlaždicobuněčných karcinomů děložního hrdla, 2/4 adenokarcinomů děložního hrdla, 2/2 endometrioidních adenokarcinomů, 1/2 endocervikálních karcinomů, 0/2 adenokarcinomů intestinálního typu a 0/1 serózního papilárního karcinomu), 21/39 orofaryngeálních dlaždicobuněčných karcinomů, 3/6 nádorů prsu (včetně 2/4 invazivních ductálních karcinomů a 1/2 fibroadenomů), 2/10 nádorů střev (včetně 2/4 adenokarcinomů tlustého střeva, 0/3 adenokarcinomů rekta, 0/2 adenomů střeva a 0/1 adenokarcinomu tenkého střeva), 2/5 hepatocelulárních karcinomů, 2/5 nádorů hlavy a krku (včetně 1/1 adenokarcinomu dutiny ústní, 1/1 pleomorfního adenomu slinné žlázy, 0/1 adenoidního cystického karcinomu, 0/1 dlaždicobuněčného karcinomu jazyka a 0/1 nasofaryngeálního karcinomu), 2/4 nádorů mozku (včetně 1/3 meningiomů a 1/1 astrocytomu), 2/4 adenokarcinomů žaludku, 2/4 nádorů plic (včetně 1/1 adenokarcinomu, 1/1 malobuněčného karcinomu a 0/2 dlaždicobuněčných karcinomů), 2/3 adenokarcinomu prostaty, 2/2 adenokarcinomů endometria, 1/5 nádorů štítné žlázy (včetně 1/1 folikulárního karcinomu, 0/1 folikulárního papilárního adenokarcinomu a 0/3 adenomů), 1/5 metastatických nádorů, 1/4 dlaždicobuněčných karcinomů jícnu, 1/4 nádorů vaječníku (včetně 1/2 endometrioidních adenokarcinomů, 0/1 nádoru z buněk granulózy a 0/1 adenokarcinomu), 1/2 kostních nádorů (včetně 1/1 chondrosarkomu a 0/1 osteosarkomu) a 1/1 adenokarcinomu pankreatu. Barvení nebylo pozorováno u lymfomů (0/3), nádorů močového měchýře (0/3), nádorů ledvin (0/3), kožních nádorů (0/3), adrenálních nádorů (0/2), seminomů (0/2) a hyperplazie prostaty (0/1). (Celkový počet vyšetřených abnormálních tkání = 162).

Protilátka p16 (6H12) se doporučuje k detekci proteinu p16 v normálních a neoplastických tkáních, jako doplněk ke konvenční histopatologii s použitím neimmunologických histochemických nátěrů.

Omezení specifická pro tento produkt

p16 (6H12) byla společností Leica Biosystems optimalizována pro použití se soupravou BOND Polymer Refine Detection a s pomocnými reagensy BOND. Uživateli, 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 zvýraznění antigenu a musí být stanoveny empiricky. Při optimalizaci podmínek při získávání a dob v protokolu musí být použity reagenzie 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 JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Datum vydání

02 červenec 2019

BOND™ primárna protilátka na priame použitie

p16 (6H12)

Katalógové č.: PA0016

Zamýšľané použitie

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

Monoklonálna protilátka p16 (6H12) je určená na použitie pri kvalitatívnej identifikácii ľudského proteínu p16 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 p16 (6H12) je produkt pripravený na okamžité použitie, ktorý bol špecificky optimalizovaný na použitie so systémom BOND Polymer Refine Detection. Preukázanie ľudského proteínu p16 sa vykonáva tak, že najprv sa umožní väzba prípravku p16 (6H12) 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

p16 (6H12) 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

6H12

Imunogén

Prokaryotický rekombinantný proteín zodpovedajúci celej ľudskej molekule p16.

Špecifita

Ľudský proteín p16.

Trieda Ig

IgG2b

Celková koncentrácia proteínov

Cca 10 mg/ml.

Koncentrácia protilátok

Vyššia alebo rovná 5 mg/l, stanovená metódou ELISA.

Riedenie a miešanie

Primárna protilátka p16 (6H12) je optimálne zriadená 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 p16 (6H12) 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, slizníc a horných dýchacích ciest. Pri manipulácii s činidlami používajte jednorazové rukavice.
- Kartu bezpečnostný údajov materiálov 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 zlikvidovať 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. Vyhládajte lekársku pomoc.

- Likvidáciu prípadných potenciálne toxických súčastí definujú federálne, štátne alebo miestne predpisy.
- Minimalizujte mikrobiálnu kontamináciu čínidiel. V opačnom prípade môže dôjsť k zvýšeniu nespecifického zafarbenia.
- Nedodržanie predpisovaných dôb záchytu, inkubačných dôb alebo teplôt môže viesť k nesprávnym výsledkom. Všetky takéto zmeny si vyžadujú validáciu používateľom.

Návod na použitie

Prímarna protilátka p16 (6H12) bola vytvorená na použitie v automatizovanom systéme BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) v kombinácii so systémom BOND Polymer Refine Detection. Odporúčany protokol farbenia pre primárnu protilátku p16 (6H12) je IHC Protocol F. Záchyt epitopov s tepelnou indukciou sa odporúča s použitím roztoku BOND Epitope Retrieval Solution 2 na 20 minút.

Očakávané výsledky

Normálne tkanivá

Klon 6H12 deteguje proteín p16, ktorý je v určitých bunkách v rámci špecifických tkanív vyjadrený veľmi obmedzeným vzorom. Vzor farbenia je nukleárny, ale cytoplazmické zafarbenie bolo zistené vo väčšine typov buniek, ktoré vyjadrujú proteín p16. Imunoreaktivita bola zistená v retikulovanom epiteli krypt a folikulárných dendritických bunkách manilí, ostrovčekových bunkách v pankrease, Leydigových bunkách v semenníkoch, rozptýlených urotelových bunkách a v priležitostných bunkách žľazového epiteliu v endometriu. Priležitostne slabé zafarbenie bolo pozorované v antrálnych žalúdokových žľazách, glandulárnom epiteli a myoepiteli prsníka a nadobličkách. Bolo tiež pozorované zafarbenie makrofágov a niektorých fibroblastov. V rôznych ďalších normálnych tkanivách nebolo pozorované žiadne zafarbenie (celkový počet normálnych prípadov = 149).

Nádorové tkanivá

Klon 6H12 zafarbil 30/42 prípadov rakoviny krčka maternice (vrátane 25/31 skvamocelulárných karcinómov krčka maternice, 2/4 adenokarcinómov krčka maternice, 2/2 endometrioidných adenokarcinómov, 1/2 endocervikálnych adenokarcinómov, 0/2 adenokarcinómov črevného typu a 0/1 serózných papilárných karcinómov), 21/39 orofaryngálnych skvamocelulárných karcinómov, 3/6 nádorov prsníka (vrátane 2/4 invazívnych duktálnych karcinómov a 1/2 fibroadenómov), 2/10 nádorov čriev (vrátane 2/4 adenokarcinómov hrubého čreva, 0/3 adenokarcinómov konečníka, 0/2 adenómov čriev a 0/1 adenokarcinómov tenkého čreva), 2/5 hepatocelulárných karcinómov), 2/5 nádorov hlavy a krku (vrátane 1/1 adenokarcinómu ústnej dutiny, 1/1 pleomorfného adenómu slinnej žľazy, 0/1 adenoidného cystického karcinómu, 0/1 skvamocelulárneho karcinómu jazyka a 0/1 nazofaryngálneho karcinómu), 2/4 nádorov mozgu (vrátane 1/3 meningiómov a 1/1 astrocytómu), 2/4 adenokarcinómov žalúdka, 2/4 nádorov pľúc (vrátane 1/1 adenokarcinómu a 0/1 malobunkového karcinómu a 0/2 skvamocelulárneho karcinómu), 2/3 adenokarcinómov prostaty, 2/2 adenokarcinómov endometria, 1/5 nádorov štítnej žľazy (vrátane 1/1 folikulárných karcinómov, 0/1 folikulárneho papilárneho adenokarcinómu a 0/3 adenómov), 1/5 metastatických nádorov, 1/4 skvamocelulárných karcinómoch pažeráka, 1/4 nádorov vaječníkov (vrátane 1/2 endometrioidných adenokarcinómov, 0/1 nádoru granulóznych buniek a 0/1 adenokarcinómu), 1/2 nádorov kostí (vrátane 1/1 chondrosarkómu a 0/1 osteosarkómu) a 1/1 adenokarcinómu pankreasu. Nebolo detegované žiadne zafarbenie lymfómov (0/3), nádorov močového mechúra (0/3), nádorov obličiek (0/3), nádorov kože (0/3), nádorov nadobličiek (0/2), seminómov (0/2) a prostatickej hyperplázie (0/1). (Celkový počet abnormálnych vyšetrených prípadov = 162).

p16 (6H12) sa odporúča na detekciu proteínu p16 v normálnych a neoplastických tkanivách ako doplnok konvenčnej histopatológie za použitia neimunologických histochemických farbení.

Špecifické obmedzenia pre tento výrobok

p16 (6H12) bol v spoločnosti Leica Biosystems optimalizovaný na použitie so systémom BOND Polymer Refine Detection a pomocnými činidami BOND. Používatelia, ktorí sa odchýlia 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 zvýraznenia antigénu a musia sa zistiť empiricky. Pri optimalizácii podmienok záchytu a časov podľa protokolov je potrebné použiť negatívne kontroly činidlom.

Riešenie problémov

Pri náprave môže byť nápomocná referencia 3.

Neobvyklé zafarbenie ohláste 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. Schache AG, Powell NG, Cuschieri KS et al. HPV-Related Oropharynx cancer in the United Kingdom: An Evolution in the understanding of disease etiology. Cancer Research. 2016; 76(22): 6598-6606.
5. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int J Cancer. 2001 Apr 15;92(2):276-84.

Dátum vydania

02 júl 2019

