

# BOND™ Ready-to-Use Primary Antibody Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

Catalog No: PA0117

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



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

## Instructions for Use

Please read before using this product.

## Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

## Istruzioni per L'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

## Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

## Instrucciones de Uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

## Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

## Instruktioner vid Användning

Var god läs innan ni använder produkten.

## Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

## Brugsanvisning

Læs venligst før produktet tages i brug.

## Gebruiksaanwijzing

Lezen vóór gebruik van dit product.

## Bruksanvisning

Vennligst les denne før du bruker produktet.

## Kullanım Talimatları

Lütfen bu ürünü kullanmadan önce okuyunuz.

## Инструкции за употреба

Моля, прочетете преди употреба на този продукт.

## Használati utasítás

A termék használatba vétele előtt olvassa el.

## Instrucțiuni de utilizare

Citiți aceste instrucțiuni înainte de a utiliza produsul.

## Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

## Instrukcja obsługi

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

## Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

## Návod k použití

Čtěte před použitím tohoto výrobku.

## Návod na použitie

Prosím, prečítajte si ho pred použitím produktov.

## إرشادات الاستعمال

يُرجى القراءة قبل استخدام هذا المنتج.

## Check the integrity of the packaging before use.

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

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

Vor dem Gebrauch die Verpackung auf

Unversehrtheit überprüfen.

Comprobar la integridad del envase, antes de usarlo.

Verifique a integridade da embalagem antes de utilizar o produto.

Kontrollera att paketet är obrutet innan användning.

Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευασίας πριν από τη χρήση.

Kontroller at pakken er ubeskadiget før brug.

Controleer de verpakking vóór gebruik.

Sjekk at pakningen er intakt før bruk.

Kullanmadan önce ambalajın bozulmamış olmasını kontrol edin.

Проверете целостта на опаковката преди употреба.

Használat előtt ellenőrizze a csomagolás épségét.

Verificați integritatea ambalajului înainte de a utiliza produsul.

Перед применением убедитесь в целостности упаковки.

Przed użyciem należy sprawdzić, czy opakowanie jest szczelne.

Pred uporabo preverite celovitost embalaže.

Před použitím zkontrolujte neporušenost obalu.

Pre použitím skontrolujte, či balenie nie je porušené.

تحقق من سلامة العبوة قبل الاستخدام.



# BOND™ Ready-To-Use Primary Antibody

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

### Catalog No: PA0117

#### Intended Use

This reagent is for *in vitro* diagnostic use.

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) monoclonal antibody is intended to be used for the qualitative identification by light microscopy of human Bcl-2 oncoprotein 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). Bcl-2 (bcl-2/100/D5) primary antibody is a ready to use product that has been specifically optimized for use with BOND Polymer Refine Detection. The demonstration of human Bcl-2 oncoprotein is achieved by first allowing the binding of Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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

bcl-2/100/D5

#### Immunogen

Synthetic peptide sequence (GAAPAPGIFSSQPGC-COOH).

#### Specificity

Human Bcl-2 oncoprotein.

#### Ig Class

IgG1.

#### Total Protein Concentration

Approx 10 mg/mL.

#### Antibody Concentration

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

#### Dilution and Mixing

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) primary antibody is optimally diluted for use on the BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system). Reconstitution, mixing, dilution or titration of this reagent is not required.

#### Materials Required But Not Provided

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

#### Storage and Stability

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

The signs indicating contamination and/or instability of Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 user<sup>1</sup>.

#### 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](http://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 precautions<sup>2</sup>. 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

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 bcl-2/100/D5 stained the cytoplasm and membrane of lymphocytes in mantle zones and T cell areas of lymphoid tissue, but only a few cells in germinal centers. Cytoplasmic, membranous and some perinuclear staining was also noted in a variety of other tissues, including epithelia of prostate, thyroid and breast. (Total Number of cases stained = 96).

### Tumor Tissues

Clone bcl-2/100/D5 stained 94/112 diffuse large B-cell lymphomas, 8/26 Hodgkin's disease, 13/15 follicular lymphomas, 12/12 chronic lymphocytic lymphomas, 7/7 mantle cell lymphomas, 4/6 T-cell anaplastic large cell lymphomas, 4/4 angioimmunoblastic T-cell lymphomas, 2/3 T-cell lymphomas, 2/2 B-cell acute lymphoblastic lymphoma, 1/1 peripheral T-cell lymphoma, and 1/1 marginal zone lymphoma, 1/4 lung tumors (including 1/1 non-small cell carcinoma, 0/1 adenocarcinoma, 0/1 squamous cell carcinoma and 0/1 large cell carcinoma), 2/4 ovarian tumors (including 1/1 serous cystadenocarcinoma, 1/1 clear cell carcinoma, 0/1 malignant germ cell tumor and 0/1 mucinous cystadenocarcinoma), 1/4 liver tumors (including 1/1 metastatic carcinoma, 0/2 hepatocellular carcinomas and 0/1 cholangiocarcinoma), 3/3 thyroid papillary carcinomas, 2/2 breast infiltrating ductal carcinomas, 2/2 metastatic tumors of unknown origin, 1/2 kidney renal cell carcinomas, 1/2 cervical squamous cell carcinomas and 1/1 thymus atypical carcinoid. No staining was observed in T/NK lymphomas (0/3), a primitive B/T cell acute lymphoblastic lymphoma (0/1), brain tumors (0/2), esophageal tumors (0/2), stomach tumors (0/2), tumors of the tongue (0/2), testicular tumors (0/2), tumors of the colon (0/2), rectal tumors (0/2), skin tumors (0/2), soft tissue tumors (0/2) and a tumor of the larynx (0/1). (Total number if tumor cases evaluated = 236).

**Bcl-2 (bcl-2/100/D5) is recommended for the assessment of Bcl-2 oncoprotein expression in normal and neoplastic tissues.**

## Product Specific Limitations

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. *Oncogene*. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijffels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. *Journal of Pathology*. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. *Journal of Pathology*. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *American Journal of Pathology*. 1990; 137(2):225-232.

## Date of Issue

10 September 2018

# Anticorps Primaire Prêt À L'emploi BOND™

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

### Référence: PA0117

#### Utilisation Prévue

Ce réactif est destiné au diagnostic *in vitro*.

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) est un anticorps monoclonal destiné à l'identification qualitative par microscopie optique de l'oncoprotéine humaine Bcl-2 dans des tissus fixés au formol et inclus en paraffine par coloration immunohistochimique en utilisant le système automatisé BOND (comprenant le système Leica BOND-MAX et le système Leica BOND-III).

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

#### Résumé et Explications

Les techniques immunohistochimiques peuvent être utilisées pour la mise en évidence d'antigènes sur tissus ou cellules (voir « Utilisation des réactifs BOND » dans votre manuel d'utilisation BOND). L'anticorps primaire Bcl-2 (bcl-2/100/D5) est prêt à l'emploi et a été spécialement optimisé pour BOND Polymer Refine Detection. La démonstration de l'oncoprotéine humaine Bcl-2 est obtenue en permettant d'abord la liaison de Bcl-2 (bcl-2/100/D5) à la coupe, puis en visualisant cette liaison à l'aide des réactifs fournis dans le système de détection. L'utilisation de ces produits, en combinaison avec le système BOND automatisé (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III), réduit le risque d'erreurs humaines et la variabilité inhérente résultant de la dilution des réactifs individuels, du pipetage manuel et de l'application des réactifs.

#### Réactifs Fournis

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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

bcl-2/100/D5

#### Immunogène

Séquence du peptide de synthèse (GAAPAPGIFSSQPGC-COOH).

#### Spécificité

Oncoprotéine humaine Bcl-2.

#### Classe d'Ig

IgG1

#### Concentration Totale en Protéine

Environ 10 mg/ml.

#### Concentration en Anticorps

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

#### Dilution et Mélange

L'anticorps primaire Bcl-2 (bcl-2/100/D5) est dilué de manière optimale pour une utilisation sur le système BOND (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III). Reconstitution, mélange, dilution et titration de ce réactif non nécessaires.

#### Matériel Nécessaire Mais Non Fournis

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

#### Conservation et Stabilité

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

Une turbidité de la solution, une présence d'odeurs ou de précipité sont des signes indicateurs d'une contamination et/ou d'une instabilité de Bcl-2 (bcl-2/100/D5).

Remettre à 2–8 °C immédiatement après usage.

Des conditions de stockage différentes de celles ci-dessus doivent être contrôlées par l'utilisateur<sup>1</sup>.

#### Précautions

- Ce produit est conçu pour le diagnostic *in vitro*.
- La concentration de ProClin™ 950 est de 0,35 %. Contient du 2-méthyl-4-isothiazoline-3-one (principe actif) et peut entraîner des irritations de la peau, des yeux, des muqueuses et des voies aériennes supérieures. Porter des gants jetables lors de la manipulation des réactifs.
- Pour obtenir une copie de la fiche technique des substances dangereuses, contactez votre distributeur local ou le bureau régional de Leica Biosystems, ou allez sur le site Web de Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- Les échantillons, avant et après fixation, et tous les matériels ayant été en contact avec eux, devraient être manipulés comme s'ils étaient à risque infectieux et éliminés avec les précautions adéquates<sup>2</sup>. Ne jamais pipeter les réactifs à la bouche et éviter le contact de la peau et des muqueuses avec les réactifs ou les échantillons. Si des réactifs ou des échantillons entrent en contact avec des zones sensibles, rincer abondamment à l'eau. Consultez un médecin.
- Renseignez-vous sur les règlements fédéraux, nationaux et locaux pour l'élimination des composés potentiellement toxiques.
- Éviter une contamination microbienne des réactifs qui peut entraîner un marquage non spécifique.
- Des durées ou températures de démasquage ou d'incubation autres que celles spécifiées peuvent donner des résultats erronés. Tout changement doit être validé par l'utilisateur.

## Mode d'emploi

L'anticorps primaire Bcl-2 (bcl-2/100/D5) a été développé pour être utilisé sur le système BOND automatisé (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III) en combinaison avec le BOND Polymer Refine Detection. Le protocole de marquage recommandé pour l'anticorps primaire Bcl-2 (bcl-2/100/D5) est IHC Protocol F. Un démasquage d'épitope par la chaleur est recommandé avec BOND Epitope Retrieval Solution 2 durant 20 minutes.

## Résultats Attendus

### Tissus sains

Le clone bcl-2/100/D5 a coloré le cytoplasme et la membrane des lymphocytes dans la zone du manteau et les zones de cellules T des tissus lymphoïdes, mais seulement quelques cellules des centres germinatifs. Une coloration cytoplasmique, membranaire et dans une certaine mesure périnucléaire a également été constatée dans différents autres tissus, y compris les cellules épithéliales de la prostate, de la thyroïde et du sein. (Nombre total de cas colorés = 96).

### Tissus tumoraux

Le clone bcl-2/100/D5 a coloré 94/112 lymphomes diffus à grandes cellules B, 8/26 maladies de Hodgkin, 13/15 lymphomes folliculaires, 12/12 lymphomes lymphocytaires chroniques, 7/7 lymphomes du manteau, 4/6 lymphomes anaplasiques à grandes cellules T, 4/4 lymphomes à cellules T angioimmunoblastiques, 2/3 lymphomes à lymphocytes T, 2/2 lymphomes lymphoblastiques aigus à lymphocytes B, 1/1 lymphome T périphérique, et 1/1 lymphome de la zone marginale, 1/4 tumeurs du poumon (dont 1/1 carcinome non à petites cellules, 0/1 adénocarcinome, 0/1 carcinome à cellules squameuses et 0/1 carcinome à grandes cellules), 2/4 tumeurs ovariennes (dont 1/1 cystadénocarcinome séreux, 1/1 carcinome à cellules claires, 0/1 tumeur maligne des cellules germinales et 0/1 cystadénocarcinome muqueux), 1/4 tumeurs du foie (dont 1/1 carcinome métastatique, 0/2 carcinomes hépatocellulaires et 0/1 cholangiocarcinome) 3/3 carcinomes papillaires de la thyroïde, 2/2 carcinomes canaux infiltrants du sein, 2/2 tumeurs métastatiques d'origine inconnue, 1/2 carcinomes des cellules rénales, 1/2 carcinomes des cellules squameuses du col utérin et 1/1 tumeur carcinomateuse atypique du thymus. Aucune coloration n'a été observée dans des lymphomes T/NK (0/3), un lymphome lymphoblastique aigu à cellules B/T primitives (0/1), des tumeurs du cerveau (0/2), des tumeurs de l'œsophage (0/2), des tumeurs de l'estomac (0/2), des tumeurs de la langue (0/2), des tumeurs testiculaires (0/2), des tumeurs du côlon (0/2), des tumeurs du rectum (0/2), des tumeurs de la peau (0/2), des tumeurs des tissus mous (0/2) et une tumeur du larynx (0/1). (Nombre total de cas de tumeurs évaluées = 236).

**Bcl-2 (bcl-2/100/D5) est recommandé pour l'évaluation de l'expression de l'oncoprotéine Bcl-2 dans les tissus normaux et néoplasiques.**

## Limites Spécifiques du Produit

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) a été optimisé chez Leica Biosystems pour une utilisation avec BOND Polymer Refine Detection et les réactifs auxiliaires BOND. Les utilisateurs qui ne respectent pas les procédures de test recommandées prennent la responsabilité de l'interprétation des résultats des patients dans ces conditions. Les durées du protocole doivent être déterminées empiriquement, à cause des variations de fixation des tissus et de l'efficacité du renforcement antigénique. Des contrôles négatifs des réactifs devraient être réalisés lors de l'optimisation des conditions de démasquage et des durées du protocole.

## Identification des Problèmes

Voir la référence 3 pour connaître les actions correctrices.

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

## Informations Complémentaires

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

## Bibliographie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. *Oncogene*. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijffels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. *Journal of Pathology*. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. *Journal of Pathology*. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *American Journal of Pathology*. 1990; 137(2):225-232.

## Date de Publication

10 septembre 2018

# Anticorpo Primario Pronto All'uso BOND™

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

N. catalogo: PA0117

### Usò Previsto

Reagente per uso diagnostico *in vitro*.

L'anticorpo monoclonale Bcl-2 (bcl-2/100/D5) si deve utilizzare nell'identificazione qualitativa in microscopia ottica dell'oncoproteina umana Bcl-2 in tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina, sottoposti a colorazione immunostochimica con sistema automatizzato BOND (include i sistemi Leica BOND-MAX e Leica BOND-III).

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

### Sommario e Speigazione

Grazie alle tecniche di immunostochimica è possibile dimostrare la presenza di antigeni nel tessuto e nelle cellule (vedere "Usò dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente BOND). L'anticorpo primario Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 dell'oncoproteina Bcl-2 si ottiene consentendo in primo luogo il legame della Bcl-2 (bcl-2/100/D5) con la sezione e quindi visualizzando il legame stesso per mezzo dei reagenti forniti nel sistema di rilevazione. L'uso di questi prodotti in combinazione con il sistema automatizzato BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III), riduce la possibilità di errori umani e la variabilità inerente derivante dalla diluizione dei reagenti, dal pipettaggio manuale e dall'applicazione dei reagenti.

### Reagenti Forniti

Il Bcl-2 (bcl-2/100/D5) è un anticorpo monoclonale murino anti-umano prodotto come surnatante di coltura tissutale e fornito in soluzione salina tamponata Tris con proteina carrier, contenente 0,35 % di ProClin™ 950 come conservante.

Volume totale = 7 ml.

### Clone

bcl-2/100/D5

### Immunogeno

Sequenza peptide sintetica (GAAPAGIFSSQPGC-COOH).

### Specificità

Oncoproteina umana Bcl-2.

### Classe Ig

IgG1

### Concentrazione Proteica Totale

Circa 10 mg/ml.

### Concentrazione Dell'anticorpo

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

### Diluizione e Miscelazione

L'anticorpo primario Bcl-2 (bcl-2/100/D5) è diluito in modo ottimale per essere usato con il sistema BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III). Non è necessario ricostituire, miscelare, diluire o titolare il reagente.

### Materiale Necessario Non Fornito

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

### Conservazione e Stabilità

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

I segni di contaminazione e/o instabilità del Bcl-2 (bcl-2/100/D5) sono: torbidità della soluzione, formazione di odori e presenza di un precipitato.

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

L'utente deve verificare eventuali condizioni di conservazione diverse da quelle specificate<sup>1</sup>.

### Precauzioni

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

- I campioni, prima e dopo la fissazione, e tutti i materiali esposti ad essi devono essere manipolati come potenziali vettori di infezione e smaltiti con le opportune precauzioni<sup>2</sup>. Non pipettare mai i reagenti con la bocca ed evitare il contatto dei reagenti o dei campioni con la pelle e le membrane mucose. Se un reagente o un campione viene a contatto con zone sensibili, lavare abbondantemente con acqua. Consultare un medico.
- Consultare la normativa nazionale, regionale o locale vigente per lo smaltimento dei componenti potenzialmente tossici.
- Ridurre al minimo la contaminazione microbica dei reagenti per evitare il rischio di una colorazione non specifica.
- Tempi o temperature di incubazione diversi da quelli specificati possono fornire risultati erronei. Ogni eventuale modifica deve essere validata dall'utente.

## Istruzioni per l'uso

L'anticorpo primario Bcl-2 (bcl-2/100/D5) è stato sviluppato per l'uso nei sistemi automatizzati BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III) in combinazione con il BOND Polymer Refine Detection. Il protocollo di colorazione consigliato per l'anticorpo primario Bcl-2 (bcl-2/100/D5) è l'IHC Protocol F. Per lo smascheramento termindotto dell'epitopo si consiglia l'uso della BOND Epitope Retrieval Solution 2 per 20 minuti.

## Risultati Attesi

### Tessuti normali

Il clone bcl-2/100/D5 ha colorato il citoplasma e la membrana dei linfociti nelle zone marginali e nelle zone delle cellule T di tessuto linfoide, ma solo qualche cellula nei centri germinali. Inoltre, vi è una colorazione citoplasmatica, membranosa e in alcuni anchi perinucleare in una vasta gamma di altri tessuti, tra cui epitelio di prostata, tiroide e mammella. (Numero totale di casi colorati = 96).

### Tessuti neoplastici

Il clone bcl-2/100/D5 ha colorato 94/112 linfomi a grandi cellule B diffusi, 8/26 linfomi Hodgkin, 13/15 linfomi follicolari, 12/12 linfomi linfocitici cronici, 7/7 linfomi mantellari, 4/6 linfomi anaplastici a grandi cellule T, 4/4 linfomi angioimmunoblastici a cellule T, 2/3 linfomi a cellule T, 2/2 linfomi linfoblastici acuti a cellule B, 1/1 linfomi a cellule T periferici e 1/1 linfoma della zona marginale, 1/4 tumori al polmone (inclusi 1/1 carcinoma non a piccole cellule, 0/1 adenocarcinoma, 0/1 carcinoma a cellule squamose e 0/1 carcinoma a grandi cellule), 2/4 tumori ovarici (inclusi 1/1 cistadenocarcinoma sieroso, 1/1 carcinoma a cellule chiare, 0/1 tumore a cellule germinali maligne e 0/1 cistoadenocarcinoma mucinoso), 1/4 tumore epatico (inclusi 1/1 carcinoma metastatico, 0/2 carcinomi epatocellulari e 0/1 colangiocarcinoma), 3/3 carcinomi papillari della tiroide, 2/2 carcinomi mammari duttali (infiltranti), 2/2 tumori metastatici di origine sconosciuta, 1/2 carcinomi delle cellule renali, 1/2 carcinomi a cellule squamose cervicali e 1/1 carcinomide atipico del timo. Non è stata osservata alcuna colorazione nei linfomi T/NK (0/3), un linfoma linfoblastico acuto a cellule B/T primitivo (0/1), tumori del cervello (0/2), tumori esofagei (0/2), tumori allo stomaco (0/2), tumori della lingua (0/2), tumori testicolari (0/2), tumori del colon (0/2), tumori rettali (0/2), tumori della pelle (0/2), tumori dei tessuti molli (0/2) e un tumore della laringe (0/1). (Numero totale di casi tumorali esaminati = 236).

**Bcl-2 (bcl-2/100/D5) è raccomandata per la valutazione dell'espressione dell'oncoproteina Bcl-2 nei tessuti normali e neoplastici.**

## Limitazioni Specifiche del Prodotto

Il Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 del protocollo possono variare in base alle variazioni nella fissazione del tessuto e nell'efficienza del potenziamento dell'antigene e devono essere definiti in modo empirico. Nell'ottimizzazione delle condizioni di riconoscimento e dei tempi del protocollo si devono impiegare dei controlli negativi del reagente.

## Soluzione Problemi

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

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

## Ulteriori Informazioni

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

## Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. *Oncogene*. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijffels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. *Journal of Pathology*. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. *Journal of Pathology*. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *American Journal of Pathology*. 1990; 137(2):225-232.

## Data di Pubblicazione

10 settembre 2018



# Gebrauchsfertiger BOND™ -Primärantikörper

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

Bestellnr.: PA0117

### Verwendungszweck

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

Der monoklonale Antikörper Bcl-2 (bcl-2/100/D5) ist zur qualitativen lichtmikroskopischen Bestimmung von humanem Bcl-2-Onkoprotein 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) vorgesehen.

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

### Zusammenfassung und Erläuterung

Immunhistochemische Methoden können dazu verwendet werden, die Anwesenheit von Antigenen in Geweben und Zellen zu demonstrieren (sehen Sie dazu "Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien" in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch). Der Primärantikörper Bcl-2 (bcl-2/100/D5) ist ein gebrauchsfertiges Produkt, das speziell für den Gebrauch mit dem BOND Polymer Refine Detection optimiert wurde. Der Nachweis des humanen Bcl-2-Onkoproteins erfolgt zuerst durch Bindung von Bcl-2 (bcl-2/100/D5) an den Schnitt und die anschließende Darstellung dieser Bindung mithilfe der im Detektionssystem enthaltenen Reagenzien. Die Verwendung dieser Produkte in Kombination mit dem automatisierten BOND-system (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) reduziert die Wahrscheinlichkeit von menschlichem Versagen sowie die inhärente Variabilität, die aus der Verdünnung der einzelnen Reagenzien, der manuellen Pipettierung und der Anwendung der Reagenzien resultieren.

### Mitgelieferte Reagenzien

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) ist ein monoklonaler Maus-anti-Human Antikörper, der aus Zellkulturüberstand hergestellt wurde, in Tris-gepufferter Salzlösung mit einem Trägerprotein geliefert wird und 0,35 % ProClin™ 950 als Konservierungsmittel enthält.

Gesamtvolumen = 7 ml.

### Klon

bcl-2/100/D5

### Immunogen

Synthetische Peptid-Sequenz (GAAPAPGIFSSQPGC-COOH).

### Spezifität

Humanes Bcl-2-Onkoprotein.

### Ig-Klasse

IgG1

### Gesamtproteinkonzentration

Ca. 10 mg/ml.

### Antikörperkonzentration

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

### Verdünnung und Mischung

Der primäre Antikörper Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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. Rekonstitution, Mischen, Verdünnen oder Titrieren dieses Reagenzes ist nicht erforderlich.

### Erforderliche, Aber Nicht Mitgelieferte Materialien

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

### Lagerung und Stabilität

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

Zeichen, die auf eine Kontamination und/oder Instabilität von Bcl-2 (bcl-2/100/D5) hinweisen, sind eine Trübung der Lösung, Geruchsentwicklung, und das Vorhandensein von Präzipitat.

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

Andere als die oben angegebenen Lagerungsbedingungen müssen vom Anwender selbst getestet werden<sup>1</sup>.

### Vorsichtsmaßnahmen

- Dieses Produkt ist für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
- Die Konzentration von ProClin™ 950 beträgt 0,35 %. Es enthält 2-Methyl-4-isothiazolin-3-on als aktiven Bestandteil und kann Reizungen der Haut, Augen, Schleimhäute und oberen Atemwege verursachen. Tragen Sie beim Umgang mit Reagenzien Einweghandschuhe.
- Ein Exemplar des Sicherheitsdatenblattes erhalten Sie von Ihrer örtlichen Vertriebsfirma, von der Regionalniederlassung von Leica Biosystems oder über die Webseite von Leica Biosystems unter [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- Behandeln Sie Präparate vor und nach der Fixierung sowie sämtliche damit in Berührung kommenden Materialien so, als ob sie Infektionen übertragen könnten und entsorgen Sie sie unter Beachtung der entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen<sup>2</sup>. Pipettieren Sie Reagenzien niemals mit dem Mund und vermeiden Sie den Kontakt von Haut oder Schleimhäuten mit Reagenzien oder Präparaten. Falls Reagenzien oder Präparate auf empfindlichen Bereichen in Kontakt kommen, spülen Sie diese mit reichlich Wasser. Holen Sie anschließend ärztlichen Rat ein.
- Beachten Sie bei der Entsorgung potentiell toxischer Bestandteile die behördlichen und örtlichen Vorschriften.
- Mikrobielle Kontaminationen sollten minimiert werden, da es sonst zu einer Zunahme unspezifischer Färbungen kommen kann.
- Die Verwendung anderer als die angegebenen Retrievals, Inkubationszeiten oder Temperaturen kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Diesbezügliche Änderungen müssen vom Anwender selbst getestet werden.

## Gebrauchsanleitung

Der primäre Antikörper Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 Primäranantikörper Bcl-2 (bcl-2/100/D5) ist das IHC Protocol F. Das hitzeinduzierte Epitop-Retrieval wird unter Verwendung der BOND Epitope Retrieval Solution 2 für 20 Minuten empfohlen.

## Erwartete Ergebnisse

### Normale Gewebe

Klon bcl-2/100/D5 führte zu einer Färbung des Zytoplasmas und der Membran der Lymphozyten in Mantelzonen und T-Zellenbereichen des lymphatischen Gewebes, allerdings nur zur Färbung von ein paar Zellen der Keimzentren. Es wurden auch zytoplasmatische, membranöse und einige perinukleäre Färbungen in verschiedenen anderen Geweben entdeckt, einschließlich Epithelien der Prostata, Schilddrüse und Brust. (Anzahl der insgesamt gefärbten Proben = 96).

### Tumorgewebe

Klon bcl-2/100/D5 führte bei 94/112 diffusen, großen B-Zell-Lymphomen, 8/26 Morbus Hodgkin, 13/15 follikulären Lymphomen, 12/12 chronisch lymphozytären Lymphomen, 7/7 Mantelzell-Lymphomen, 4/6 anaplastischen großzelligen T-Zell-Lymphomen, 4/4 angioimmunoblastischen T-Zell-Lymphomen, 2/3 T-Zell-Lymphomen, 2/2 akut-lymphoblastischen B-Zell-Lymphomen, 1/1 peripheren T-Zell-Lymphom und 1/1 Randzonenlymphom, 1/4 Tumoren der Lunge (einschließlich 1/1 nicht-kleinzelligen Karzinom, 0/1 Adenokarzinom, 0/1 Plattenepithelkarzinom und 0/1 großzelligen Karzinom), 2/4 Ovarialtumoren (einschließlich 1/1 serösen Kystadenokarzinom, 1/1 klarzelligen Karzinom, 0/1 malignen Keimzelltumor und 0/1 muzinösen Kystadenokarzinom), 1/4 Lebertumoren (einschließlich 1/1 metastatischen Karzinom, 0/2 hepatozellulären Karzinomen und 0/1 Gallengangskarzinom), 3/3 papillären Schilddrüsenkarzinomen, 2/2 brustinfiltrierenden duktaalen Karzinomen, 2/2 metastatischen Tumoren unbekanntem Ursprungs, 1/2 Nierenzellkarzinomen, 1/2 zervikalen Plattenepithelkarzinomen und 1/1 atypischen Thymuskarzinoid zu einer Färbung. Bei T/NK-Lymphomen (0/3), einem akut-lymphoblastischen Primitiv-B/T-Zell-Lymphom (0/1), Tumoren von Gehirn (0/2), Ösophagus (0/2), Magen (0/2), Züge (0/2), Hoden (0/2), Colon (0/2), Rektum (0/2), Haut (0/2), Weichteilen (0/2) und einem Tumor des Kehlkopfes (0/1) wurde keine Färbung nachgewiesen. (Anzahl der insgesamt untersuchten Tumorgewebeproben = 236).

**Bcl-2 (bcl-2/100/D5) wird für die Bestimmung der Bcl-2-Onkoproteineexpression in normalem und neoplastischem Gewebe empfohlen.**

## Produktspezifische Einschränkungen

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) wurde von Leica Biosystems zur Verwendung mit dem BOND Polymer Refine Detection und BOND-Zusatzreagenzien optimiert. Anwender, die andere als die empfohlenen Testverfahren verwenden, müssen unter diesen Umständen die Verantwortung für die Auswertung der Patientenergebnisse übernehmen. Die Verfahrenszeiten können aufgrund von Unterschieden in der Gewebefixierung und der Wirksamkeit der Antigenverstärkung variieren und müssen empirisch bestimmt werden. Bei der Optimierung der Retrieval-Bedingungen und Verfahrenszeiten sollten negative Reagenzkontrollen verwendet werden.

## Fehlersuche

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

Falls Sie ungewöhnliche 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.

## 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. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. Oncogene. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijffels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. Journal of Pathology. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. Journal of Pathology. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. American Journal of Pathology. 1990; 137(2):225-232.

## Ausgabedatum

10 September 2018

# Anticuerpo Primario Listo Para Usar BOND™

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

### Catálogo N.º.: PA0117

#### Indicaciones de Uso

Este reactivo es para uso diagnóstico *in vitro*.

El anticuerpo monoclonal Bcl-2 (bcl-2/100/D5) está diseñado para la identificación cualitativa mediante microscopía óptica de la oncoproteína Bcl-2 humana en tejidos fijados en formol e incluidos en parafina mediante tinción inmunohistoquímica utilizando el sistema automatizado BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III).

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

#### Resumen y Explicación

Las técnicas inmunohistoquímicas pueden ser utilizadas para detectar la presencia de antígenos en tejidos y células (véase "Uso de reactivos BOND" en la documentación de usuario suministrada por BOND). El anticuerpo primario Bcl-2 (bcl-2/100/D5) es un producto listo para usar que se ha optimizado específicamente para su uso con BOND Polymer Refine Detection. La demostración de la oncoproteína Bcl-2 humana se consigue permitiendo, en primer lugar, la fijación de Bcl-2 (bcl-2/100/D5) al corte y, a continuación, visualizando esta fijación mediante los reactivos que se incluyen en el sistema de detección. La utilización de estos productos, en combinación con el sistema BOND automatizado (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III), reduce las posibilidades de que se produzca un error humano y la variabilidad inherente que resulta de la dilución de un reactivo individual, del pipeteo manual y de la aplicación de un reactivo.

#### Reactivos Suministrados

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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

bcl-2/100/D5

#### Inmunógeno

Secuencia del péptido sintético (GAAPAGIFSSQPGC-COOH).

#### Especificidad

Oncoproteína humana Bcl-2.

#### Clase de Ig

IgG1

#### Concentración Total de Proteína

Aprox. 10 mg/mL.

#### Concentración de Anticuerpos

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

#### Dilución y Mezcla

El anticuerpo primario Bcl-2 (bcl-2/100/D5) se diluye óptimamente para usarse en el sistema BOND (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III). No es necesaria la reconstitución, mezcla, dilución o titulación de este reactivo.

#### Material Necesario Pero No Suministrado

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

#### Conservación y Estabilidad

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

Los signos de contaminación y/o inestabilidad de Bcl-2 (bcl-2/100/D5) son turbidez de la solución, aparición de olor y presencia de precipitado.

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

Si las condiciones de conservación son diferentes de las especificadas, el usuario debe realizar las comprobaciones necesarias<sup>1</sup>.

#### Precauciones

- Este producto es para uso diagnóstico *in vitro*.
- La concentración de ProClin™ 950 es de 0,35 %. Contiene el principio activo 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, que puede producir irritación en la piel, ojos, mucosas y tracto respiratorio superior. Lleve siempre guantes desechables cuando manipule los reactivos.
- Si desea obtener un ejemplar de la Hoja de datos de seguridad de los materiales, póngase en contacto con su distribuidor o con la oficina regional de Leica Biosystems, o visite la página Web de Leica Biosystems en [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- Las muestras, antes y después de ser fijadas, y cualquier material en contacto con ellas, deben ser tratados como sustancias capaces de transmitir infecciones y deben ser eliminadas con las precauciones correspondientes<sup>2</sup>. No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y las mucosas con reactivos o muestras. Si algún reactivo o alguna muestra entra en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante. Consulte a un médico.
- Consulte la normativa federal, nacional o local referente a la eliminación de sustancias potencialmente tóxicas.
- Minimice la contaminación microbiana de los reactivos, ya que puede producir un aumento de las tinciones inespecíficas.
- Los tiempos de exposición e incubación, y las temperaturas diferentes de las especificadas pueden dar resultados erróneos. Cualquier cambio que se produzca deberá ser validado por el usuario.

## Instrucciones de Uso

El anticuerpo primario Bcl-2 (bcl-2/100/D5) se ha desarrollado para usarse en el sistema BOND automatizado (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III) en combinación con la BOND Polymer Refine Detection. El protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo primario Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 bcl-2/100/D5 tiñó el citoplasma y la membrana de linfocitos de las zonas del manto y zonas de células T del tejido linfático, pero sólo unas pocas células de los centros germinales. También se observó tinción citoplásmica, membranosa y perinuclear en diversos otros tejidos, incluyendo los epitelios de próstata, tiroides y mama. (Número total de casos con tinción = 96).

### Tejidos tumorales

El clon bcl-2/100/D5 tiñó 94/112 linfomas difusos de células B grandes, 8/26 enfermedad de Hodgkin, 13/15 linfomas foliculares, 12/12 linfomas linfocíticos crónicos, 7/7 linfomas de células del manto, 4/6 linfomas anaplásicos de células T grandes, 4/4 linfomas angioinmunoblásticos de células T, 2/3 linfomas de células T, 2/2 linfomas linfoblásticos agudos de células B, 1/1 un linfoma periférico de células T y 1/1 linfoma de zona marginal, 1/4 tumores pulmonares (incluyendo 1/1 carcinoma pulmonar amicrocítico, 0/1 adenocarcinoma, 0/1 carcinoma de células escamosas y 0/1 carcinoma de células grandes), 2/4 tumores de ovario (incluyendo 1/1 citadenocarcinoma seroso, 1/1 carcinoma de células claras, 0/1 tumor de células germinales malignas y 0/1 citadenocarcinoma mucinoso), 1/4 tumores hepáticos (incluyendo 1/1 carcinoma metastásico, 0/2 carcinomas hepatocelulares y 0/1 colangiocarcinoma), 3/3 carcinomas papilares tiroideos, 2/2 carcinomas infiltrantes de los conductos mamarios, 2/2 tumores metastásicos de origen desconocido, 1/2 carcinomas de células renales, 1/2 carcinomas de células escamosas del cuello uterino y 1/1 carcinoide atípico del timo. No se observó ninguna tinción en linfomas de células T/NK (0/3), un linfoma linfoblástico agudo primitivo de células B/T (0/1), tumores cerebrales (0/2), tumores esofágicos (0/2), tumores de estómago (0/2), tumores de lengua (0/2), tumores testiculares (0/2), tumores de colon (0/2), tumores rectales (0/2), tumores cutáneos (0/2), tumores del tejido blando (0/2) y un tumor de laringe (0/1). (Número total de casos de tumor evaluados = 236).

**Bcl-2 (bcl-2/100/D5) se recomienda para la evaluación de la expresión de la oncoproteína Bcl-2 en tejidos normales y neoplásicos.**

## Limitaciones Específicas del Producto

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) se ha optimizado en Leica Biosystems para su uso con BOND Polymer Refine Detection y reactivos auxiliares BOND. Los usuarios que se aparten de los procedimientos de análisis recomendados deben asumir la responsabilidad de interpretar los resultados del paciente tomando en cuenta estas circunstancias. Los tiempos de protocolo pueden diferir debido a la variación en la fijación de los tejidos y a la eficacia en la preservación del antígeno, y deben determinarse empíricamente. Se debe utilizar reactivos de control negativos a la hora de optimizar las condiciones de detección y los tiempos de protocolo.

## Resolución de Problemas

Consulte la referencia 3 para ver las acciones correctoras.

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

## Más Información

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

## Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. *Oncogene*. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijffels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. *Journal of Pathology*. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. *Journal of Pathology*. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *American Journal of Pathology*. 1990; 137(2):225-232.

## Fecha de Publicación

10 de septiembre de 2018

# Anticorpo Primário Pronto A Usar BOND™

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

Nº de catálogo: PA0117

### Utilização Prevista

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

O anticorpo monoclonal Bcl-2 (bcl-2/100/D5) é destinado a ser utilizado na identificação qualitativa por microscopia ótica da oncoproteína Bcl-2 humana em tecidos embebidos em parafina e fixados em formalina por coloração imuno-histoquímica usando o sistema BOND automatizado (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III).

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

### Resumo e Explicação

As técnicas de imunohistoquímica podem ser usadas para demonstrar a presença de antígenos em tecidos e células (ver "Usar os Reagentes BOND" na sua documentação do utilizador BOND). O anticorpo primário Bcl-2 (bcl-2/100/D5) consiste num produto pronto usar que foi especificamente otimizado para utilização com BOND Polymer Refine Detection. A demonstração da oncoproteína Bcl-2 humana é conseguida permitindo primeiro a ligação de Bcl-2 (bcl-2/100/D5) ao corte e posterior observação desta ligação utilizando os reagentes fornecidos com o sistema de detecção. O uso destes produtos, combinado com o sistema BOND automatizado (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III), reduz a possibilidade de erro humano e de variação inerente devido à diluição do reagente individual, pipetagem manual e aplicação do reagente.

### Reagentes Fornecidos

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) é um anticorpo monoclonal anti-humano de ratinho produzido como sobrenadante de cultura tecidual e fornecido em solução salina com tampão Tris com proteína transportadora, contendo 0,35 % de ProClin™ 950 como conservante.

Volume total = 7 mL.

### Clone

bcl-2/100/D5

### Imunogénio

Sequência peptídica sintética (GAAPAPGIFSSQPGC-COOH).

### Especificidade

Oncoproteína Bcl-2 humana.

### Classe De Ig

IgG1

### Concentração de Proteínas Totais

Aproximadamente 10 mg/mL.

### Concentração de Anticorpos

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

### Diluição e Mistura

O anticorpo primário Bcl-2 (bcl-2/100/D5) é devidamente diluído para uso no sistema BOND (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III). Não é necessária reconstituição, mistura, diluição ou titulação deste reagente.

### Materiais Necessários Mas Não Fornecidos

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

### Armazenamento e Estabilidade

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

Os sinais que indicam contaminação e/ou instabilidade de Bcl-2 (bcl-2/100/D5) são: turvação da solução, desenvolvimento de odor e presença de precipitado.

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

Condições de armazenamento diferentes das acima especificadas devem ser confirmadas pelo utilizador <sup>1</sup>.

### Precauções

- Este produto destina-se a utilização diagnóstica *in vitro*.
- A concentração de ProClin™ 950 é de 0,35 %. Contém o ingrediente activo 2-metil-4-isotiazolina-3-a e pode provocar irritação da pele, olhos, membranas mucosas e vias aéreas superiores. Use luvas descartáveis quando manipular os reagentes. Use luvas descartáveis quando manipular os reagentes.
- Para obter uma cópia da Ficha de Dados de Segurança do Material, entre em contacto com o seu distribuidor local ou sucursal regional da Leica Biosystems ou, em alternativa, visite o site da Leica Biosystems na internet, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- As amostras, antes e depois da fixação, e todo o material que a elas seja exposto, devem ser manipulados como se fossem capazes de transmitir infecção e eliminados usando as precauções adequadas<sup>2</sup>. Nunca pipete reagentes com a boca e evite o contacto entre a pele e membranas mucosas com reagentes ou amostras. Se reagentes ou amostras entrarem em contacto com os olhos, lave-os com uma quantidade abundante de água. Consultar um médico.
- Consulte os regulamentos federais, estaduais e locais relativamente à eliminação de quaisquer componentes potencialmente tóxicos.
- Minimize a contaminação microbiana dos reagentes ou poderá ocorrer um aumento da coloração inespecífica.
- A utilização de tempos e temperaturas de recuperação e incubação diferentes dos especificados pode produzir resultados erróneos. Qualquer alteração deste tipo deve ser validada pelo utilizador.

## Instruções de Utilização

O anticorpo primário Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 Bcl-2 (bcl-2/100/D5) é o IHC Protocol F. Recomenda-se a recuperação de epítomos induzida por calor utilizando a BOND Epitope Retrieval Solution 2 durante 20 minutos.

## Resultados Esperados

### Tecidos normais

Clone bcl-2/100/D5 corou o citoplasma e a membrana de linfócitos em zonas do manto e nas áreas de células T do tecido linfóide, mas apenas algumas células nos centros germinais. Foi também observada coloração citoplásmica, membranosa e alguma perinuclear numa variedade de outros tecidos, incluindo epitélios da próstata, tireoide e mama. (Número total de casos corados = 96).

### Tecidos tumorais

Clone bcl-2/100/D5 corou 94/112 linfomas de células B grandes difusas, 8/26 doença de Hodgkin, 13/15 linfomas foliculares, 12/12 linfomas linfocíticos crónicos, 7/7 linfomas das células da manta, 4/6 linfomas das células grandes anaplásicas de células T, 4/4 linfomas das células T angioimunoblásticas, 2/3 linfomas das células T, 2/2 linfoma linfoblástico agudo das células B, 1/1 linfoma periférico das células T, e 1/1 linfoma da zona marginal, 1/4 tumores pulmonares (incluindo 1/1 carcinoma das células não pequenas, 0/1 adenocarcinoma, 0/1 carcinoma de células escamosas e 0/1 carcinoma e células grandes), 2/4 tumores dos ovários (incluindo 1/1 cistadenocarcinoma seroso, 1/1 carcinoma de células claras, 0/1 tumor maligno das células germinais e 0/1 cistadenocarcinoma mucinoso), 1/4 tumores hepáticos (incluindo 1/1 carcinoma metastático, 0/2 carcinomas hepatocelulares e 0/1 colangiocarcinoma), 3/3 carcinomas papilares da tireoide, 2/2 carcinomas ductais infiltrativos da mama, 2/2 tumores metastáticos de origem desconhecida, 1/2 carcinomas das células renais nos rins, 1/2 carcinomas das células escamosas da cervical e 1/1 carcinoide atípico do timo. Não foi observada coloração em linfomas T/NK (0/3), um linfoma primário linfoblástico agudo das células B/T (0/1), tumores cerebrais (0/2), tumores do esfôago (0/2), tumores do estômago (0/2), tumores da língua(0/2), tumores testiculares (0/2), tumores do cólon (0/2), tumores do reto (0/2), tumores da pele (0/2), tumores dos tecidos moles (0/2) e um tumor da laringe (0/1). (Número total de casos de tumores avaliados = 236).

**O Bcl-2 (bcl-2/100/D5) está recomendado para a avaliação da expressão da oncoproteína Bcl-2 em tecidos normais e neoplásicos.**

## Informações Específicas do Produto

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) foi otimizada na Leica Biosystems para utilização com a BOND Polymer Refine Detection e reagentes auxiliares BOND. Utilizadores que se desviem dos procedimentos de teste recomendados devem assumir a responsabilidade pela interpretação dos resultados dos doentes nestas circunstâncias. Os tempos de protocolo podem variar, devido a variações na fixação tecidular e na eficácia de valorização com antígenos, devendo ser determinados de forma empírica. Os controlos de reagente negativos devem ser usados quando se optimizam as condições de recuperação e os tempos do protocolo.

## Resolução de Problemas

Consulte a referência 3 para ações de resolução.

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

## Informações Adicionais

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

## Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. *Oncogene*. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijffels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. *Journal of Pathology*. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. *Journal of Pathology*. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *American Journal of Pathology*. 1990; 137(2):225-232.

## Data de Emissão

10 de Setembro de 2018

# BOND™ Primär antikropp - färdig att användas

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

### Artikelnummer: PA0117

#### Användningsområde

Reagenset är avsett för *in vitro*-diagnostik.

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) monoklonal antikropp är avsedd att användas för kvalitativ identifiering av humant Bcl-2-onkoprotein i formalinfixerad, paraffinbäddad vävnad genom ljusmikroskopi och immunohistokemisk färgning med användning av det automatiserade BOND-systemet (omfattar Leica BOND-MAX-systemet och Leica BOND-III-systemet).

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

#### Förklaring och Sammanfattning

Immunhistokemiska tekniker kan användas för att påvisa antigener i vävnader och celler (se "Använda BOND-reagens" i BOND användar- dokumentationen). Bcl-2 (bcl-2/100/D5) primär antikropp är en produkt, färdig att användas, som har optimerats specifikt för att användas med BOND Polymer Refine Detection. Humant Bcl-2-onkoprotein påvisas genom att först låta Bcl-2 (bcl-2/100/D5) bindas till snittet och därefter visualisera denna bindning med hjälp av de reagenser som tillhandahålls 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.

#### Ingående Reagenser

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) är en mus anti-human monoklonal antikropp, producerad som supernatant från cellkultur. Den levereras i trisbuffrad koksaltlösning med bärarprotein. Lösningen innehåller 0,35 % ProClin™ 950 som konserveringsmedel.

Total volym = 7 ml.

#### Klon

bcl-2/100/D5

#### Immunogen

Syntetisk peptidsekvens (GAAPAPGIFSSQPGC-COOH).

#### Specifitet

Humant Bcl-2-onkoprotein.

#### Ig-klass

IgG1

#### Total Proteinkoncentration

Omkring 10 mg/ml.

#### Antikroppskoncentration

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

#### Spädning och Blandning

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) primär antikropp är optimalt utspädd för att användas på BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III). Denna reagens behöver inte rekonstitueras, blandas, spädas eller titreras.

#### Nödvändig Materiel Som Ej Medföljer

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

#### Förvaring och Stabilitet

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

Tecken på kontaminering och/eller instabilitet hos Bcl-2 (bcl-2/100/D5) är grumling i lösningen, luktutveckling och förekomst av fällning. Ställ tillbaka i 2–8 °C omedelbart efter användning.

Andra förvaringsbetingelser än de ovan angivna måste verifieras av användaren<sup>1</sup>.

#### Säkerhetsföreskrifter

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

- Prover, både före och efter fixeringen, och allt material som använts tillsammans med dem ska hanteras som infektiöst avfall enligt gängse praxis<sup>2</sup>. Pipettera aldrig reagenser med munnen och undvik att reagenser eller prover kommer i kontakt med hud och slemhinnor. Om reagenser eller prover kommer i kontakt med känsliga områden, sköj med stora mängder vatten. Sök läkarvård.
- Angående avfallshantering av potentiellt toxiska material hänvisar vi till gällande europeiska, nationella och lokala bestämmelser och förordningar.
- Minimera mikrobiologisk kontamination av reagens, annars kan en ökad icke-specifik infärgning bli resultatet.
- Återvinande och andra inkubationstider eller temperaturer än de angivna kan ge felaktiga resultat. Sådana förändringar ska valideras av användaren.

## Instruktioner vid Användning

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) primär antikropp har utveckats för att användas på det automatiska BOND-systemet (som innefattar systemen Leica BOND-MAX och Leica BOND-III) i kombination med BOND Polymer Refine Detection. Rekommenderat färgningsprotokoll för Bcl-2 (bcl-2/100/D5) primär antikropp är IHC Protocol F. Värmeinducerat epitop-retrieval rekommenderas med användande av BOND Epitope Retrieval Solution 2 i 20 minuter.

## Förväntade Resultat

### Normala vävnader

Klon bcl-2/100/D5 färgade cytoplasman och membranerna hos lymfocyter i mantelzoner och T cellsområden i lymfoid vävnad, men endast ett fåtal celler i germinala centra. Cytoplasmisk, membranös och lite perinukleär färgning observerades också i ett flertal andra vävnadstyper, inklusive epitel från prostata, sköldkörtel och bröst. (Totalt antal fall som infärgades = 96).

### Tumörvävnader

Klon bcl-2/100/D5 färgade 94/112 diffusa storcelliga B-cellslymfom, 8/26 Hodgkins sjukdom, 13/15 follikulära lymfom, 12/12 kroniska lymfocytiska lymfom, 7/7 mantelcellslymfom, 4/6 anaplastiska storcelliga T-cellslymfom, 4/4 angioimmunoblastiska T-cellslymfom, 2/3 T-cellslymfom, 2/2 akut lymfoblastiskt B-cellslymfom, 1/1 perifert T-cellslymfom och 1/1 marginalzonlymfom, 1/4 lungtumörer (inklusive 1/1 icke-småcelligt karcinom, 0/1 adenokarcinom, 0/1 skivepitelkarcinom och 0/1 storcelligt karcinom), 2/4 äggstockstumörer (inklusive 1/1 seröst cystadenokarcinom, 1/1 klarcellskarcinom, 0/1 malign germinaltumör och 0/1 mucinöst cystadenokarcinom), 1/4 levertumörer (inklusive 1/1 metastatiskt karcinom, 0/2 hepatocellulära karcinom och 0/1 kolangiokarcinom), 3/3 papillärkarcinom i sköldkörteln, 2/2 bröstinfiltrerande ductala karcinom, 2/2 metastatiska tumörer av okänt ursprung, 1/2 njurcellskarcinom i njure, 1/2 skivepitelkarcinom i livmoderhals och 1/1 atypisk karcinoid i thymus. Ingen färgning observerades i T/NK-cellslymfom (0/3), ett primitivt akut lymfoblastiskt B/T-cellslymfom (0/1), hjärntumörer (0/2), esofagustumörer (0/2), magsäckstumörer (0/2), tungtumörer (0/2), testikeltumörer (0/2), kolontumörer (0/2), rektaltumörer (0/2), hudtumörer (0/2), mjukvävnadstumörer (0/2) och en larynxtumör (0/1). (Totalt antal utvärderade tumörfall = 236).

**Bcl-2 (bcl-2/100/D5) rekommenderas för bedömning av Bcl-2-onkoproteinuttryck i normala och neoplastiska vävnader.**

## Specifika Begränsningar För Produkten

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) har optimerats vid Leica Biosystems för att användas med BOND Polymer Refine Detection och BOND hjälpreagenser. Användare som avviker från rekommenderat testförfarande måste vid ändrade förhållanden ta ansvar för tolkningen av patientresultaten. Protokolliderna kan variera på grund av variationer i vävnadsfixering och hur effektivt antigenet intensifieras, och ska fastställas empiriskt. Negativa reagenskontroller ska användas då förhållanden för återvinande och protokollider optimeras.

## Felsökning

Se referens 3 för förslag till åtgärder.

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

## Mer information

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

## Litteraturförteckning

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. *Oncogene*. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijffels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. *Journal of Pathology*. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. *Journal of Pathology*. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *American Journal of Pathology*. 1990; 137(2):225-232.

## Utgivningsdatum

10 september 2018



# Έτοιμο Για Χρήση Πρωτογενές Αντίσωμα BOND™

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

### Αρ. καταλόγου: PA0117

#### Σκοπός Χρήσης

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

Το μονοκλωνικό αντίσωμα Bcl-2 (bcl-2/100/D5) προορίζεται για χρήση στην ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός της ανθρώπινης ογκοπρωτεΐνης Bcl-2 σε ιστό μονιμοποιημένο με φορμαλίνη και ενσωματωμένο σε παραφίνη μέσω ανοσοϊστοχημικής χρώσης, χρησιμοποιώντας το αυτοματοποιημένο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III).

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

#### Περιληψη Και Επεξήγηση

Για την κατάδειξη της παρουσίας αντιγόνων στον ιστό και στα κύτταρα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ανοσοϊστοχημικές τεχνικές (δείτε την ενότητα "Χρήση αντιδραστηρίων BOND" στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης της BOND). Το πρωτογενές αντίσωμα Bcl-2 (bcl-2/100/D5) είναι ένα έτοιμο για χρήση προϊόν που έχει βελτιστοποιηθεί ειδικά για χρήση με το BOND Polymer Refine Detection. Η κατάδειξη της ανθρώπινης ογκοπρωτεΐνης Bcl-2 επιτυγχάνεται πρώτα επιτρέποντας τη δέσμευση του Bcl-2 (bcl-2/100/D5) στην τομή, και κατόπιν οπτικοποιώντας αυτήν τη δέσμευση με χρήση των αντιδραστηρίων που παρέχονται στο σύστημα ανίχνευσης. Η χρήση αυτών των προϊόντων, σε συνδυασμό με το αυτοματοποιημένο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III), μειώνει τις πιθανότητες ανθρώπινου λάθους και την εγγενή μεταβλητότητα που προκαλούνται από τις αραιώσεις των επιμέρους αντιδραστηρίων, τη χειροκίνητη διανομή με πιπέτα και την εφαρμογή των αντιδραστηρίων.

#### Αντιδραστήρια Που Παρέχονται

Η Bcl-2 (bcl-2/100/D5) είναι ένα μονοκλωνικό αντι-ανθρώπινο αντίσωμα που παράγεται ως υπερκείμενο ιστοκαλλιέργειας και παρέχεται σε αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα Tris με πρωτεΐνη φορέα που περιέχει 0,35 % ProCln™ 950 ως συντηρητικό.

Συνολικός όγκος = 7 mL.

#### Κλώνος

bcl-2/100/D5

#### Ανοσογόνο

Αλληλουχία συνθετικού πεπτιδίου (GAAPAPGIFSSQPGC-COOH).

#### Ειδικότητα

Ανθρώπινη ογκοπρωτεΐνη Bcl-2.

#### Τάξη Ig

IgG1

#### Συνολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης

Περίπου 10 mg/mL.

#### Συγκέντρωση Αντισώματος

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

#### Αραίωση Και Ανάμειξη

Το πρωτογενές αντίσωμα Bcl-2 (bcl-2/100/D5) έχει αραιωθεί ιδανικά για χρήση στο σύστημα BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III). Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμειξη, αραίωση ή πιλοδότηση του αντιδραστηρίου αυτού.

#### Υλικά Που Απαιτούνται Αλλά Δεν Παρέχονται

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

#### Φύλαξη Και Σταθερότητα

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

Οι ενδείξεις που υποδηλώνουν μόλυνση ή/και αστάθεια της Bcl-2 (bcl-2/100/D5) είναι: θολερότητα του διαλύματος, ανάπτυξη οσμής και παρουσία ιζήματος.

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

Συνθήκες φύλαξης εκτός από αυτές που καθορίζονται παραπάνω πρέπει να επαληθεύονται από τον χρήστη<sup>1</sup>.

#### Προφυλάξεις

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

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

## Οδηγίες Χρήσης

Το πρωτογενές αντίσωμα Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 συνιστώμενο πρωτόκολλο χρώσης για το πρωτογενές αντίσωμα Bcl-2 (bcl-2/100/D5) είναι το IHC Protocol F. Συνιστάται ανάκτηση επιτόπου επαγόμενη με θερμότητα χρησιμοποιώντας το BOND EpiTope Retrieval Solution 2 για 20 λεπτά.

## Αναμενόμενα Αποτελέσματα

### Φυσιολογικοί ιστοί

Με τον κλώνο bcl-2/100/D5 χρωματίστηκε το κυτταροπλασμα και η μεμβράνη λεμφοκυττάρων στις ζώνες του μανδύα και τις περιοχές T κυττάρων του λεμφοειδούς ιστού, αλλά λίγα μόνο κύτταρα στα βλαστικά κέντρα. Σημειώθηκε επίσης κυτταροπλασματική, μεμβρανώδης και κάποιια περιπυρηνική χρώση σε ποικιλία άλλων ιστών, μεταξύ των οποίων τα επιθήλια του προστάτη, ο θυρεοειδής αδένας και ο μαστός. (Συνολικός αριθμός φυσιολογικών περιστατικών που χρωματίστηκαν = 96).

### Νεοπλασματικοί ιστοί

Με τον κλώνο bcl-2/100/D5 χρωματίστηκαν 94/112 διάχτυα μεγαλοκυτταρικά λεμψώματα B κυττάρων, 8/26 νόσος του Hodgkin, 13/15 θηλακιοδη λεμψώματα, 12/12 χρόνια λεμφοκυτταρικά λεμψώματα, 7/7 λεμψώματα από το κύτταρο του μανδύα, 4/6 αναπλαστικά μεγαλοκυτταρικά λεμψώματα T κυττάρων, 4/4 αγγειοασοσβλαστικά λεμψώματα T κυττάρων, 2/3 λεμψώματα T κυττάρων, 2/2 οξεία λεμφοβλαστικά λεμψώματα B κυττάρων, 1/1 περιφερικό λέμφωμα T κυττάρων και 1/1 λέμφωμα περιφεριακής ζώνης, 1/4 όγκοι του πνεύμονα (μεταξύ των οποίων 1/1 μη μικροκυτταρικό καρκίνωμα, 0/1 αδενοκαρκίνωμα, 0/1 ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα και 0/1 μεγαλοκυτταρικό καρκίνωμα), 2/4 όγκοι των ωοθηκών (μεταξύ των οποίων 1/1 ορικός κυσταδενοκαρκίνωμα), 1/1 όγκοι του ήπατος (μεταξύ των οποίων 1/1 μεταστατικό καρκίνωμα, 0/2 ηπατοκυτταρικά καρκινώματα και 0/1 χολαγγειοκαρκίνωμα), 3/3 θηλώδη καρκινώματα του θυρεοειδούς, 2/2 διηθητικά πορογενή καρκινώματα του μαστού, 2/2 μεταστατικοί όγκοι ανώστου πρότελου, 1/2 νεφροκυτταρικά καρκινώματα, 1/2 ακανθοκυτταρικά καρκινώματα του τραχήλου και 1/1 άτυπος καρκινοειδής όγκος του θύμου αδένος. Δεν παρατηρήθηκε χρώση σε λεμφώματα T/NK κυττάρων (0/3), ένα πρωτοπαθές οξύ λεμφοβλαστικό λέμφωμα B/TNK κυττάρων (0/1), όγκους του εγκεφάλου (0/2), όγκους του σισαφάνου (0/2), όγκους του στομάχου (0/2), όγκους της γλίσσας (0/2), όγκους των ορχέων (0/2), όγκους του κώλου (0/2), όγκους του ορθού (0/2), όγκους του δέρματος (0/2), όγκους μαλακών μοριών (0/2) και έναν όγκο του λάρυγγα (0/1). (Συνολικός αριθμός περιστατικών με νεοπλασματικούς ιστούς που αξιολογήθηκαν = 236).

**Το Bcl-2 (bcl-2/100/D5) συνιστάται για χρήση στην ανίχνευση της έκφρασης της ογκοπρωτεΐνης Bcl-2 σε φυσιολογικούς και νεοπλασματικούς ιστούς.**

## Ειδικοί Περιορισμοί Του Προϊόντος

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) έχει βελτιστοποιηθεί στην Leica Biosystems για χρήση με το BOND Polymer Refine Detection και τα βοηθητικά αντιδραστήρια BOND. Χρήσεις που αποκλίνουν από τις συνιστώμενες διαδικασίες εξέτασης πρέπει να αποδέχονται την ευθύνη για ερμηνεία των αποτελεσμάτων ασθενών υπό τις συνθήκες αυτές. Οι χρόνοι του πρωτοκόλλου ενδέχεται να διαφέρουν, λόγω της μεταβλητότητας της μονιμοποίησης του ιστού και της αποτελεσματικότητας ενίσχυσης των αντιγόνων και πρέπει να προσδιορίζονται εμπειρικά. Κατά τη βελτιστοποίηση των συνθηκών ανάκτησης και των χρόνων πρωτοκόλλου, πρέπει να χρησιμοποιούνται αρνητικοί μάρτυρες αντιδραστηρίων.

## Αντιμετώπιση Προβλημάτων

Σχετικά με τις διορθωτικές ενέργειες, ανατρέξτε στην παραπομπή 3.

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

## Πρόσθετα Βληροφορίες

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

## Βιβλιογραφία

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. Oncogene. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijffels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. Journal of Pathology. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. Journal of Pathology. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. American Journal of Pathology. 1990; 137(2):225-232.

## Ημερομηνία Έκδοσης

10 Σεπτεμβρίου 2018

# BOND™ Brugsklart Primaert Antistof

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

### Katalognummer.: PA0117

#### Tilsigtet Anvendelse

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

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) monoklonalt antistof er beregnet til brug til kvalitativ identifikation ved hjælp af lysmikroskopi af humant Bcl-2-onkoprotein i formalinfixeret, paraffinstøbt væv ved immunhistokemisk farvning ved anvendelse af det automatiske BOND-system (bestående af Leica BOND-MAX system og Leica BOND-III system).

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

#### Resumé og Forklaring

Immunhistokemiske teknikker kan anvendes til at påvise tilstedeværelse af antigener i væv og celler (se "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugerdokumentationen). Bcl-2 (bcl-2/100/D5) primært antistof er et brugsklart produkt, som er blevet optimeret specielt til brug sammen med BOND Polymer Refine Detection. Påvisningen af humant Bcl-2-onkoprotein sker ved først at muliggøre, at Bcl-2 (bcl-2/100/D5) binder til snittet, og derefter visualisere denne binding ved brug af de reagenser, der følger med detektionssystemet. Brugen af disse produkter sammen med det automatiske BOND-system (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) reducerer risikoen for menneskelige fejl og de indbyggede variationer, som opstår ved individuel reagensfortynding, manual pipettering og reagensapplisering.

#### Leverede Reagenser

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) er et murint antihumant monoklonalt antistof produceret som en vævskultursupernatant og leveret i Tris-bufferjusteret saltvandsopløsning med bæreprøtein indeholdende 0,35 % ProClin™ 950 som konserveringsmiddel.

Totalt volumen = 7 ml.

#### Klon

bcl-2/100/D5

#### Immunogen

Syntetisk peptidsekvens (GAAPAPGIFSSQPGC-COOH).

#### Specifitet

Humant Bcl-2-onkoprotein.

#### Ig-klasse

IgG1

#### Total Proteinkoncentration

Ca. 10 mg/ml.

#### Antistofkoncentration

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

#### Fortynding og Blanding

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) primært antistof er fortyndet optimalt med henblik på brug i BOND-systemet (bestående af Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet). Rekonstitution, blanding, fortynding eller titrering af dette reagens er ikke påkrævet.

#### Nødvendige Materialer, der ikke Medfølger

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

#### Opbevaring og Stabilitet

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

De tegn, der indikerer, at Bcl-2 (bcl-2/100/D5) er kontamineret og/eller ustabil, omfatter turbiditet af opløsningen, lugtudvikling og tilstedeværelse af præcipitat.

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

Opbevaringsbetingelser, der adskiller sig fra de oven for specificerede, skal verificeres af brugeren<sup>1</sup>.

#### Forholdsregler

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

- Præparater, både før og efter fiksering, samt alle øvrige materialer, der eksponeres for disse, skal håndteres som værende i stand til at overføre infektion og skal bortskaffes under iagttagelse af passende forholdsregler<sup>2</sup>. Afipipetter ikke reagenser med munden, og undgå at reagenser og præparater kommer i kontakt med hud og slimhinder. Hvis reagenser eller præparater kommer i kontakt med følsomme områder, skal disse vaskes med rigelige mængder vand. Søg læge.
- Bortskaffelse af potentielt toksiske komponenter skal ske i overensstemmelse med gældende statslig eller lokal lovgivning.
- Mikrobiel kontamination af reagenser skal minimeres for at undgå en øget ikke-specifik farvning.
- Genfinding, inkubationstider eller -temperaturer ud over de specificerede kan give fejlagtige resultater. Enhver ændring af denne art skal valideres af brugeren.

## Brugsanvisning

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 Bcl-2 (bcl-2/100/D5) primært antistof er IHC Protocol F. Varmeinduceret epitopgenfinding anbefales ved hjælp af BOND Epitope Retrieval Solution 2 i 20 minutter.

## Forventede Resultater

### Normala væv

Klon bcl-2/100/D5 farvede cytoplasma og membran af lymfocytter i mantle-zoner og T-celleområder af lymfevæv, men kun nogle få celler i germinalcentre. Cytoplasmatiske, membranøse og nogen perinuklear farvning sås endvidere i forskellige andre væv, herunder epitel i prostata, thyreoidea og bryst. (Samlet antal farvede tilfælde = 96).

### Tumorvæv

Klon bcl-2/100/D5 farvede 94/112 diffuse storcellede B-cellelymfomer, 8/26 Hodgkins sygdom, 13/15 follikulære lymfomer, 12/12 kroniske lymfocytiske lymfomer, 7/7 mantle-cellelymfomer, 4/6 anaplastiske storcellede T-cellelymfomer, 4/4 angioimmunoblastiske T-cellelymfomer, 2/3 T-cellelymfomer, 2/2 akutte lymfoblastiske B-cellelymfomer, 1/1 perifert T-cellelymfom og 1/1 marginalzonelymfom, 1/4 lungetumorer (herunder 1/1 ikke-småcellet karcinom, 0/1 adenokarcinom, 0/1 pladecellekarcinom og 0/1 storcellet karcinom), 2/4 ovarietumorer (herunder 1/1 serøst cystadenokarcinom, 1/1 clear cell-karcinom, 0/1 malign kimcelletumor og 0/1 mucinøst cystadenokarcinom), 1/4 levertumorer (herunder 1/1 metastatisk karcinom, 0/2 hepatocellulære karcinomer og 0/1 cholangiokarcinom), 3/3 papillære thyreoideakarcinomer, 2/2 infiltrerende ductale brystkarcinomer, 2/2 metastatiske tumorer af ukendt oprindelse, 1/2 nyrecellekarcinomer, 1/2 cervikale pladecellekarcinomer og 1/1 atypisk karcinoid i thymus. Der sås ingen farvning af T/NK-lymfomer (0/3), et primitivt akut lymfoblastisk B/T-cellelymfom (0/1), hjernetumorer (0/2), øsophageale tumorer (0/2), mavetumorer (0/2), tumorer i tungen (0/2), testikeltumorer (0/2), tumorer i colon (0/2), rektale tumorer (0/2), hudtumorer (0/2), bløddelstumorer (0/2) og en tumor i larynx (0/1). (Samlet antal evaluerede tumortilfælde = 236).

### Bcl-2 (bcl-2/100/D5) anbefales til vurdering af ekspressionen af Bcl-2-onkoprotein i normale og neoplastiske væv.

## Produktspecifikke Begrænsninger

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) er blevet optimeret hos Leica Biosystems til brug sammen med BOND Polymer Refine Detection og BOND-hjælperagenser. Brugere, som afviger fra anbefalede test procedurer, må selv tage ansvaret for tolkningen af patientresultater under disse betingelser. Protokolliderne kan variere på grund af variationer i vævsfiksering og effektiviteten af antigenforbedring og skal bestemmes empirisk. Der skal anvendes negative reagenskontroller ved optimering af genfindingsbetingelser og protokollider.

## Fejlfinding

Der henvises til reference 3 for afhjælpende foranstaltninger.

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

## Yderligere Oplysninger

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

## Bibliografi

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. *Oncogene*. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijffels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. *Journal of Pathology*. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. *Journal of Pathology*. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *American Journal of Pathology*. 1990; 137(2):225-232.

## Udgivelsesdato

10 september 2018

# BOND™ Klaar Voor Primaire Antilichaam te Gebruiken

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

### Catalogusnummer.: PA0117

#### Beoogd Gebruik

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

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) monoklonaal antilichaam is bedoeld voor gebruik bij de kwalitatieve identificatie, door middel van lichtmicroscopie, van humane Bcl-2-oncoproteïne in met formaline gefixeerd, in paraffine ingebed weefsel, door immunohistochemische kleuring met gebruik van het automatische BOND-systeem (het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem).

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

#### Samenvatting en Uitleg

Immunohistochemische technieken kunnen gebruikt worden om de aanwezigheid van antilichamen in weefsel en cellen aan te tonen (zie "BOND-reagentia gebruiken" in de gebruikersdocumentatie van BOND). Bcl-2 (bcl-2/100/D5) primaire antilichaam is een klaar voor gebruik product dat speciaal geoptimaliseerd is voor het gebruik met BOND Polymer Refine Detection. Humane Bcl-2-oncoproteïne wordt aangeleverd door eerst Bcl-2 (bcl-2/100/D5) aan de coupe te laten binden en daarna die binding te visualiseren met behulp van de reagentia die in het detectiesysteem worden geleverd. Door deze producten te gebruiken in combinatie met het geautomatiseerde BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem) neemt de kans op menselijke fouten af en zijn er ook minder afwijkingen voortvloeiende uit de individuele reagensverduunning, het handmatig pipetteren en de reagenstoepassing.

#### Meegeleverde Reagentia

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) is een anti-monoklonaal muisantilichaam geproduceerd als een supernatant van de weefselweek, en wordt geleverd in Tris gebufferde saline met draagproteïne, en bevat 0,35 % ProClin™ 950 als conserveringsmiddel.

Totale volume = 7 mL.

#### Kloon

bcl-2/100/D5

#### Immunogeen

Sequentie van het synthetische peptide (GAAPAGIFSSQPGC-COOH).

#### Specificiteit

Humane Bcl-2-oncoproteïne.

#### Ig-klasse

IgG1

#### Totale Proteïneconcentratie

Ca. 10 mg/ml.

#### Antilichaamconcentratie

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

#### Verduunning en Menging

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) primair antilichaam is optimaal verdund voor gebruik op het BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem). Reconstitutie, menging, verduunning of titratie van deze reagens is niet vereist.

#### Niet Meegeleverde Vereiste Materialen

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

#### Opslag en Stabiliteit

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

Tekenen die contaminatie en/of instabiliteit van Bcl-2 (bcl-2/100/D5) aangeven zijn: vertroebeling van de oplossing, geurontwikkeling en de aanwezigheid van neerslag.

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

Opslagcondities andere dan degene die hierboven gespecificeerd zijn, dienen door de gebruiker geverifieerd te worden<sup>1</sup>.

#### Voorzorgsmaatregelen

- Dit product is bedoeld voor *in-vitro* -diagnostiek.
- De concentratie van ProClin™ 950 is 0,35 %. Het bevat het actieve ingrediënt 2-methyl-4-isothiazoline-3-one, en kan irritatie veroorzaken aan de huid, ogen, slijmvlies en het bovenste deel van de luchtwegen. Draag wegwerphandschoenen bij het werken met reagentia.
- Om een kopie van het materiaalveiligheidsblad te verkrijgen, dient u contact op te nemen met uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems, of de website van Leica Biosystems te bezoeken: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- Monsters moeten voor en na fixatie worden behandeld als potentiële overdragers van infecties en volgens de juiste voorzorgsmaatregelen worden afgedankt. Dit geldt tevens voor alle materialen die aan de monsters zijn blootgesteld<sup>2</sup>. Reagentia mogen nooit met de mond worden gepipteerd. Daarnaast moet contact tussen de huid/het slijmvlies en reagentia en monsters worden vermeden. Als reagentia of monsters in contact komen met gevoelige gebieden, moet u deze gebieden wassen met een ruime hoeveelheid water. Neem contact op met een arts.
- Raadpleeg de richtlijnen van de lokale of nationale overheid voor het afdanken van potentieel giftige componenten.
- Minimaliseer de kans van microbacteriële contaminatie van reagentia. Als u dit niet doet, kan er een toename van niet-specifieke kleuring optreden.
- Teruggwinning, incubatietijden of temperaturen die afwijken van degenen die gespecificeerd zijn, kunnen tot onjuiste resultaten leiden. Iedere dergelijke verandering moet door de gebruiker gevalideerd worden.

## Instructies Voor Gebruik

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 Bcl-2 (bcl-2/100/D5) primaire antilichaam is IHC Protocol F. Door warmte geïnduceerde teruggwinning van epitooop is aanbevolen met gebruik van BOND Epitope Retrieval Solution 2 gedurende 20 minuten.

## Verwachte Resultaten

### Normale weefsels

Kloon bcl-2/100/D5 bracht kleuring teweeg in het cytoplasma en de membranen van lymfocyten in mantelzones en T-celgebieden van lymfoïde weefsel, maar in slechts enkele cellen in kliercentra. Ook werd cytoplasmatische, membraneuze en enige perinucleaire kleuring waargenomen in uiteenlopende andere weefsels, waaronder epitheel van prostaat, schildklier en borst. (Totaal aantal gevallen die werden gekleurd = 96).

### Tumorweefsels

Kloon bcl-2/100/D5 bracht kleuring teweeg in 94/112 gevallen van diffuus grootcellig B-celmyeloom, 8/26 ziekte van Hodgkin, 13/15 folliculaire lymfomen, 12/12 chronische lymfocyttaire lymfomen, 7/7 mantelcellymfomen, 4/6 anaplastische grootcellige T-celmyeloom, 4/4 angio-immunoblastaire T-celmyelomen, 2/3 T-celmyelomen, 2/2 acute lymfoblastaire B-celmyelomen, 1/1 perifere T-celmyeloom en 1/1 marginale-zonelymfoom, 1/4 longtumoren (waaronder 1/1 niet-kleincellig carcinoom, 0/1 adenocarcinoom, 0/1 plaveiselcelcarcinoom en 0/1 grootcellig carcinoom), 2/4 ovariumtumoren (waaronder 1/1 sereus cystadenocarcinoom, 1/1 clearcellcarcinoom, 0/1 maligne klemcelltumor en 0/1 mucineus cystadenocarcinoom), 1/4 levertumoren (waaronder 1/1 metastatisch carcinoom, 0/2 hepatocellulaire carcinen en 0/1 cholangiocarcinoom), 3/3 papillaire schildklieradenomen, 2/2 infiltrerende ductale borstcarcinen, 2/2 metastatische tumoren van onbekende oorsprong, 1/2 niercelcarcinen, 1/2 plaveiselcelcarcinen van de cervix en 1/1 atypisch carcinoïd van de thymus. Er werd geen kleuring waargenomen in gevallen van T/NK-lymfoom (0/3), primitief acuut lymfoblastair B/T-celmyeloom (0/1), hersentumor (0/2), slokdarmtumor (0/2), maagtumor (0/2), tongtumor (0/2), testistumor (0/2), colontumor (0/2), rectumtumor (0/2), huidtumor (0/2), wekdelentumor (0/2) en een tumor van de larynx (0/1). (Totaal aantal beoordeelde tumorgevallen = 236).

**Bcl-2 (bcl-2/100/D5) wordt aanbevolen voor het bepalen van expressie van Bcl-2-oncoproteïne in normale en neoplastische weefsels.**

## Productspecifieke Beperkingen

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) is geoptimaliseerd door Leica Biosystems voor het gebruik met BOND Polymer Refine Detection en BOND-hulpreegentia. Gebruikers die afwijken van de aanbevolen testprocedures moeten de verantwoordelijkheid accepteren voor de interpretatie van de patiëntresultaten onder deze omstandigheden. De protocollijden kunnen variëren door de variatie in weefselfixatie en de effectiviteit van antigeenversterking, en moet empirisch worden bepaald. Negatieve reagenscontroles dienen gebruikt te worden voor het optimaliseren van teruggewinningscondities en protocollijden.

## Probleemoplossing

Raadpleeg referentie 3 voor herstelacties.

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

## Overige Informatie

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

## Literatuurlijst

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. *Oncogene*. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijffels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. *Journal of Pathology*. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. *Journal of Pathology*. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *American Journal of Pathology*. 1990; 137(2):225-232.

## Publicatiedatum

10 september 2018

# BOND™ Primært Antistoff Klart til Bruk

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

### Katalognummer: PA0117

#### Tiltenkt Bruk

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

Det monoklonale antistoffet Bcl-2 (bcl-2/100/D5) er beregnet på kvalitativ identifisering ved lysmikroskopi av humant onkoprotein Bcl-2 i formalinfiksert, parafininnstøpt vev ved hjelp av immunhistokjemisk farging med det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

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

#### Oppsummering og Forklaring

Immunhistokjemiske teknikker kan brukes til å vise tilstedeværelse av antigener i vev og celler (se "Bruk av BOND-reagenser" i brukerdokumentasjonen for BOND-systemet). Det primære antistoffet Bcl-2 (bcl-2/100/D5) er et produkt som er klart for bruk og spesielt optimalisert for bruk sammen med BOND Polymer Refine Detection. Påvisning av humant onkoprotein Bcl-2 oppnås ved først å la Bcl-2 (bcl-2/100/D5) binde seg til preparatet, for deretter å visualisere bindingsprosessen ved hjelp av reagensene som brukes i deteksjonssystemet. Ved bruk av disse produktene kombinert med det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) reduseres risikoen for menneskelige feil og den iboende variasjon som skyldes individuell reagensfortynning, manuell pipettering og reagensapplikasjon.

#### Reagenser Som Følger Med

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) er et anti-humant, monoklonalt antistoff fra mus laget som en vevskultursupernatant, og den leveres i en Tris-bufret saltløsning med bærerprotein, og inneholder 0,35 % ProClin™ 950 som konserveringsmiddel.

Totalt volum = 7 ml.

#### Klon

bcl-2/100/D5

#### Immunogen

Syntetisk peptidsekvens (GAAPAPGIFSSQPGC-COOH).

#### Spesifisitet

Humant onkoprotein Bcl-2.

#### Ig-klasse

IgG1

#### Totalproteinkonsentrasjon

Cirka 10 mg/mL.

#### Antistoffkonsentrasjon

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

#### Fortynning og Blanding

Det primære antistoffet Bcl-2 (bcl-2/100/D5) er optimalt fortynnet for bruk med BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet). Rekonstituerende, blanding, fortynning eller titrering av denne reagensen er ikke nødvendig.

#### Materiell Som Krevs, Men Som Ikke Medfølger

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

#### Oppbevaring og Stabilitet

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

Tegn på kontaminering og/eller ustabilitet for Bcl-2 (bcl-2/100/D5) er: blakket løsning, endret lukt og bunnfall.

Returneres til 2–8 °C umiddelbart etter bruk.

Andre oppbevaringsbetingelser må valideres av brukeren<sup>1</sup>.

#### Forholdsregler

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

- Preparater (før og etter fiksering) og alt materiale som eksponeres for dem, skal behandles som potensielt smittefarlig og kasseres i samsvar med gjeldende forholdsregler<sup>2</sup>. Hold aldri pipetter med reagens i munnen, og unngå at hud og slimhinner kommer i kontakt med reagenser og prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal de skylles med rikelig vann. Kontakt lege.
- Følg nasjonale og lokale forskrifter for kassering av komponenter som kan være giftige.
- Reduser mikrobiell kontaminering av reagensene til et minimum, ellers kan det forekomme økt uspesifisert farging.
- Gjennfinning, inkubasjonstider eller temperaturer som er annerledes enn det som er angitt, kan gi unøyaktige resultater. Slike endringer må valideres av brukeren.

## Bruksanvisning

Det primære antistoffet Bcl-2 (bcl-2/100/D5) er blitt utviklet for bruk med det automatiserte BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet) i kombinasjon med BOND Polymer Refine Detection. Anbefalt fargeprotokoll for Bcl-2 (bcl-2/100/D5) primært antistoff er IHC Protocol F. Varmeindusert epitop gjenvinning er anbefalt ved bruk av BOND Epitope Retrieval Solution 2 i 20 minutter.

## Forventede resultater

### Normalt vev

Klon bcl-2/100/D5 farget cytoplasma og membran av lymfocytter i mantelsoner og T-celleområder i lymfatisk vev, men bare noen få celler i germinale sentre. Cytoplasmisk, membranøs og noe perinukleær farging ble også notert i en rekke andre vev, inkludert epitel i prostata, thyroidea og bryst. (Totalt antall fargede tilfeller = 96).

### Tumorer

Klon bcl-2/100/D5 farget 94/112 diffuse storcellede B-cellelymfomer, 8/26 Hodgkins sykdom, 13/15 follikulære lymfomer, 12/12 kroniske lymfocytære lymfomer, 7/7 mantelcellelymfomer, 4/6 anaplastiske storcellede T-cellelymfomer, 4/4 angioimmunoblastiske T-cellelymfomer, 2/3 T-cellelymfomer, 2/2 akutte B-lymfoblastiske lymfomer, 1/1 perifer T-cellelymfom og 1/1 marginalsonelymfom, 1/4 lungetumorer (inkludert 1/1 ikke-småcellet karsinom, 0/1 adenokarsinom, 0/1 plateepitelkarsinom og 0/1 storcellet karsinom), 2/4 ovarietumorer (inkludert 1/1 serøst cystadenokarsinom, 1/1 klarcellet karsinom, 0/1 malign germinaltetumor og 0/1 mucinøst cystadenokarsinom), 1/4 levertumorer (inkludert 1/1 metastatisk karsinom, 0/2 hepatocellulære karsinomer og 0/1 kolangiokarsinom), 3/3 papillære thyroideakarsinomer, 2/2 infiltrerende ductale brystkarsinomer, 2/2 metastatiske tumorer av ukjent opprinnelse, 1/2 nyrecellekarsinomer, 1/2 plateepitelkarsinomer i livmorhals og 1/1 atypisk karsinoid i thymus. Ingen farging ble observert i T/NK-lymfomer (0/3), et primitivt akutt B/T-lymfoblastisk lymfom (0/1), hjernetumorer (0/2), tumorer i spiserør (0/2), tumorer i mage (0/2), tumorer i tunge (0/2), testikkeltumorer (0/2), tumorer i kolon (0/2), tumorer i rektum (0/2), hudtumorer (0/2), bløtvevstumorer (0/2) og en tumor i larynx (0/1). (Totalt antall evaluerte tumortilfeller = 236).

**Bcl-2 (bcl-2/100/D5) anbefales til vurdering av ekspresjon av onkoprotein Bcl-2 i normale og neoplastiske vev.**

## Produktspesifikke Begrensninger

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) er optimalisert av Leica Biosystems til bruk sammen med BOND Polymer Refine Detection og BOND tilleggsreagenser. Brukere som avviker fra de anbefalte testprosedyrene, må selv ta ansvar for tolkningen av pasientresultater i slike situasjoner. Protokolltidene kan variere grunnet variasjon i vevsfiksering og effektiviteten til antigenforsterkningen, og må dermed bestemmes empirisk. Negative reagenskontroller bør brukes ved optimalisering av gjenvinningsforhold og protokolltidene.

## Føilsøking

Se referanse nr. 3 for opprettingstiltak.

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

## Ytterligere opplysninger

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

## Bibliografi

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. *Oncogene*. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijffels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. *Journal of Pathology*. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. *Journal of Pathology*. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *American Journal of Pathology*. 1990; 137(2):225-232.

## Utgivelsesdato

10 september 2018



# BOND™ Kullanıma Hazır Primer Antikor

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

### Katalog No: PA0117

#### Kullanım Amacı

Bu reagent, *in vitro* diagnostik kullanımı içindir.

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) monoklonal antikor, otomatik BOND sistemini (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemi dahil) kullanarak immünohistokimyasal boyama yoluyla, formalinle fikse edilmiş, parafine gömülü dokudaki insan Bcl-2 onkoproteininin ışık mikroskopisi ile nitel tanımlanmasında kullanım için tasarlanmıştır.

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

#### Özet ve Açıklama

İmmünohistokimyasal teknikler, doku ve hücrelerde antijen olduğunu göstermek amacıyla kullanılabilir (BOND kullanımları dokümantasyonunuzdaki "BOND Reagent'larının Kullanılması" bölümüne bakınız). Bcl-2 (bcl-2/100/D5) primer antikor, özellikle BOND Polymer Refine Detection ile kullanılmak üzere optimize edilmiş kullanıma hazır bir üründür. İnsan Bcl-2 onkoproteininin gösterilmesi önce kesite Bcl-2 (bcl-2/100/D5) bağlanması sağlayıp sonra tespit sisteminde verilen reaktifleri kullanarak bu bağlanmayı görüntülemek suretiyle sağlanır. Bu ürünlerin kullanımı, otomatikleştirilmiş BOND Sistemi ile kombinasyonlu olarak (Leica BOND-MAX sistemi ve Leica BOND-III sistemi de dahildir), insan hatalarının veya bireysel reagent seyreliiminin, elle pipetlemenin ve reaktif uygulamaların sonucu olarak ortaya çıkan doğal değişkenliklerin olasılığını azaltır.

#### Sağlanan Reagent'lar

Bcl-2 (bcl-2/100/D5), bir supernatant doku kültürü olarak oluşturulan bir mouse anti-human monoklonal antikorudur ve prezervatif olarak % 0,35 ProClin™ 950 içeren taşıyıcı proteine sahip Tris buffer salin içerisinde verilir.

Toplam hacim = 7 mL.

#### Clone

bcl-2/100/D5

#### İmmünojen

Sentetik peptid dizisi (GAAPAGIFSSQPGC-COOH).

#### Spesifite

İnsan Bcl-2 onkoproteini.

#### Ig Sınıfı

IgG1

#### Toplam Protein Konsantrasyonu

Yaklaşık 10 mg/mL.

#### Antikor Konsantrasyonu

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

#### Dilüsyon ve Karışım

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) birincil antikor BOND Sistemi'nde (Leica BOND-MAX sistemini ve Leica BOND-III sistemini de içermektedir) kullanılmak üzere en uygun biçimde seyreltilmiştir. Bu reagent için sulandırma, karıştırma, dilüsyon veya titraj işlemlerinin yapılması gerekli değildir.

#### Sağlanmayan Ancak Gerekli Olan Materyaller

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

#### Saklama ve Dayanıklılık

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

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) kontaminasyonunu ve/veya instabilitesini belirten işaretler: solüsyonun türbiditesi, koku gelişimi ve presipitatu mevcut olması.

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

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

#### Önlemler

- Bu ürün, *in vitro* diagnostik kullanımı içindir.
- ProClin™ 950 konsantrasyonu % 0,35'dir. 2-metil-4-izotiyazolin-3-tek etken maddesini içerir ve ciltte, gözlerde, muköz membranlarda ve üst solunum yolunda iritasyona neden olabilir. Reagent'larla işlem yaparken tek kullanımlık eldiven takın.
- Bir Material Safety Data Sheet (Malzeme Güvenlik Veri Sayfası) kopyası elde etmek için yerel distribütörünüze veya bölgesel Leica Biosystems ofisine başvurun veya alternatif olarak [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) Leica Biosystems internet sitesini ziyaret edin

- Fikse etme işleminden önce ve sonra numuneler ve bunlara maruz kalan tüm materyaller, enfeksiyon yayabilecek gibi ele alınmalı ve doğru önlemler alınarak atığa çıkarılmalıdır.<sup>2</sup> Reagent'lar asla ağızla pipetlenmemeli ve cildin ve muköz membranların reagent ve numunelerle temasından kaçınılmalıdır. Reagent veya numunelerin hassas alanlarla temas etmesi durumunda bu alanları bol su ile yıkayın. Doktora başvurun.
- Potansiyel tüm toksik komponentlerin imhası için federal, ulusal veya lokal düzenlemelere başvurun.
- Reagent'ların mikrobiyal kontaminasyonunu minimize edin, aksi durumda nonspesifik boyamada bir artış ortaya çıkabilir.
- Belirtilenler dışında retrieval, inkübasyon süreleri veya sıcaklıkları, hatalı sonuçlara neden olabilir. Tüm değişiklikler, kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

## Kullanım Talimatları

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) birincil antikor, otomatikleştirilmiş BOND Sistemi'nde (Leica BOND-MAX sistemini ve Leica BOND-III sistemini de içermektedir) BOND Polymer Refine Detection (BOND Polimer Arındırma Algılama) ile kombinasyonlu olarak kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Bcl-2 (bcl-2/100/D5) primer antikor için önerilen boyama protokolü IHC Protocol F'dir. 20 dakika boyunca BOND Epitope Retrieval Solution 2 (BOND Epitop Geri Kazanım Solüsyonu) kullanılarakısıyla indüklenen epitop geri kazanımı yapılması önerilir.

## Öngörülen Sonuçlar

### Normal Dokular

Klon bcl-2/100/D5 lenfoid dokunun T hücreli alanlarında ve mantle hücrelerinde lenfositlerin membran ve sitoplazmasını boyamış ama germinal merkezlerde sadece birkaç hücreyi boyamıştır. Prostat, tiroid ve meme epiteli dahil çeşitli diğer dokularda sitoplazmik, membranöz ve bir miktar perinükleer boyanma da gözlenmiştir. (Boyanan toplam vaka sayısı = 96).

### Tümörli Dokular

Klon bcl-2/100/D5 94/112 difüz büyük B hücreli lenfomayı, 8/26 Hodgkin hastalığını, 13/15 foliküler lenfomayı, 12/12 kronik lenfositik lenfomayı, 7/7 mantle hücreli lenfomayı, 4/6 T hücreli anaplastik büyük hücreli lenfomayı, 4/4 anjiyoimmünoblastik T hücreli lenfomayı, 2/3 T hücreli lenfomayı, 2/2 B hücreli akut lenfoblastik lenfomayı, 1/1 periferik T hücreli lenfomayı ve 1/1 marjinal zon lenfomayı, 1/4 akciğer tümörünü (1/1 küçük hücreli dışı karsinom, 0/1 adenokarsinom, 0/1 skuamöz hücreli karsinom ve 0/1 büyük hücreli karsinom dahil), 2/4 over tümörünü (1/1 seröz kistadenokarsinom, 1/1 saydam hücreli karsinom, 0/1 malign eşey hücreli tümör ve 0/1 münisöz kistadenokarsinom dahil), 1/4 karaciğer tümörünü (1/1 metastatik karsinom, 0/2 hepatoselüler karsinom ve 0/1 kolanjiyokarsinom dahil), 3/3 tiroid papiller karsinomunu, 2/2 meme infiltran duktal karsinomunu, 2/2 bilinmeyen kökenli metastatik tümör, 1/2 böbrek renal hücreli karsinomunu, 1/2 servikal skuamöz hücreli karsinom ve 1/1 timus atipik karsinoidini boyamıştır. T/NK lenfomaları (0/3), primitif B/T hücreli akut lenfoblastik lenfoma (0/1), beyin tümörleri (0/2), özofagus tümörleri (0/2), mide tümörleri (0/2), dil tümörleri (0/2), testis tümörleri (0/2), kolon tümörleri (0/2), rektal tümörler (0/2), cilt tümörleri (0/2), yumuşak doku tümörleri (0/2) ve bir larinks tümöründe (0/1) boyanma gözlenmemiştir. (Değerlendirilen toplam tümör vakası sayısı = 236).

**Bcl-2 (bcl-2/100/D5) normal ve neoplastik dokularda Bcl-2 onkoproteini ekspresyonunun değerlendirilmesi için tavsiye edilir.**

## Ürüne Özel Sınırlamalar

Bcl-2 (bcl-2/100/D5), Leica Biosystems'da BOND Polymer Refine Detection ve BOND yardımcı reagent'ları ile birlikte kullanılmak üzere optimize edilmiştir. Önerilen test prosedürlerinin dışına çıkan kullanıcılar, bu şartlar altında hasta sonuçlarının yorumlanması için sorumluluğu kabul etmelidirler. Protokol süreleri, doku fiksasyonu ve antijen değerlendirme etkinliği nedeniyle değişiklik gösterebilir; bunlar ampirik olarak belirlenmelidir. Negatif reagent kontrolleri, retrieval koşulları ve protokol süreleri optimize edilirken kullanılmamalıdır.

## Arıza Giderme

Düzeltilici işlem için 3 no'lu referansa başvurun.

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

## Daha Fazla Bilgi

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

## Kaynakça

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. Oncogene. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijffels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. Journal of Pathology. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. Journal of Pathology. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. American Journal of Pathology. 1990; 137(2):225-232.

## Yayımlı Tarihi

10 Eylül 2018

# Готово за употреба първично антиятло BOND™

## Vcl-2 (bcl-2/100/D5)

### Каталожен №: PA0117

#### Предназначение

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

Моноклоналното антиятло Vcl-2 (bcl-2/100/D5) е предназначено за качествена идентификация чрез оптична микроскопия на човешки онкопротеин Vcl-2 във фиксирана с формалин, вградена в парафин тъкан чрез имунохистохимично оцветяване, използвайки автоматизираната система BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III).

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

#### Кратко описание и обяснение

Могат да бъдат използвани имунохистохимични техники за демонстриране на наличието на антигени в тъканта и клетките (вж. „Употреба на реактиви BOND“ във Вашата документация за потребителя на BOND). Първичното антиятло Vcl-2 (bcl-2/100/D5) е готов за употреба продукт, който е специално оптимизиран за използване с BOND Polymer Refine Detection. Показването на човешкия онкопротеин Vcl-2 се постига, като първо се позволява свързването на Vcl-2 (bcl-2/100/D5) с участъка, след което това свързване се визуализира, като се използват реактивите, предоставени в системата за откриване. Употребата на тези продукти заедно с автоматизираната система BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III) намалява възможността от човешка грешка и присъщата изменчивост в резултат на отделно разреждане на реактиви, ръчно пипетиране и прилагане на реактиви.

#### Предоставени реактиви

Vcl-2 (bcl-2/100/D5) е мише античовешко моноклонално антиятло, получено като супернатант от тъканна култура и доставено в трометамин-буфериран физиологичен разтвор с протеинов носител, съдържащ 0,35% ProClin™ 950 като консервант.

Общ обем = 7 mL.

#### Клонинг

bcl-2/100/D5

#### Имуноген

Верига от синтетични пептиди (GAAPAPGIFSSQPGC-COOH).

#### Специфичност

Човешки Vcl-2 онкопротеин.

#### Имуноглобулинов клас

IgG1.

#### Обща концентрация на протеин

Приблизително 10 mg/mL.

#### Концентрация на антиела

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

#### Разреждане и смесване

Първичното антиятло Vcl-2 (bcl-2/100/D5) е оптимално разрежено за употреба със системата BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III). Не се изисква възстановяване, смесване, разреждане или титриране на този реактив.

#### Необходими, но непредоставени материали

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

#### Съхранение и стабилност

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

Признаците за замърсяване и/или нестабилност на Vcl-2 (bcl-2/100/D5) са: мътност на разтвора, проява на мирис и наличие на утайка.

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

Другите условия на съхранение, освен посочените по-горе, трябва да бъдат проверени от потребителя<sup>1</sup>.

#### Предпазни мерки

- Този продукт е предназначен за *in vitro* диагностика.
- Концентрацията на ProClin™ 950 е 0,35%. Съдържа активната съставка 2-метил-4-изотиазолин-3-он и може да причини дразнене на кожата, очите, лигавиците и горните дихателни пътища. При работа с реактивите да се носят ръкавици за еднократна употреба.
- За да получите копие на информационния лист за безопасност на материалите, свържете се с Вашия местен дистрибутор или регионален офис на Leica Biosystems или посетете уебсайта на Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://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 мерки<sup>2</sup>. Никого не пипетирате реактиви с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реактиви или спесими. В случай че реактиви или спесими влязат в контакт с чувствителни зони, да се измият с обилно количество вода. Потърсете медицинска помощ.
- Консултирайте се с федералните, държавните или местните регламенти относно изхвърлянето на потенциално токсични компоненти.
- Свеждайте до минимум микробната контаминация на реактивите, иначе може да се появи увеличаване на неспецифичното оцветяване.
- Извличането, инкубационните времена или температури, различни от посочените, могат да доведат до погрешни резултати. Всякакви подобни промени трябва да бъдат валидирани от потребителя.

## Инструкции за употреба

Първичното анти тяло Bcl-2 (bcl-2/100/D5) е разработено за употреба с автоматизираната система BOND (включва система Leica BOND-MAX и система Leica BOND-III) в комбинация с BOND Polymer Refine Detection. Препоръчителният протокол за оцветяване за първичното анти тяло Bcl-2 (bcl-2/100/D5) е IHC Protocol F. Препоръчва се термично индуцирано извличане на епитоп да се извършва с помощта на BOND Epitope Retrieval Solution 2 в продължение на 20 минути.

## Очаквани резултати

### Нормални тъкани

Клонинг bcl-2/100/D5 оцветява цитоплазмата и мембраната на лимфоцитите в зоната на мантията и областта на Т-клетките на лимфната тъкан, но само няколко клетки в зародишните центрове. Наблюдава се и оцветяване в цитоплазмата, мембраните и перинуклеарно оцветяване в различни тъкани, включително епитела на простатата, щитовидната жлеза и гърдата. (Общ брой на оцветените случаи = 96).

### Туморни тъкани

Клонинг bcl-2/100/D5 оцветява 94/112 дифузни големи В-клетъчни лимфома, 8/26 болест на Ходжкин, 13/15 фоликуларни лимфома, 12/12 хронични лимфоцитни лимфома, 7/7 мантелноклетъчни лимфома, 4/6 Т-клетъчни анапластични лимфома на гигантските клетки, 4/4 ангиоимунобластни лимфома на Т-клетките, 2/3 Т-клетъчни лимфома, 2/2 остри лимфобластни лимфома на В-клетките, 1/1 периферен Т-клетъчен лимфом и 1/1 лимфом на маргинална зона, 1/4 белодробни тумора (включ. 1/1 недребноключен карцином, 0/1 аденокарцином, 0/1 сквамозноклетъчен карцином и 0/1 едроклетъчен карцином), 2/4 тумора на яйчиците (включ. 1/1 серозен цистаденокарцином, 1/1 карцином на светлите клетки, 0/1 злокачествен тумор на зародишните клетки и 0/1 муцинозен цистаденокарцином), 1/4 чердробни тумора (включ. 1/1 метастатичен карцином, 0/2 хепатоклетъчни карцинома и 0/1 холангиокарцином), 3/3 папиларни карцинома на щитовидната жлеза, 2/2 инфилтриращи дуктални карцинома на гърдата, 2/2 метастатични тумора с неизвестен произход, 1/2 бъбречноклетъчни карцинома, 1/2 сквамозноклетъчни карцинома на маточната шийка и 1/1 атипичен карциноид на тимуса. Не се наблюдава оцветяване при лимфоми на Т/НК клетките (0/3), един примитивен В/Т-клетъчен остър лимфобластен лимфом (0/1), мозъчни тумори (0/2), тумори на хранопровода (0/2), тумори на стомаха (0/2), тумори на езика (0/2), тумори на тестисите (0/2), тумори на дебелото черво (0/2), ректални тумори (0/2), тумори на кожата (0/2), тумори на меките тъкани (0/2) и един тумор на ларинкса (0/1). (Общ брой на оценените случаи на тумор = 236).

**Bcl-2 (bcl-2/100/D5) се препоръчва за оценка на експресията на онкопротеина Bcl-2 в нормални и неопластични тъкани.**

## Специфични ограничения на продукта

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) е оптимизиран от Leica Biosystems за употреба с BOND Polymer Refine Detection и спомагателните реактиви BOND. Потребителите, които се отклоняват от препоръчаните процедури за тестване, трябва да поемат отговорност за интерпретацията на резултатите на пациентите при тези обстоятелства. Времетраенето на протоколите може да варира поради вариацията във фиксацията на тъканта и ефективността на усилването на антигена и трябва да се определи емпирично. Трябва да се използват негативни контроли на реактивите при оптимизиране на условията на извличане и времетраенето на протоколите.

## Отстраняване на неизправности

Разгледайте референция 3 за коригиращи действия.

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

## Допълнителна информация

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

## Библиография

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. Oncogene. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijnfels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. Journal of Pathology. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. Journal of Pathology. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. American Journal of Pathology. 1990; 137(2):225-232.

## Дата на издаване

10 Септември 2018

# BOND™ azonnal használható elsődleges antitest

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

### Katalógusszám: PA0117

#### Alkalmazási terület

Ez a reagens *in vitro* diagnosztikai használatra szolgál.

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) monoklonális antitestet a humán Bcl-2 onkoprotein fénymikroszkóppal történő kvalitatív azonosítására szolgál formalinban fixált, paraffinba ágyazott szövetben, immunhisztokémiai festés útján, automata BOND rendszer (így a Leica BOND-MAX rendszer vagy a Leica BOND-III rendszer) használatával.

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

#### Összefoglalás és magyarázat

Az immunhisztokémiai módszerek antigének jelenlétének kimutatására szolgálnak szövetekben és sejtekben (lásd a „BOND reagensek használata” című részt a BOND felhasználói dokumentációban). A Bcl-2 (bcl-2/100/D5) elsődleges antitest használatra kész termék, amely kifejezetten a BOND Polymer Refine Detection kittel való használatra lett optimalizálva. A humán Bcl-2 onkoprotein kimutatása úgy történik, hogy előbb lehetővé kell tenni a Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 mérsékelhetők az egyes reagensek hígításából, a manuális pipettázásból és a reagensek alkalmazásából származó eredendő eltérések.

#### Biztosított reagensek

A Bcl-2 (bcl-2/100/D5) egér eredetű, antihumán monoklonális antitest, amelyet szövettenyésztés felülűszőként állítanak elő. Kiszáradása: tris-pufferelt sóoldatban, hordozófehérjével és tartósítószerként 0,35% ProClin™ 950-nel.

Teljes mennyiség = 7 ml.

#### Klón

bcl-2/100/D5

#### Immunogén

Szintetikus peptidszekvencia (GAAPAGGIFSSQPGC-COOH).

#### Specifitás

Humán Bcl-2 onkoprotein.

#### Ig-osztály

IgG1.

#### Összfehérje-koncentráció

Kb. 10 mg/ml.

#### Antitest-koncentráció

Legalább 0,5 mg/l ELISA módszerrel meghatározva.

#### Hígítás és elegyítés

A Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 kell<sup>1</sup>.

#### Övintézkedések

- 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](http://www.LeicaBiosystems.com) címen.

- A mintákat fixálás előtt és után, valamint a velük érintkező összes anyagot fertőzések terjesztésére képes anyagként kell kezelni, és megfelelő körültekintéssel kell ártalmatlanítani<sup>2</sup>. 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.
- Minimálásra kell csökkenteni a reagensek mikrobiális szennyeződését, különben megnövekedhet a nem specifikus festődés.
- A megadottaktól eltérő feltérési körülmények, inkubációs idők és hőmérsékletek hibás eredményekhez vezethetnek. A felhasználónak minden ilyen jellegű változtatást validálnia kell.

## Használati útmutató

A Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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. Az Bcl-2 (bcl-2/100/D5) elsődleges antitesthez javasolt festési protokoll az „F” IHC-protokoll. A hőindukált epitópfeltáráshoz BOND Epitope Retrieval Solution 2 oldat 20 percg tartó alkalmazása javasolt.

## Várható eredmények

### Normál szövetek

A bcl-2/100/D5 megfestette a nyirokszövet köpenyzónáiban és T-sejtes régióiban elhelyezkedő limfociták citoplazmáját és membránját, de a csírákötzpontban lévő sejtek közül csak keveset. Számos más szövetben, így a prosztata, a pajzsmirigy és az emlő hámszejteiben is megfigyeltek citoplazma-, membrán- és némi perinuclearis festődést. (Összes megfestett esetszám = 96).

### Tumorszövetek

A bcl-2/100/D5 klón az alábbiakat festette meg: 94/112 difúz nagy B-sejtes limfóma, 8/26 Hodgkin-limfóma, 13/15 follikuláris limfóma, 12/12 krónikus limfocitás limfóma, 7/7 köpenysejtes limfóma, 4/6 T-sejtes anaplasztikus nagysejtes limfóma, 4/4 angioimmunoblasztos T-sejtes limfóma, 2/3 T-sejtes limfóma, 2/2 B-sejtes akut limfoblasztos limfóma, 1/1 perifériás T-sejtes limfóma, valamint 1/1 marginálisóna-limfóma, 1/4 tüdődaganat (részletezve: 1/1 nem kissejtes karcinóma, 0/1 adenokarcinóma, 0/1 laphámsejtes karcinóma és 0/1 nagysejtes karcinóma), 2/4 petefészek-daganat (részletezve: 1/1 szerózus cisztadenokarcinóma, 1/1 világos sejtjes karcinóma, 0/1 malignus csírasejtes tumor és 0/1 mucinózus cisztadenokarcinóma), 1/4 májdaganat (részletezve: 1/1 metasztatikus karcinóma, 0/2 hepatocelluláris karcinóma és 0/1 kolangiokarcinóma), 3/3 papilláris pajzsmirigy-karcinóma, 2/2 infiltráló ductális emlőkarcinóma, 2/2 ismeretlen eredetű metasztatikus daganat, 1/2 vesesejtes karcinóma, 1/2 laphámsejtes méhnyakkarcinóma és 1/1 csecsemőmirigy atipusos karcinoid. Nem volt festődés megfigyelhető a T/NK-limfómák (0/3), a primitív B/T-sejtes akut limfoblasztos limfóma (0/1), agydaganatok (0/2), nyelőcsődaganatok (0/2), gyomortumorkok (0/2), a nyelv daganatai (0/2), heredaganatok (0/2), vastagbél-daganatok (0/2), végbél-daganatok (0/2), bőrdaganatok (0/2), lágyszövetdaganatok (0/2), valamint a gége daganata (0/1) esetén. (Vizsgált tumoresetek összesített száma = 236.)

## **A Bcl-2 (bcl-2/100/D5) a Bcl-2 onkoprotein expressziójának felmérésére ajánlott egészséges és tumoros szövetekben.**

## Termékspecifikus korlátozások

A Bcl-2 (bcl-2/100/D5) terméket a Leica Biosystems a BOND Polymer Refine Detection kittel és a BOND segédreagensekkel való használatra optimalizálta. A tesztelési eljárásoktól való eltérés esetén 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 feltérési körülmények és a protokollidők optimalizálásakor negatív reagensek ellenőrzéseket 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. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. Oncogene. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijffels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. Journal of Pathology. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. Journal of Pathology. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. American Journal of Pathology. 1990; 137(2):225-232.

## Kiadás dátuma

10 szeptember 2018

# Anticorpul primar gata de utilizare BOND™

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

Nr. catalog: PA0117

### Utilizare prevăzută

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

Anticorpul monoclonal Bcl-2 (bcl-2/100/D5) este destinat utilizării pentru identificarea calitativă, prin intermediul microscopiei optice, a oncoproteinei Bcl-2 umane în țesut fixat în formalină, încorporat în parafină, prin colorare imunohistochimică utilizând sistemul automat BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III).

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

### Rezumat și explicație

Pot fi utilizate tehnici imunohistochimice pentru a demonstra prezența antigenilor în țesut și celule (a se vedea „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația de utilizare BOND). Anticorpul primar Bcl-2 (bcl-2/100/D5) este un produs gata de utilizare care a fost optimizat în mod specific pentru utilizarea cu BOND Polymer Refine Detection. Demonstrarea prezenței oncoproteinei Bcl-2 este realizată mai întâi prin permiterea legării oncoproteinei Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 erorilor umane și variabilitatea inerentă care rezultă din diluția individuală a reactivului, pipetarea manuală și aplicarea reactivului.

### Reactivi furnizați

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) este un anticorp monoclonal anti-uman de șoarece produs ca supernatant de cultură tisulară și furnizat în soluție salină tamponată cu trometamină cu proteină purtătoare, care conține 0,35 % ProClin™ 950 drept conservant.

Volum total = 7 ml.

### Clonă

bcl-2/100/D5

### Imunogen

Secvență sintetică de peptide (GAAPAPGIFSSQPQC-COOH).

### Specificitate

Oncoproteină Bcl-2 umană.

### Clasa Ig

IgG1.

### Concentrație proteină totală

Aproximativ 10 mg/mL.

### Concentrație anticorpi

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

### Diluire și amestecare

Anticorpul primar Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 utilizator<sup>1</sup>.

### Precauții

- Acest produs este destinat utilizării pentru diagnosticare *in vitro*.
- Concentrația de ProClin™ 950 este 0,35 %. Acesta conține ingredientul activ 2-metil-4-izotiazolin-3-ona și poate cauza iritarea pielii, ochilor, membranelor mucoase și tractului respirator superior. Purtați mănuși de unică folosință atunci când manipulați reactivii.
- Pentru a obține o copie a fișei tehnice de securitate a materialului, luați legătura cu distribuitorul dvs. local sau cu biroul regional al Leica Biosystems sau, ca alternativă, vizitați site-ul web al Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- Specimenele, înainte și după fixare, precum și toate materialele expuse la acestea, trebuie manipulate ca și când ar avea potențialul de a transmite infecții și trebuie eliminate luând măsurile de precauție adecvate<sup>2</sup>. Nu pipetați niciodată reactivii cu gura și evitați contactul reactivilor și speciemenelor cu pielea și membranele mucoase. Dacă reactivii sau probele vin în contact cu suprafețele sensibile, spălați cu apă din abundență. Solicitați asistență medicală.
- Consultați regulamentele naționale, județene sau locale pentru informații privind eliminarea la deșeurii a oricăror componente cu potențial toxic.
- Reduceți la minimum contaminarea microbiană a reactivilor, în caz contrar poate apărea o creștere a colorației nespecifice.
- Timpii sau temperaturile de recuperare, incubatie care diferă de valorile specificate pot genera rezultate eronate. Orice astfel de modificare trebuie validată de către utilizator.

## Instrucțiuni de utilizare

Anticorpul primar Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 anticorpul primar Bcl-2 (bcl-2/100/D5) este IHC Protocol F. Se recomandă recuperarea indusă de căldură a epitopilor utilizând BOND Epitope Retrieval Solution 2 timp de 20 de minute.

## Rezultate așteptate

### Tesuturi normale

Clona bcl-2/100/D5 a colorat citoplasma și membrana limfocitelor în zonele de manta și zonele celulelor T ale țesutului limfoid, dar numai câteva celule în centrele germinale. S-a observat de asemenea colorare citoplasmică, membranoasă și o oarecare colorare perinucleară într-o varietate de alte țesuturi, inclusiv epiteliile prostatei, tiroidei și sânelui. (Numărul total al cazurilor la care s-a realizat colorare = 96).

### Tesuturi tumorale

Clona bcl-2/100/D5 a colorat 94/112 limfoame difuze cu celule B mari, 8/26 boala lui Hodgkin, 13/15 limfoame foliculare, 12/12 limfoame limfocitice cronice, 7/7 limfoame cu celule din manta, 4/6 limfoame anaplastice cu celule T cu celule mari, 4/4 limfoame angioimunoblastice cu celule T, 2/3 limfoame cu celule T, 2/2 limfom limfoblastic acut cu celule B, 1/1 limfom cu celule T periferice și 1/1 limfom al zonei marginale, 1/4 tumori pulmonare (incluzând 1/1 carcinom non-microcelular, 0/1 carcinom, 0/1 carcinom cu celule scuamoase și 0/1 carcinom cu celule mari), 2/4 tumori ovariene (incluzând 1/1 cistadenocarcinom seros, 1/1 carcinom cu celule clare, 0/1 tumoră malignă cu celule germinale și 0/1 cistadenocarcinom mucinos), 1/4 tumori hepatice (incluzând 1/1 carcinom metastatic, 0/2 carcinoame hepatocelulare și 0/1 colangiocarcinom), 3/3 carcinoame papilare tiroidiene, 2/2 carcinoame ductale mamare infiltrate, 2/2 tumori metastatice de origine necunoscută, 1/2 carcinoame cu celule renale, 1/2 carcinoame cervicale cu celule scuamoase și 1/1 carcinoid atipic al timusului. Nu s-a observat vreă colorare în limfoame T/NK (0/3), un limfom limfoblastic acut cu celule B/T (0/1), tumori cerebrale (0/2), tumori esofagiene (0/2), tumori gastrice (0/2), tumori ale limbii (0/2), tumori testiculare (0/2), tumori ale colonului (0/2), tumori rectale (0/2), tumori ale pielii (0/2), tumori ale tesuturilor moi (0/2) și o tumoră a laringelui (0/1). (Numărul total al cazurilor tumorale evaluate = 236).

**Bcl-2 (bcl-2/100/D5) este recomandat pentru evaluarea expresiei oncoproteinei Bcl-2 în țesuturi normale și neoplazice.**

## Restricții specifice produsului

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 imunocolorația cu reactivii BOND, sub titlurile Principiul procedurii, Materiale necesare, Pregătirea specimenului, Controlul calității, Verificarea analizei, Interpretarea colorării, Codul simbolurilor de pe etichete și Limitări generale pot fi găsite în „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația dumneavoastră de utilizare a sistemului BOND.

## Bibliografie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. *Oncogene*. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijffels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. *Journal of Pathology*. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. *Journal of Pathology*. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *American Journal of Pathology*. 1990; 137(2):225-232.

## Data publicării

10 septembrie 2018



# Готовое к применению первичное антитело BOND™

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

### Номер по каталогу: PA0117

#### Назначение

Этот реактив предназначен для диагностики *in vitro*.

Моноклональное антитело Bcl-2 (bcl-2/100/D5) предназначено для качественного определения человеческого онкопротеина Bcl-2 методом световой микроскопии в фиксированных формалином и залитых в парафин образцах тканей после иммуногистохимического окрашивания в автоматизированной системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica).

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

#### Краткое изложение и пояснение

Имуногистохимические методы могут использоваться для выявления антигенов в тканях и клетках (смотрите монографию «Применение реактивов BOND» в документации пользователя BOND). Первичное антитело Bcl-2 (bcl-2/100/D5) является готовым к применению препаратом, специально оптимизированным для использования в системе BOND Polymer Refine Detection. Для выявления онкопротеина Bcl-2 сначала выполняют связывание среза ткани с антителом Bcl-2 (bcl-2/100/D5), после чего делают продукты этого связывания видимыми с помощью реактивов, имеющихся в системе обнаружения. Применение этих продуктов в сочетании с автоматизированной системой BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica) снижает вероятность человеческой ошибки и вариабельность, присущую процессам разведения отдельных реактивов, ручного пипетирования и внесения реактивов.

#### Реактивы, входящие в комплект поставки

Реактив Bcl-2 (bcl-2/100/D5) представляет собой препарат моноклональных антител мыши к антигенам человека, который выпускается в форме супернатанта культуры ткани и поставляется в три-солевом буферном растворе, содержащем белок-носитель, а также 0,35 % ProClin™ 950 в качестве консерванта.

Общий объем = 7 млб.

#### Клон

bcl-2/100/D5

#### Иммуноген

Синтетическая пептидная последовательность (GAAPAPGIFSSQPGC-COOH).

#### Специфичность

Онкопротеин человека Bcl-2.

#### Класс иммуноглобулинов

IgG1.

#### Общая концентрация белка

Примерно 10 мг/млб.

#### Концентрация антитела

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

#### Разведение и смешивание

Первичное антитело Bcl-2 (bcl-2/100/D5) имеет оптимальное разведение для применения в системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica). Этот реактив не нуждается в восстановлении, смешивании, разведении или титровании.

#### Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

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

#### Хранение и стабильность

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

Признаками, которые указывают на контаминацию и (или) нестабильность реактива Bcl-2 (bcl-2/100/D5), являются: помутнение раствора, появление запаха и наличие преципитата (осадка).

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

Условия хранения, отличающиеся от указанных выше, должны быть верифицированы пользователем<sup>1</sup>.

## Меры предосторожности

- Данная продукция предназначена для диагностики *in vitro*.
- Концентрация ProClin™ 950 составляет 0,35 %. Продукт содержит в качестве активного ингредиента 2-метил-4-изотиазолин-Зон, и может вызывать раздражение глаз, кожи, слизистых оболочек и органов верхних дыхательных путей. При работе с реактивами надевайте одноразовые перчатки.
- Для получения копии паспорта безопасности химической продукции (Material Safety Data Sheet) обратитесь к местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems. В качестве альтернативы посетите веб-сайт компании Leica Biosystems: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)
- С образцами (до и после фиксации) и всеми материалами, на которые они воздействуют, следует обращаться как с потенциально способными к передаче инфекции и утилизировать, соблюдая соответствующие меры предосторожности<sup>2</sup>. 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 Bcl-2 (bcl-2/100/D5) было разработано для использования в автоматизированной системе BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica) в сочетании с системой обнаружения BOND Polymer Refine Detection. Рекомендуемым протоколом иммуногистохимического окрашивания (ИГХ) с использованием первичных антител Bcl-2 (bcl-2/100/D5) является протокол F. Тепловую демаскировку эпителия рекомендуется выполнять с применением восстанавливающего раствора BOND Epitope Retrieval Solution 2 в течение 20 минут.

## Ожидаемые результаты

### Нормальные ткани

Клон bcl-2/100/D5 окрашивал цитоплазму и мембраны лимфоцитов в мантийной зоне и на участках скопления Т-лимфоцитов в лимфоидной ткани, но только малое количество клеток окрашивалось в зародышевых центрах. Цитоплазматическое, мембранозное и, в некоторой степени, перинуклеарное окрашивание наблюдалось в разного рода других тканях тела, включая эпителий простаты, щитовидной железы и молочной железы. (Общее число окрашенных образцов = 96).

### Ткани опухолей

Клон bcl-2/100/D5 окрасил 94/112 случаев диффузной крупноклеточной В-лимфоцитарной лимфомы, 8/26 случаев лимфомы Ходжкина, 13/15 случаев фолликулярной лимфомы, 12/12 случаев хронических лимфоцитарных лимфом, 7/7 случаев лимфомы мантийной зоны, 4/6 случаев анапластической Т-лимфоцитарной лимфомы, 4/4 случаев ангиоиммунобластной Т-лимфоцитарной лимфомы, 2/3 случаев Т-лимфоцитарной лимфомы, 2/2 случаев острой В-лимфоцитарной лимфобластной лимфомы, 1/1 случая периферийной Т-лимфоцитарной лимфомы и 1/1 случая лимфомы из клеток маргинальной зоны, 1/4 случаев опухоли легких (включая 1/1 случая светлоклеточной карциномы, 0/1 случая аденокарциномы, 0/1 случая плоскоклеточной карциномы и 0/1 случая крупноклеточной карциномы), 2/4 случаев опухоли яичника (включая 1/1 случая серозной цистоаденокарциномы, 1/1 случая светлоклеточной карциномы, 0/1 случая злокачественной опухоли зародышевых клеток и 0/1 случая слизистой цистоаденокарциномы), 1/4 случаев опухоли печени (включая 1/1 случая метастатической карциномы, 0/2 случаев гепатоцеллюлярной карциномы и 0/1 случая холангиокарциномы), 3/3 случаев папиллярной карциномы щитовидной железы, 2/2 случаев инфильтрирующей карциномы протоков молочной железы, 2/2 случаев метастатических опухолей неизвестного происхождения, 1/2 случаев почечно-клеточной карциномы, 1/2 случаев карциномы плоских клеток шейки матки и 1/1 случая атипичного карциноида вилочковой железы. При следующих нозологиях окрашивания не наблюдалось: лимфомы из Т/НК-клеток (0/3), острые лимфобластные лимфомы из примитивных В/Т-лимфоцитов (0/1), опухоли головного мозга (0/2), опухоли пищевода (0/2), опухоли желудка (0/2), опухоли языка (0/2), опухоли яичек (0/2), опухоли толстой кишки (0/2), опухоли прямой кишки (0/2), опухоли кожи (0/2), опухоли мягких тканей (0/2) и опухоли гортани (0/1). (Общее число исследованных опухолей = 236).

**Реактив Bcl-2 (bcl-2/100/D5) рекомендуется использовать для оценки экспрессии белка Bcl-2 в здоровых, а также пораженных опухолью тканях.**

## Ограничения, специфичные для этого продукта

Реактив Bcl-2 (bcl-2/100/D5) оптимизирован компанией Leica Biosystems для применения с системой обнаружения BOND Polymer Refine Detection и дополнительными реактивами BOND. Пользователи, отклоняющиеся от рекомендованных процедур анализа, должны брать на себя ответственность за интерпретацию результатов исследований пациентов, выполненных в таких условиях. Продолжительность выполнения протокола должна быть определена опытным путем и может различаться в связи с вариабельностью фиксации ткани и эффективности усиления антигена. При оптимизации условий демаскировки и длительности протокола следует использовать отрицательные контроли реактивов.

## Поиск и устранение неполадок

Действия по устранению неполадок описаны в (3).

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

## Дополнительная информация

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

## Список литературы

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. *Oncogene*. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijffels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. *Journal of Pathology*. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. *Journal of Pathology*. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *American Journal of Pathology*. 1990; 137(2):225-232.

## Дата выпуска

10 Сентябрь 2018

# Gotowe do użycia przeciwciało BOND™

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

### Nr katalogowy: PA0117

#### Przeznaczenie

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

Przeciwciało monoklonalne Bcl-2 (bcl-2/100/D5) służy do identyfikacji jakościowej z zastosowaniem mikroskopii świetlnej ludzkiej onkoproteiny Bcl-2 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. Ocena powinna przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

#### Podsumowanie i objaśnienie

W celu wykazania obecności antygenów w tkankach i komórkach (zob. „Korzystanie z odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika BOND) można skorzystać z technik immunohistochemicznych. Przeciwciało pierwszorzędowe Bcl-2 (bcl-2/100/D5) jest gotowym do użycia produktem, który został specjalnie zoptymalizowany pod kątem użycia z BOND Polymer Refine Detection. Obecność produktu genu ludzkiej onkoproteiny Bcl-2 jest wykazywana w pierwszej kolejności przez umożliwienie wiązania Bcl-2 (bcl-2/100/D5) ze skrawkiem, a następnie wizualizację tego wiązania za pomocą odczynników znajdujących się 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 błędów człowieka i właściwej zmienności wynikającej z indywidualnego rozcieńczania odczynników, ręcznego pipetowania i stosowania odczynników.

#### Odczynniki znajdujące się w zestawie

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) jest myślim anty-ludzkim przeciwciałem monoklonalnym, produkowanym jako oczyszczony supernatant hodowli tkankowej i dostarczonym w roztworze soli fizjologicznej buforowanej odczynnikiem Tris z białkiem nośnikowym, konserwowanym 0,35 % ProClin™ 950.

Łączna objętość = 7 ml.

#### Klon

bcl-2/100/D5

#### Immunogen

Sekwencja syntetycznych peptydów (GAAPAPGIFSSQPGC-COOH).

#### Swoistość

Ludzka onkoproteina Bcl-2.

#### Klasa Ig (immunoglobulina)

IgG1.

#### Całkowite stężenia białka

Okolo 10 mg/ml.

#### Stężenie przeciwciał

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

#### Rozcieńczanie i mieszanie.

Przeciwciało pierwszorzędowe Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 użytkownika<sup>1</sup>.

#### Środki ostrożności

- Test jest przeznaczony do stosowania w diagnostyce *in vitro*.
- Stężenie ProClin™ 950 wynosi 0,35 %. Zawiera składnik czynny, metyloizotiazolinon, który może powodować podrażnienie skóry, oczu, błon śluzowych i górnych dróg oddechowych. Podczas pracy z odczynnikami należy nosić rękawice jednorazowego użytku.
- Aby otrzymać egzemplarz karty charakterystyki, należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub regionalnym biurom Leica Biosystems, lub odwiedzić stronę internetową, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- Z preparatami przed utwaleniem i po utwaleniu, jak również ze wszystkimi materiałami, które mają z nimi styczność, należy obchodzić się tak, jak z materiałami potencjalnie zakaźnymi i należy je utylizować, zachowując odpowiednie środki ostrożności.<sup>2</sup> 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 Bcl-2 (bcl-2/100/D5) zostało opracowane z myślą o zastosowaniu w automatycznym systemie BOND (obejmującym systemy Leica BOND-MAX i Leica BOND-III system) w połączeniu z BOND Polymer Refine Detection. Zalecany protokół barwienia dla przeciwiąca pierwszorzędowego Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 bcl-2/100 / D5 wybarwił cytoplazmę i błonę limfocytów w strefach płaszczą i obszarach limfocytów T tkanki limfatycznej i niewielką liczbę komórek w ośrodkach rozrodczych. Barwienie cytoplazmatyczne, błoniaste i - do pewnego stopnia - okołojądrowe odnotowano również w wielu innych tkankach, w tym w nabłonku prostaty, tarczycy i piersi. (Łączna liczba przypadków wybarwionych = 96).

### Tkanki nowotworowe

Klon bcl-2/100/D5 wybarwił 94/112 rozlanych chłoniaków z dużych limfocytów B, 8/26 chorób Hodgkina, 13/15 chłoniaków grudkowych, 12/12 chronicznych chłoniaków limfocytowych, 7/7 chłoniaków z komórek płaszczą, 4/6 chłoniaki anaplastyczne z dużych limfocytów T, 4/4 chłoniaki z limfocytów T angioimmunoblastycznych, 2/3 chłoniaki z limfocytów T, 2/2 ostre chłoniaki z limfocytów B, 1/1 chłoniaki z obwodowych limfocytów T, 1/1 chłoniaka strefy brzeżnej, 1/4 guzy płuca (w tym 1/1 raka niedrobnokomórkowego, 0/1 gruczolakoraków, 0/1 raków płaskokomórkowego i 0/1 raków wielkokomórkowych), 2/4 guzy jajnika (w tym 1/1 raka surowiczego jajnika, 1/1 raka jasnokomórkowego, 0/1 złośliwych guzów zarodkowych i 0/1 raków śluzowych), 1/4 guza wątroby (w tym 1/1 raka przerzutowego, 0/2 raków wątrobowokomórkowych i 0/1 raków wątrobowokomórkowych), 3/3 raki brodawkowatych tarczycy, 2/2 raki przewodowe naciekające piersi, 2/2 guzy przerzutowe o nieznanym pochodzeniu, 1/2 raka nerkowokomórkowego nerki, 1/2 raka płaskonabłonkowego szyjki macicy i 1/1 rakowiaka grasicy. Nie stwierdzono barwienia chłoniaków wywodzących się z limfocytów T/NK (0/3), ostrych chłoniaków limfoblastycznych z prymitywnych limfocytów B/T (0/1), guzów mózgu (0/2), guzów przełyku (0/2), guzów żołądka (0/2), guzów języka (0/2), guzów jąder (0/2), guzów okrężnicy (0/2), guzów odbytnicy (0/2), guzów skóry (0/2), guzów tkanek miękkich (0/2) ani guzów krtni (0/1). (Łączna liczba ocenionych przypadków guzów = 236).

### Zaleca się stosowanie Bcl-2 (bcl-2/100/D5) do oceny ekspresji onkoproteiny Bcl-2 w tkankach prawidłowych i nowotworowych.

## Szczególne ograniczenia dla produktu

Preparat Bcl-2 (bcl-2/100/D5) został zoptymalizowany w Leica Biosystems pod kątem stosowania z BOND Polymer Refine Detection i odczynnikami pomocniczymi BOND. W tych okolicznościach użytkownicy, którzy postępują niezgodnie z zalecanymi procedurami testowymi muszą wziąć odpowiedzialność za interpretację wyników chorego. Czasy protokołu mogą być różne w związku ze zróżnicowaniem w zakresie utwalenia tkanek i skuteczności wzmocnienia przez przeciwiąca i należy je określić doświadczalnie. Odczynniki kontroli ujemnej należy stosować podczas optymalizacji warunków odmaskowywania i czasów protokołu.

## Rozwiązywanie problemów

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

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

## Dodatkowe informacje

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

## Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. Oncogene. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijffels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. Journal of Pathology. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. Journal of Pathology. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. American Journal of Pathology. 1990; 137(2):225-232.

## Data publikacji

10 września 2018

# Primarno protitelo BOND™ pripravljeno za uporabo

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

### Kataloška št.: PA0117

#### Predvidena uporaba

Ta reagent je namenjen diagnostični uporabi *in vitro*.

Monoklonsko protitelo Bcl-2 (bcl-2/100/D5) je namenjeno kvalitativni identifikaciji molekule humanega onkoproteina Bcl-2 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 Bcl-2 (bcl-2/100/D5) je izdelek, ki je pripravljen za uporabo v posebej optimiziran za uporabo s sistemom BOND Polymer Refine Detection. Prikaz človeškega onkoproteina Bcl-2 se doseže tako, da se najprej dovolj vezava izdelka Bcl-2 (bcl-2/100/D5) na rezino, nato pa se ta vezava pogleda z uporabo reagentov, priloženih 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

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 vsebuje 0,35 % konzervansa ProCin™ 950.

Skupna prostornina = 7 ml.

#### Klon

bcl-2/100/D5

#### Imunogen

Sintetično peptidno zaporedje (GAAPAPGIFSSQPGC-COOH).

#### Specifičnost

Človeški onkoprotein Bcl-2.

#### Razred Ig

IgG1.

#### Skupna koncentracija beljakovin

Približno 10 mg/ml.

#### Koncentracija protiteles

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

#### Redčenje in mešanje

Primarno protitelo Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 Bcl-2 (bcl-2/100/D5), 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 navedenih<sup>1</sup>.

#### Previdnosti ukrepi

- Ta izdelek je namenjen za diagnostično uporabo *in vitro*.
- Koncentracija konzervansa ProCin™ 950 je 0,35 %. Vsebuje aktivno učinkovino 2-metil-4-izotiazolin-3-on in lahko povzroči draženje kože, oči, sluznice ter zgornjih dihalnih poti. Kadar delate z reagenti, nosite rokavice za enkratno uporabo.
- Če želite varnostni list, se obrnite na svojega lokalnega distributerja ali regionalno pisarno družbe Leica Biosystems; najdete ga lahko tudi na spletnem mestu [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)
- Z vzorci, pred fiksiranjem in po njem, in vsemi materiali, s katerimi so prišli v stik, morate rokovati, kot da bi lahko prenašali okužbe, in pri njihovem odstranjevanju upoštevati ustrezne previdnostne ukrepe.<sup>2</sup> 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 Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 bcl-2/100/D5 je obarval citoplazmo in membrano limfocitov v plaščnih območjih in območja celic T v limfoidnem tkivu, vendar le nekaj celic v germinativnih središčih. Obarvanje citoplazme, membran in perinukleusa so opazili tudi pri različnih drugih tkivih, vključno z epitelijem prostate, ščitnice in dojke. (Skupno število obarvanih preparatov = 96).

### Tumorska tkiva

Klon bcl-2/100/D5 je obarval 94/112 difuznih limfomov velikih celic B, 8/26 primerov Hodgkinsove bolezni, 13/15 folikularnih limfomov, 12/12 kroničnih limfocitnih limfomov, 7/7 limfomov plaščnih celic, 4/6 anaplastičnih velikoceličnih kimfomov celic T, 4/4 angioimunoblastnih limfomov celic T, 2/3 limfomov celic T, 2/2 akutnih limfoblastnih limfomov celic B, 1/1 limfoma perifernih celic T in 1/1 limfoma obrobnih celic, 1/4 tumorjev pljuč (vključno 1/1 nedrobnoceličnega karcinoma, 0/1 adenokarcinoma, 0/1 karcinoma skvamoznih celic in 0/1 velikoceličnega karcinoma), 2/4 tumorjev jajčnikov (vključno z 1/1 seroznega cistadenokarcinoma, 1/1 jasnoceličnega karcinoma, 0/1 malignega tumorja germinativnih celic in 0/1 mucinoznega cistadenokarcinoma), 1/4 jetrnih tumorjev (vključno z 1/1 metastatskega karcinoma, 0/2 hepatocelularnih karcinomov in 0/1 holangiokarcinoma), 3/3 papilarnih karcinomov ščitnice, 2/2 infiltrirajočih duktalnih karcinomov dojke, 2/2 metastatskih tumorjev neznanega izvora, 1/2 karcinomov ledvičnih celic, 1/2 karcinomov skvamoznih celic materničnega vratu in 1/1 atipičnega karcinoida priželjca. Pri limfomih celic T/NK (0/3), akutnem limfoblastnem limfomu primitivnih celic B/T (0/1), možganskih tumorjih (0/2), tumorjih požiralnika (0/2), tumorjih želodca (0/2), tumorjih jezika (0/2), tumorjih testisov (0/2), tumorjih kolona (0/2), rektalnih tumorjih (0/2), kožnih tumorjih (0/2), tumorjih mehkih tkiv (0/2) in tumorju grla (0/1) niso opazili nobenega obarvanja. (Skupno število ocenjenih primerov s tumorji = 236).

**Protitelesa Bcl-2 (bcl-2/100/D5) se priporočajo za oceno izražanja proteina onkoproteina Bcl-2 v normalnih in neoplastičnih tkivih.**

## Specifične omejitve izdelka

Družba Leica Biosystems je protitelo Bcl-2 (bcl-2/100/D5) optimizirala za uporabo s sistemom BOND Polymer Refine Detection in pomožnimi reagenti BOND. Uporabniki, ki odstopijo od priporočenih preizkusnih postopkov, morajo prevzeti odgovornost za razlago bolnikovih rezultatov pod temi pogoji. Trajanje protokola se lahko spremeni zaradi razlik pri fiksiranju tkiv in učinkovitosti izboljšave antigena ter se mora določiti empirično. Uporabiti morate negativne kontrolne reagentne, kadar optimizirate pogoje razkrivanja in trajanje protokola.

## Odpravljanje težav

Glejte 3. navedbo za ukrep za odpravljanje napake.

Če želite poročati 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. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. Oncogene. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijffels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. Journal of Pathology. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. Journal of Pathology. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. American Journal of Pathology. 1990; 137(2):225-232.

## Datum izdaje

10 september 2018

# BOND™ Primární protilátka připravená k použití

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

Kat. č.: PA0117

### Zamýšlené použití

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

Monoklonální protilátka Bcl-2 (bcl-2/100/D5) je určena k použití při kvalitativním stanovení lidského onkoproteinu Bcl-2 světelnou mikroskopií ve tkáni fixované formalínem a zailité v parafínu imunohistochemickým barvením pomocí automatického systému BOND system (včetně systému 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 reagensí BOND“ v uživatelské dokumentaci BOND). Primární protilátka Bcl-2 (bcl-2/100/D5) je produkt připravený k použití, který byl specificky optimalizován k použití se soupravou BOND Polymer Refine Detection. Průkazu lidského onkoproteinu Bcl-2 se dosáhne tím, že se nejprve umožní vazba Bcl-2 (bcl-2/100/D5) na řezu, a poté se tato vazba vizualizuje pomocí reagensí dodaných v detekčním systému. Použití těchto produktů v kombinaci s automatickým systémem BOND system (včetně systému Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system) snižuje možnost lidské chyby a inherentní variability v důsledku ředění jednotlivých reagensí, manuálního pipetování a použití reagensí.

### Dodávané reagensie

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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% ProCln™ 950.

Celkový objem = 7 ml.

### Klon

bcl-2/100/D5

### Imunogen

Sekvence syntetických peptidů (GAAPAPGIFSSQPGC-COOH).

### Specifita

Lidský onkoprotein Bcl-2.

### Třída Ig

IgG1.

### Koncentrace celkového proteinu

Přibližně 10 mg/ml.

### Koncentrace protilátek

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

### Ředění a míchání

Primární protilátka Bcl-2 (bcl-2/100/D5) je optimálně naředěná k použití v systému BOND system (včetně systému Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system). Rekonstituce, míchání, ředění ani titrace této reagensie nejsou nutné.

### Potřebný materiál, který není součástí dodávky

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

### Skladování a stabilita

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

Známky signalizující kontaminaci a/nebo nestabilitu Bcl-2 (bcl-2/100/D5) jsou: zkalení roztoku, vznik zápachu a přítomnost precipitátů.

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

Podmínky skladování jiné než výše uvedené musí uživatel<sup>1</sup> validovat.

### Bezpečnostní opatření

- Tento produkt je určen pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
- Koncentrace přípravku ProCln™ 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 reagensiemi používejte rukavice na jedno použití.
- Výtisk bezpečnostního listu materiálu získáte od místního distributora nebo oblastní kanceláře společnosti Leica Biosystems, nebo můžete navštívit webovou stránku Leica Biosystems: [www.LeicaBiosystems.com](http://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 opatření<sup>2</sup>. Nikdy reagensie nepipetujte ústy a zabraňte kontaktu reagensí a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagensie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody. Vyhleďte lékařskou pomoc.



- Údaje o likvidaci jakýchkoli potenciálně toxických komponent prostudujte ve federálních, státních nebo místních nařízeních.
- Minimalizujte mikrobiální kontaminaci reagensů, mohlo by dojít ke zvýšení výskytu nespecifického barvení.
- Odmaskování, inkubační doby nebo teploty jiné než specifikované mohou vést k chybným výsledkům. Všechny takové změny musí být uživatelem validovány.

## Návod k použití

Primární protilátka Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 Bcl-2 (bcl-2/100/D5) je imunohistochemický protokol F. Teplem indukované odmaskování epitopu se doporučuje s použitím roztoku BOND Epitope Retrieval Solution 2 po dobu 20 minut.

## Očekávané výsledky

### Normální tkáň

Klon bcl-2/100/D5 barvil cytoplazmu a membránu lymfocytů v pláštěvé zóně a oblastech T-buněk lymfoidní tkáně, ale pouze několik buněk v zárodečných centrech. Cytoplazmatické, membránové a některé perinukleární barvení bylo rovněž pozorováno u různých ostatních tkání, včetně epitelu prostaty, štítné žlázy a prsu. (Celkový počet barvených tkání = 96).

### Nádorové tkáň

Klon bcl-2/100/D5 barvil 94/112 difúzních velkobuněčných B-lymfomů, 8/26 lymfomů u Hodgkinovy choroby, 13/15 folikulárních lymfomů, 12/12 chronických lymfocytických lymfomů 7/7 lymfomů z plášťových buněk, 4/6 anaplastických velkobuněčných T-lymfomů, 4/4 angioimunoblastických T-lymfomů, 2/3 T-lymfomů, 2/2 akutních lymfoblastických B-lymfomů, 1/1 periferního T-lymfomu a 1/1 lymfomu z buněk marginální zóny, 1/4 nádorů plic (včetně 1/1 nemalobuněčného karcinomu, 0/1 adenokarcinomu, 0/1 karcinomu skvamózních buněk a 0/1 velkobuněčného karcinomu), 2/4 ovariálních nádorů (včetně 1/1 serózního cystadenokarcinomu, 1/1 clear cell karcinomu, 0/1 maligního nádoru germinálních buněk a 0/1 mucinózního cystadenokarcinomu), 1/4 nádorů jater (včetně 1/1 metastatického karcinomu, 0/2 hepatocelulárních karcinomů a 0/1 cholangiokarcinomu), 3/3 papilárních karcinomů štítné žlázy, 2/2 infiltrujících ductálních karcinomů prsu, 2/2 metastatických nádorů neznámého původu, 1/2 karcinomu renálních buněk, 1/2 karcinomu skvamózních buněk děložního hrdla, 1/1 atypického karcinoidu thymu. Barvení nebylo pozorováno u T/NK lymfocytů (0/3), primitivního akutního lymfoblastického B/T lymfomu (0/1), nádorů mozku (0/2), nádorů jícnu (0/2), nádorů žaludku (0/2), nádorů jazyka (0/2), testikulárních nádorů (0/2), nádorů tlustého střeva (0/2), nádorů rekta (0/2), nádorů kůže (0/2), nádorů měkkých tkání (0/2) a nádoru hrtanu (0/1). (Celkový počet vyšetřovaných nádorů = 236).

**Bcl-2 (bcl-2/100/D5) se doporučuje k hodnocení exprese onkoproteinu Bcl-2 u normálních a neoplastických tkání.**

## Omezení specifická pro tento produkt

Produkt Bcl-2 (bcl-2/100/D5) byl společností Leica Biosystems optimalizován pro použití se soupravou BOND Polymer Refine Detection a s pomocnými reagensy BOND. Uživatelé, kteří se při vyšetření odchýlí od doporučeného postupu, musí za těchto okolností přijmout odpovědnost za interpretaci výsledků u pacienta. Doby uvedené v protokolu se mohou lišit v důsledku odchylek při fixaci tkání a účinnosti při zvýraznění antigenu a musí být stanoveny empiricky. Při optimalizačních podmínkách pro odmaskování a pro doby v protokolu musí být použity reagenty 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. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. *Oncogene*. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijffels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. *Journal of Pathology*. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. *Journal of Pathology*. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *American Journal of Pathology*. 1990; 137(2):225-232.

## Datum vydání

10 září 2018

# BOND™ Pripravené na Použitie Primárne Protilátky

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

### Katalógové č.: PA0117

#### Zamýšľané použitie

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

Monoklonálna protilátka Bcl-2 (bcl-2/100/D5) je určená na použitie pri kvalitatívnej identifikácii ľudského onkoproteínu Bcl-2 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 Bcl-2 (bcl-2/100/D5) je produkt pripravený na okamžité použitie, ktorý bol špecificky optimalizovaný na použitie so systémom BOND Polymer Refine Detection. Preukázanie ľudského onkoproteínu Bcl-2 sa vykonáva tak, že najprv sa umožní väzba prípravku Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) je myšia anti-ľudská monoklonálna protilátka vyprodukovaná ako supernatant bunkových kultúr a dodávaná v triš pufovanom fyziologickom roztoku s transportným proteínom, obsahujúca 0,35 % prípravku ProClin™ 950 ako konzervačnej látky.

Celkový objem = 7 ml.

#### Klon

bcl-2/100/D5

#### Imunogén

Sekvencia syntetických peptidov (GAAPAGIFSSQPGC-COOH).

#### Špecifická

Ľudský Bcl-2 onkoproteín.

#### Trieda Ig

IgG1.

#### Celková koncentrácia proteínov

Čca 10 mg/ml.

#### Koncentrácia protilátok

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

#### Riedenie a miešanie

Primárna protilátka Bcl-2 (bcl-2/100/D5) je optimálne zriedená na použitie v systéme BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III). Rekonštitúcia, miešanie, riedenie ani titrácia tohto činidla nie sú potrebné.

#### Požadovaný nedodaný materiál

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

#### Uskladnenie a stabilita

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

Známky signalizujúce kontamináciu alebo nestabilitu prípravku Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 používateľom<sup>1</sup>.

#### 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.
- Materiálový bezpečnostný list vám poskytne miestny distribútor alebo regionálna pobočka spoločnosti Leica Biosystems, prípadne navštívte webovú lokalitu spoločnosti Leica Biosystems [www.LeicaBiosystems.com](http://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<sup>2</sup>. Činidlá nikdy nepipetujte ústami a zabráňte kontaktu činidiel a vzoriek s kožou a sliznicami. Ak sa činidlo alebo vzorky dostanú do kontaktu s citlivými oblasťami, umyte ich veľkým množstvom vody. Vyhľadajte lekársku pomoc.
- Likvidáciu prípadných potenciálne toxických súčastí definujú federálne, štátne alebo miestne predpisy.
- Minimalizujte mikrobiálnu kontamináciu činidiel. V opačnom prípade môže dôjsť k zvýšeniu nešpecifického zafarbenia.
- Nedodržanie predpísaných dôb záchytu, inkubačných dôb alebo teplôt môže viesť k nesprávnym výsledkom. Všetky takéto zmeny si vyžadujú validáciu používateľom.

## Návod na použitie

Primárna protilátka Bcl-2 (bcl-2/100/D5) bola vytvorená na použitie v automatizovanom systéme BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III) v spojitosti so systémom BOND Polymer Refine Detection. Odporúčany protokol farbenia pre primárnu protilátku Bcl-2 (bcl-2/100/D5) 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 bcl-2/100/D5 zafarbil cytoplazmu a membránu lymfocytov v plášťových zónach a T-bunkových oblastiach lymfatického tkaniva, ale iba niekoľko buniek v germinálnych centrách. Cytoplazmatické, membránové a niektoré perinukleárne zafarbenie sa zaznamenalo aj v rôznych iných tkanivách vrátane epitelu prostaty, štítnej žľazy a prsníka. (Celkový počet zafarbení = 96).

### Nádorové tkanivá

Klon bcl-2/100/D5 zafarbil 94/112 difúzných veľkých B-bunkových lymfómov, 8/26 Hodgkinovej choroby, 13/15 folikulárných lymfómov, 12/12 chronických lymfocytárných lymfómov, lymfómov buniek 7/7, 4/6 T-bunkových anaplastických veľkých bunkových lymfómov, 4/4 angioimunoblastické T-bunkové lymfómy, 2/3 lymfómov T-buniek, 2/2 B-bunkové akútne lymfoblastické lymfómy, 1/1 periférneho T-bunkového lymfómu a 1/1 lymfómu okrajovej zóny, 1/4 pľúcnych nádorov (vrátane 1/1 nemalobunkového karcinómu, 0/1 adenokarcinómu, 0/1 spinocelulárneho karcinómu a 0/1 veľkého bunkového karcinómu), 2/4 tumorov vaječníkov (vrátane 1/1 serózneho cystadenokarcinómu, 1/1 číreho karcinómu buniek, 0/1 malígneho nádoru zárodočných buniek a 0/1 mucinózneho cystadenokarcinómu), 1/4 nádoru pečene (vrátane 1/1 metastazujúceho karcinómu, 0/2 hepatocelulárneho karcinómu a 0/1 cholangiokarcinómu), 3/3 papilárných karcinómov štítnej žľazy, 2/2 nádorových infiltrujúcich ductálnych karcinómov, 2/2 metastatických nádorov neznámeho pôvodu, 1/2 karcinómu obličkových buniek, 1/2 karcinómu skvamózných buniek krčka maternice a 1/1 atypického karcinoidu týmusu. Nepozorovalo sa žiadne zafarbenie T/NK lymfómov (0/3), primitívneho akútneho lymfoblastového lymfómu B/T-buniek (0/1), mozgových nádorov (0/2), nádorov pažeráka (0/2), žľadočných nádorov (0/2), nádorov jazyka (0/2), nádorov semenníkov (0/2), nádorov hrubého čreva (0/2), rektálnych nádorov (0/2), kožných nádorov (0/2), nádorov mäkkých tkanív (0/2) a nádorov hrtana (0/1). (Celkový počet vyšetrených nádorov = 236).

**Bcl-2 (bcl-2/100/D5) sa odporúča na vyhodnotenie expresie onkoproteínu Bcl-2 v normálnom tkanive a novotvare.**

## Špecifické obmedzenia pre tento výrobok

Bcl-2 (bcl-2/100/D5) bol v spoločnosti Leica Biosystems optimalizovaný na použitie so systémom BOND Polymer Refine Detection a pomocnými činidlami BOND. Používatelia, ktorí sa odchyľia od odporúčaných testovacích postupov, musia akceptovať zodpovednosť za interpretáciu výsledkov pacienta za týchto okolností. Časy podľa protokolu sa môžu líšiť z dôvodu odchýlok vo fixácii tkaniva a účinnosti zvyraznenia antigénu a musia sa zistiť empiricky. Pri optimalizácii podmienok záchytu a časov podľa protokolov je potrebné použiť negatívne kontroly činidlom.

## Riešenie problémov

Pri náprave môže byť nápomocná referencia 3.

Neobyčké 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. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. *Oncogene*. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijnfels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. *Journal of Pathology*. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. *Journal of Pathology*. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *American Journal of Pathology*. 1990; 137(2):225-232.

## Dátum vydania

10 septembra 2018

# BOND™ تيلولاً ةداضملاً ماسجلاً مادختسلاد زهاج

## Bcl-2 (bcl-2/100/D5)

### رقم الدليل: PA0117

#### الاستعمال المستهدف

هذا الكاشف مخصص للاستعمال في أعراض التشخيص في المختبرات.

إن الغرض من الجسم المضاد أحادي النسيلة Bcl-2 (bcl-2/100/D5) هو استخدامه في التحديد النوعي بواسطة المجهر الضوئي لأنكبروتين Bcl-2 البشري في النسيج المثبت بالفورمالين، والمضمّن في البرافين عن طريق التلطّيح الكيميائي النسيجي المناعي باستخدام نظام BOND الآلي (يشمل نظامي Leica BOND-MAX و Leica BOND-III).

ينبغي أن يُستكمل التفسير السريري لوجود أي تلوّيح أو غيابه من خلال الدراسات المورفولوجية والوضوابط الصحية، وينبغي تقييم ذلك في سياق التاريخ السريري للمريض وغيره من الاختبارات التشخيصية التي يُجرىها أخصائي مؤهل في علم الأمراض.

#### الملخص والشرح

يمكن استخدام الأساليب الكيميائية النسيجية المناعية لإثبات وجود موادّات المضادات في النسيج والخلايا (انظر "استعمال كواشف BOND" في وثائق مستخدم BOND التي بحوزتكم). الجسم المضاد الأولي Bcl-2 (bcl-2/100/D5) عبارة عن منتج جاهز للاستعمال تم تحسينه تحديداً من أجل استخدامه مع نظام BOND Polymer Refine Detection. يتحقّق إظهار أنكبروتين Bcl-2 البشري من خلال السماح أو لا يُربط Bcl-2 (bcl-2/100/D5) بالقطع، ثم تصوير هذا الربط باستخدام الكواشف المتوفرة في نظام الكاشف. يقلل استخدام هذه المنتجات، جنباً إلى جنب مع نظام BOND الآلي (يشمل نظامي Leica BOND-MAX و Leica BOND-III)، من إمكانية حدوث خطأ بشري وتغييرات متأصلة ناتجة عن تخفيف الكاشف القوي، والمص اليدوي، واستعمال الكاشف.

#### الكواشف المتوفرة

يعتبر Bcl-2 (bcl-2/100/D5) جسماً مضاداً مضاداً بشرياً أحادي النسيلة لدى الفئران يتم إنتاجه كمادة طافية لزراعة الأنسجة، ويتم توفيره في محلول ملحي ثلاثي منظم مع بروتين حامل، ويحتوي على 0.35% من 950 ProClin كمادة حافظة.

الحجم الكلي = 7 مل.

#### المستسخ

bcl-2/100/D5

#### المستضد

تسلسل ببتيد تخليقي (GAAPAPGIFSSQPGC-COOH).

#### الخصوصية

أنكبروتين Bcl-2 البشري.

#### فئة الغلوبولين المناعي

IgG1.

#### تركيز البروتين الكلي

نحو 10 مجم/مل تقريباً

#### تركيز الجسم المضاد

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

#### التخفيف والخلط

تم تحسين Bcl-2 (bcl-2/100/D5) للاستخدام في نظام BOND (يشمل نظامي Leica BOND-MAX و Leica BOND-III). لا يلزم إعادة تشكيل هذا الكاشف، أو خلطه، أو تخفيفه، أو معايرته.

#### المواد المطلوبة لكتبة غير متوفرة

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

#### التخزين والاستقرار

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

تمثل العلامات التي تشير إلى تلوث Bcl-2 (bcl-2/100/D5) والأو عدم استقراره في: تعكر المحلول، وانبعاث رائحة، ووجود راسب.

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

يجب التحقق من ظروف التخزين بمعرفة المستخدم بخلاف الظروف المحددة أعلاه<sup>1</sup>.

#### الاحتياطات

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

## تعليمات الاستخدام

تم تطوير الجسم المضاد الأولي Bcl-2 (bcl-2/100/D5) لاستخدامه في نظام BOND الآلي (يشمل نظائري Leica BOND-MAX و Leica BOND-III) بالاقتران مع نظام BOND Polymer Refine Detection. يتمثل بروتوكول التلوين الموصى به للجسم المضاد الأولي Bcl-2 (bcl-2/100/D5) في IHC Protocol F. ويوصى باسترجاع الحاتمة المثار بالحرارة بوجود محلول استرجاع BOND Epitope Retrieval Solution 2 لمدة 20 دقيقة.

## النتائج المتوقعة

### الأنسجة العادية

لتحقيق مستنسخ bcl-2/100/D5 السيتوبلازم وأغشية الخلايا الليفافية في المناطق المنتشرة ومناطق الخلايا الثانية في الأنسجة الليفافية، باستثناء عدد قليل من الخلايا في المراكز الجرثومية. كما لوحظ أيضاً وجود تلوين في السيتوبلازم، والأغشية، وبعض التلوين حول النواة في العديد من الأنسجة، بما في ذلك الخلايا الظهارية في البروستاتا، والغدة الدرقية، والثدي. (إجمالي عدد الحالات الملطخة = 96).

### الأنسجة الورمية

مستنسخ bcl-2/100/D5 لطح 94/112 من لمفومات الخلايا البائية الكبيرة المنتشرة، و 8/26 من مرض هودجكين، و 13/15 من المغمومات الليمفاوية، و 12/12 من المغمومات اللمفاوية المزمنة، و 7/7 من لمفومات الخلايا المنتشرة، و 4/6 من لمفومات الخلايا الثانية للكتيمية الكبيرة، و 4/4 من لمفومات الخلايا الثانية الأرومية المناعية الوبائية، و 2/3 من لمفومات الخلايا الثانية، و 2/2 من لمفومات الخلايا البائية الأرومية اللمفاوية الحادة، و 1/1 من لمفومات الخلايا الثانية المحيطية، و 1/1 من لمفومات المنطقة الهامشية، و 1/4 من أورام الرئة (ومنها 1/1 من سرطان الخلايا غير الصغيرة، و 0/1 من سرطان الغدي، و 0/1 من سرطان الخلايا الحرشفية، و 0/1 من سرطان الخلايا الكبيرة)، و 2/4 من أورام المبيض (ومنها 1/1 من سرطان الغدي الكبيبي المصلي، و 1/1 من سرطان الخلايا المساقية، و 0/1 من أورام الخلايا الجرثومية الخبيثة، و 0/1 من سرطان الغدي الكبيبي الموضيقي)، و 1/4 من أورام الكبد (ومنها 1/1 من سرطان الغدي، و 0/2 من سرطان الخلايا الكبدية، و 0/1 من سرطان القنوات الصفراوية)، و 3/3 من سرطان الغدة الدرقية الحليمي، و 2/2 من سرطان الثدي، و 2/2 من الأورام الغدية من أصل غير معروف، و 1/2 من سرطان الخلايا الكولوية، و 1/2 من سرطان الخلايا الحرشفية العنقية، و 1/1 من الأورام السرطانية غير المنطوية بالغدة الصغرية. لم يلاحظ وجود أي تلوين في لمفومات الخلايا الثانية NK (0/3)، ولمفومات الخلايا البائية/الثانية الأرومية اللمفاوية البائية الحادة (0/1)، وأورام المخ (0/2)، وأورام المريء (0/2)، وأورام المعدة (0/2)، وأورام اللسان (0/2)، وأورام الخصية (0/2)، وأورام القولون (0/2)، وأورام المستقيم (0/2)، وأورام الجلد (0/2)، وأورام الأنسجة الرخوة (0/2)، وأورام الحنجرة (0/1). (إجمالي عدد الحالات الورمية التي تم تقييمها = 236).

## يوصى باستخدام Bcl-2 (bcl-2/100/D5) في تقييم التعبير عن أنكويرتين Bcl-2 في الأنسجة العادية والورمية.

### القيود الخاصة بالمنتج

تم تحسين Bcl-2 (bcl-2/100/D5) في Leica Biosystems لاستخدامه مع نظام BOND Polymer Refine Detection وكواشف BOND المساعدة على المستخدمين الذين يحددون إجراءات الاختبار الموصى بها قبل تحمل المسؤولية عن تفسير نتائج المرضى في ظل هذه الظروف. قد يختلف عدد مرات البروتوكول، بسبب الاختلاف في تثبيت الأنسجة وفعالية تعزيز المستنسخ، وذلك يجب تحديده تجريبياً. ينبغي استعمال ضوابط الكواشف السلبية عند تحسين ظروف الاسترجاع وعدد مرات البروتوكول.

### اكتشاف المشكلات وحلها

ارجع إلى المرجع رقم 3 للاطلاع على الإجراءات العلاجية.

اتصل بالموزع المحلي Leica Biosystems الإقليمي للإبلاغ عن أي تلوين غير اعتيادي.

### المزيد من المعلومات

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

### قائمة المراجع

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis via a bax-dependent pathway in human carcinoma cells. Oncogene. 2002; 21(25):4009-4019.
5. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Wijffels K et al. Expression of genetic markers in lymph node metastases compared with their primary tumours in head and neck cancer. Journal of Pathology. 2001; 194:298-302.
6. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localization and function in neuroblastoma. Evidence for defective G1 arrest despite WAF1 induction in MYCN-amplified cells. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067-2077.
7. Ramani P and Lu Q-L. Expression of bcl-2 gene product in neuroblastoma. Journal of Pathology. 1994; 172:273-278.
8. Pezzella F, Tse AGD, Cordell JL et al. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. American Journal of Pathology. 1990; 137(2):225-232.

### تاريخ الإصدار

10 سبتمبر 2018

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

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

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

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