

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody p57 Protein (Kip2)



Product Code: NCL-L-p57

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

Instructions for Use

Please read before using this product.

Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

Istruzioni per l'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

Instrucciones de uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

Bruksanvisning

Var god läs innan ni använder produkten.

Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

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.

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.

Verifique a integridade da embalagem antes de utilizar o produto.

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.

Před uporabo preverite celovitost embalaže.

Před použitím zkontrolujte neporušenost obalu.

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody p57 Protein (Kip2)

Product Code: NCL-L-p57

Intended Use

For in vitro diagnostic use.

NCL-L-p57 is intended for the qualitative identification by light microscopy of human p57 protein, also known as Kip2 protein, in paraffin sections. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Principle of Procedure

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

Clone

25B2

Immunogen

Prokaryotic recombinant antigen corresponding to a 116 amino acid region of the N-terminus of the p57 protein.

Specificity

Human p57 protein, also known as Kip2 protein.

Reagent Composition

NCL-L-p57 is a liquid tissue culture supernatant containing sodium azide as a preservative.

Ig Class

IgG1

Total Protein Concentration Total Protein

Refer to vial label for lot specific total protein concentration.

Antibody Concentration

Greater than or equal to 19 mg/L as determined by ELISA. Refer to vial label for lot specific Ig concentration.

Recommendations On Use

Immunohistochemistry on paraffin sections.

Heat Induced Epitope Retrieval (HIER): Please follow the instructions for use in Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Suggested dilution: 1:50 for 30 minutes at 25 °C. This is provided as a guide and users should determine their own optimal working dilutions.

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

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

Storage and Stability

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

Specimen Preparation

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

Warnings and Precautions

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

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

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

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

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

Quality Control

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

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

Positive Tissue Control

Used to indicate correctly prepared tissues and proper staining techniques.

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

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

Recommended positive control tissue is placenta.

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

Negative Tissue Control

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

Recommended negative control tissue is liver hepatocytes.

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

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

Negative Reagent Control

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

Patient Tissue

Examine patient specimens stained with NCL-L-p57 last. Positive staining intensity should be assessed within the context of any non-specific background staining of the negative reagent control. As with any immunohistochemical test, a negative result means that the antigen was not detected, not that the antigen was absent in the cells/tissue assayed. If necessary, use a panel of antibodies to identify false-negative reactions.

Results Expected

Normal Tissues

Clone 25B2 detected the p57 protein in the nucleus of Hofbauer cells, trophoblasts and decidua of placenta, fibroblastic cells of Wharton's jelly in the umbilical cord, adrenal cortical cells in the zona glomerulosa, glomerular endothelial cells in the kidney and occasional cells within the seminiferous tubules and endometrial stroma. Cytoplasmic and nuclear staining was seen in acinar cells in the pancreas and epithelium in the ileum, cecum, gall bladder and cervix. Cytoplasmic staining was seen in ductal epithelium of the parotid gland, macrophages and occasional pneumocytes in lung, with weak staining in ductal epithelial cells in breast, kidney tubules, and epithelia and chondrocytes in bronchus. Staining was also noted of nerve fibers and ganglia of the gastrointestinal tract, and of neuronal processes and axons of the cerebral cortex, basal ganglia, hippocampus and the granular layer of the cerebellum. (Number of normal cases evaluated = 44).

Abnormal Tissues

Clone 25B2 displayed nuclear staining in 28/31 hydropic abortions, 20/20 simple abortions, 32/34 partial hydatidiform moles and 5/33 complete hydatidiform moles. (Sharifi, et al 2009, Maggiori & Peres 2007). Staining was also observed in 3/4 papillary carcinomas of the thyroid, 1/2 soft tissue tumors (including 1/1 ganglioneuroma and 0/1 fibromatosis), 1/2 brain tumors (including 1/1 anaplastic astrocytoma and 0/1 choroid plexus papilloma), 2/2 metastatic tumors of unknown origin, and 2/2 renal cell carcinomas. Cytoplasmic staining was observed in 1/2 infiltrating ductal carcinomas of the breast, 1/2 gastric adenocarcinomas, with weak staining in 1/1 cholangiocarcinoma. Focal cytoplasmic staining was observed in 2/2 squamous cell carcinomas of the esophagus, 1/1 squamous cell carcinoma of the larynx, 2/2 squamous cell carcinomas of the tongue and 1/2 squamous cell carcinomas of the cervix. Weak nuclear and/or cytoplasmic staining was observed in 2/4 lung tumors (including 1/1 non-small cell carcinoma, 0/1 adenocarcinoma, 1/1 squamous cell carcinoma and 0/1 large cell carcinoma), 1/1 mucinous cystadenocarcinoma of the ovary and 1/2 adenocarcinomas of the colon. Weak nuclear staining was observed in 1/1 atypical carcinoid of the thymus and 1/2 hepatocellular carcinomas. No staining was observed in testicular seminomas (0/2), adenocarcinomas of the rectum (0/2), a metastatic carcinoma of the liver, a malignant ovarian germ cell tumor, an ovarian serous cystadenocarcinoma, an ovarian clear cell carcinoma, a dermatofibrosarcoma and a squamous cell carcinoma of the skin. (Number of abnormal cases evaluated = 162).

NCL-L-p57 (25B2) is recommended for the assessment of p57 protein in normal and neoplastic tissues, as an adjunct to conventional histopathology using non-immunologic histochemical stains.

General Limitations

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

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

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

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

Bibliography - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Kanthan R, Fried I, Rueckl T, et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma. *World Journal of Surgical Oncology* 2010; 8:10.
6. Sharifi N, Sadeghian MH, Ayatollahi H, et al. Validity of P57kip2 immunohistochemical marker in differential diagnosis of molar pregnancy. *Journal of the Turkish-German Gynecological Association* 2009;10:39-42.
7. Maggiori MS and Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome in situ hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology* 2007; 135: 170-176.

Amendments to Previous Issue

Update to CE format.

Date of Issue

16 June 2017

Novocastra™ Anticorps monoclonal de souris liquide p57 Protein (Kip2) Référence du Produit: NCL-L-p57

Utilisation Prévue

Diagnostic in vitro.

Le NCL-L-p57 est destiné à l'identification qualitative par microscopie optique de la protéine p57 humaine, également connue sous le nom de protéine Kip2 sur coupes en paraffine. L'interprétation clinique de tout marquage, ou absence de marquage, doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée par un pathologiste qualifié à la lumière des antécédents cliniques du patient et d'autres analyses diagnostiques.

Principe de la Procédure

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

Clone

25B2

Immunogène

Antigène recombinant procaryote correspondant à la région des 116 acides aminés du N terminal de la protéine p57.

Spécificité

Protéine p57 humaine, également connue sous le nom de protéine Kip2.

Composition du Réactif

Le NCL-L-p57 est un surnageant de culture tissulaire liquide contenant de l'azide de sodium comme agent de conservation.

Classe d'Ig

IgG1

Concentration Totale en Protéines

Total Protein

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

Concentration en Anticorps

Supérieure ou égale à 19 mg/l, déterminée par la méthode ELISA. La concentration totale en Ig, spécifique du lot, figure sur l'étiquette du flacon.

Recommandations d'utilisation

Immunohistochimie sur coupes en paraffine.

Récupération des épitopes induite par la chaleur (HIER, Heat Induced Epitope Retrieval) : Respecter le mode d'emploi de la Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Dilution préconisée: 1:50 durant 30 minutes à 25 °C. Ceci n'est donné qu'à titre indicatif et les utilisateurs doivent déterminer leurs propres dilutions de travail optimales.

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

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

Conservation et Stabilité

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

Préparation des Spécimens

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

Mises en Garde et Précautions

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

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

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

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

Minimiser la contamination microbienne des réactifs sinon un accroissement du marquage non spécifique est susceptible de se produire. Des durées et des températures d'incubation différentes de celles qui ont été spécifiées sont susceptibles de conduire à des résultats erronés. Toutes les modifications doivent être validées par l'utilisateur.

Contrôle de Qualité

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

Tissu de Contrôle Positif

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

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

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

Le tissu de contrôle positif recommandé est le placenta.

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

Tissu de Contrôle Négatif

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

Le foie (hépatocytes) constitue le tissu de contrôle négatif recommandé.

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

S'il est présent, le marquage non spécifique prend habituellement une apparence diffuse. Un marquage sporadique du tissu conjonctif peut également être observé sur des coupes de tissus qui ont été fixées par un excès de formol. Utiliser des cellules intactes pour l'interprétation des résultats du marquage. Les cellules nécrotiques ou dégénérées sont souvent marquées de façon non spécifique.³ Des résultats faussement positifs peuvent être observés en raison d'une liaison non immunologique à des protéines ou à des produits de réaction du substrat. Ils peuvent également être provoqués par des enzymes endogènes comme la pseudoperoxydase (érythrocytes), la peroxydase endogène (cytochrome C), ou la biotine endogène (foie, sein, cerveau, rein, par exemple) selon le type d'immunomarquage utilisé. Pour différencier l'activité des enzymes endogènes ou la liaison non spécifique d'enzymes de l'immunoréactivité spécifique, des tissus supplémentaires du patient peuvent être marqués exclusivement avec le substrat chromogène ou par des complexes enzymatiques (avidine-biotine, streptavidine, polymère marqué) et le substrat chromogène respectivement. Si un marquage spécifique se produit dans le tissu de contrôle négatif, les résultats des spécimens du patient doivent être considérés comme invalides.

Réactif de Contrôle Négatif

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

Tissu du Patient

Examiner les spécimens du patient marqués au NCL-L-p57 en dernier lieu. L'intensité du marquage positif doit être évaluée à la lumière du bruit de fond du marquage non spécifique du réactif de contrôle négatif. Comme pour toutes les analyses immunohistochimiques, un résultat négatif signifie que l'antigène n'a pas été détecté mais ne signifie pas qu'il est absent des cellules/tissus testés. Si nécessaire, employer un panel d'anticorps pour identifier les réactions faussement négatives.

Résultats Attendus

Tissus normaux

Le clone 25B2 a détecté la protéine p57 dans le noyau des cellules de Hofbauer, des trophoblastes et de la déciduale du placenta, des cellules fibroblastiques de la gelée de Wharton dans le cordon ombilical, des cellules corticales de la surrénale dans la zone glomérulée, des cellules endothéliales glomérulaires du rein et de cellules occasionnelles dans les tubules séminifères et le stroma de l'endomètre.

Un marquage cytoplasmique et nucléaire a été observé dans les cellules acineuses du pancréas et de l'épithélium de l'iléon, du caecum, de la vésicule biliaire et du col de l'utérus. Un marquage cytoplasmique a été observé dans l'épithélium canalaire de la glande parotide, les macrophages et les pneumocytes occasionnels du poumon, avec un marquage faible des cellules épithéliales canalaire du sein, des tubules rénaux et de l'épithélium et des chondrocytes des bronches. Un marquage des fibres nerveuses et des ganglions du tube digestif et des processus neuronaux et des axons du cortex cérébral, des noyaux gris centraux, de l'hippocampe et de la couche granulaire du cervelet a également été observé. (Nombre de cas normaux évalués = 44).

Tissus anormaux

Le clone 25B2 a présenté un marquage nucléaire dans 28/31 avortements hydropriques, 20/20 avortements simples, 32/34 môles hydatidiformes partielles et 5/33 môles hydatidiformes complètes. (Sharifi, et al 2009, Maggiori & Peres 2007). Un marquage a également été observé dans 3/4 carcinomes papillaires de la thyroïde, 1/2 tumeurs des tissus mous (notamment 1/1 ganglioneurome et 0/1 fibromatose), 1/2 tumeurs du cerveau (notamment 1/1 astrocytome anaplasique et 0/1 papillome du plexus choroïde), 2/2 tumeurs métastatiques d'origine inconnue et 2/2 carcinomes des cellules rénales. Un marquage cytoplasmique a été observé dans 1/2 cancers du sein canaux infiltrants, 1/2 adénocarcinomes gastriques, avec un marquage faible dans 1/1 cholangiocarcinome. Un marquage cytoplasmique focal a été observé dans 2/2 carcinomes cellulaires squameux de l'œsophage, 1/1 carcinome cellulaire squameux du larynx, 2/2 carcinomes cellulaires squameux de la langue et 1/2 carcinomes cellulaires squameux du col de l'utérus. Un marquage nucléaire et/ou cytoplasmique faible a été observé dans 2/4 tumeurs du poumon (notamment 1/1 carcinome non à petites cellules, 0/1 adénocarcinome, 1/1 carcinome cellulaire squameux, 0/1 carcinome à grandes cellules), 1/1 cystadénocarcinome muqueux de l'ovaire et 1/2 adénocarcinomes du côlon. Un marquage nucléaire faible a été observé dans un 1/1 carcinoïde atypique du thymus et 1/2 carcinomes hépatocellulaires. Aucun marquage n'a été observé dans des séminomes testiculaires (0/2), des adénocarcinomes du rectum (0/2), un carcinome métastatique du foie, une tumeur maligne des cellules germinales de l'ovaire, un cystadénocarcinome séreux de l'ovaire, un carcinome à cellules claires de l'ovaire, un dermatofibrosarcome et un carcinome cellulaire squameux de la peau. (Nombre de cas anormaux évalués = 162).

Le NCL-L-p57 (25B2) est recommandé pour l'évaluation de la protéine p57 dans les tissus normaux et néoplasiques, en complément à l'histopathologie traditionnelle utilisant des marqueurs histochimiques non immunologiques.

Limites Générales

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

Le marquage des tissus dépend de leur manipulation et de leur traitement avant le marquage. Une fixation, une congélation, une décongélation, un lavage, un séchage, un chauffage, une coupe, incorrects ou une contamination par d'autres tissus ou d'autres liquides sont susceptibles de conduire à la production d'artefacts, au piégeage de l'anticorps ou à des résultats faussement négatifs. Des variations dans les méthodes de fixation et d'inclusion, ainsi que des irrégularités propres au tissu, peuvent conduire à des résultats incohérents.⁴

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

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

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

Bibliographie Générale

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Kanthan R, Fried I, Rueckl T, et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma. World Journal of Surgical Oncology 2010; 8:10.
6. Sharifi N, Sadeghian MH, Ayatollahi H, et al. Validity of P57kip2 immunohistochemical marker in the differential diagnosis of molar pregnancy. Journal of the Turkish-German Gynecological Association 2009;10:39-42.
7. Maggiori MS and Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome in situ hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology 2007; 135: 170-176.

Amendements Apportés à la Version Précédente

Mise à jour au format CE.

Date de Publication

16 juin 2017

Anticorpo monoclonale murino liquido Novocastra™

p57 Protein (Kip2)

Codice Del Prodotto: NCL-L-p57

Uso Previsto

Per uso diagnostico in vitro.

NCL-L-p57 è destinato all'identificazione qualitativa in microscopia ottica della proteina p57 umana, detta anche proteina Kip2, in sezioni incluse in paraffina. L'interpretazione clinica di ogni colorazione o della sua assenza va integrata da studi morfologici che utilizzino i controlli appropriati e deve essere valutata da un patologo qualificato, nel contesto della storia clinica del paziente e delle altre metodiche diagnostiche adoperate.

Principio Della Procedura

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

Clone

25B2

Immunogeno

Antigene ricombinante in procarioti corrispondente a una regione di 116 amminoacidi dell'N-terminale della proteina p57.

Specificità

Proteina p57 umana, detta anche proteina Kip2.

Composizione Del Reagente

NCL-L-p57 è un supernatante liquido di coltura tissutale, contenente sodio azide come conservante.

Classe Ig

IgG1

Concentrazione Proteica Totale

Total Protein

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

Concentrazione Anticorpale

Superiore o uguale a 19 mg/L, come determinato mediante test ELISA. Consultare l'etichetta del flacone per la concentrazione di Ig specifica del lotto.

Raccomandazioni Per L'uso

Immunostochimica su sezioni incluse in paraffina.

Recupero dell'epitopo mediante calore (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): seguire le istruzioni per l'uso accluse a Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Diluizione raccomandata: 1:50 per 30 minuti a 25 °C. Queste raccomandazioni costituiscono delle semplici linee guida; spetta al singolo utente stabilire le diluizioni di lavoro ottimali.

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

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

Conservazione E Stabilità

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

Preparazione Del Campione Biologico

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

Avvertenze E Precauzioni

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

Fare riferimento alla normativa federale, statale o locale per lo smaltimento dei componenti potenzialmente tossici.

Prima e dopo la fissazione, i campioni biologici e tutti i materiali ad essi esposti vanno trattati come potenzialmente infettanti e smaltiti con le appropriate precauzioni.¹ Non pipettare i reagenti con la bocca ed evitare il contatto dei reagenti e dei campioni biologici con la pelle e con le mucose. Se i reagenti o i campioni biologici vengono a contatto con zone sensibili, sciacquare abbondantemente le parti interessate. Consultare il medico.

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

Tempi o temperature d'incubazione diversi da quelli specificati possono condurre a risultati non veritieri. Tali variazioni devono essere convalidate dall'utente.

Controllo Qualità

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

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

Controllo Positivo Del Tessuto

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

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

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

Il tessuto raccomandato per il controllo positivo è la placenta.

Se il controllo positivo del tessuto non dimostra colorazione positiva, i risultati con i campioni biologici del test vanno considerati non validi.

Controllo Negativo Del Tessuto

Va esaminato dopo il controllo positivo, per verificare la specificità nei confronti dell'antigene bersaglio da parte dell'anticorpo primario.

Il tessuto raccomandato per il controllo negativo sono gli epatociti.

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

La colorazione aspecifica, se presente, assume di solito aspetto diffuso. La colorazione sporadica del tessuto connettivo può anche manifestarsi in seguito ad iperfissazione di sezioni di tessuto in formalina. Per l'interpretazione dei risultati della colorazione, usare cellule intatte. Le cellule necrotiche o degenerate si colorano spesso in maniera aspecifica³. Si possono osservare risultati falsamente positivi, dovuti a legame non immunologico delle proteine o a prodotti di reazione del substrato. Tali falsi positivi possono essere anche causati da enzimi endogeni quali la pseudoperossidasi (eritrociti), la perossidasi endogena (citocromo C) o la biotina endogena (es. fegato, mammella, cervello, rene), a seconda del tipo di immunocolorazione usato. Per differenziare l'attività enzimatica endogena o il legame enzimatico aspecifico dall'immunoreattività specifica, possono essere colorati ulteriori tessuti del paziente esclusivamente con substrato cromogeno o con complessi enzimatici (avidina-biotina, streptavidina, polimero marcato) e substrato cromogeno. Se nel controllo negativo del tessuto compare una colorazione specifica, i risultati sui campioni biologici ottenuti dal paziente devono essere considerati non validi.

Controllo Negativo Del Reagente

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

Tessuto Del Paziente

Successivamente, esaminare i campioni biologici del paziente colorati con NCL-L-p57. L'intensità della colorazione positiva va analizzata nel contesto di qualsiasi colorazione aspecifica di fondo del controllo negativo del reagente. Come per tutti gli altri test immunoistochimici, un risultato negativo significa che l'antigene non è stato determinato, ma non necessariamente che fosse assente dalle cellule o dal tessuto esaminato. Se necessario, usare un pannello di anticorpi per identificare reazioni falsamente negative.

Risultati Attesi

Tessuti normali

Clone 25B2 ha rilevato la proteina p57 nel nucleo delle cellule di Hofbauer, nei trofoblasti e nella decidua della placenta, nelle cellule fibroblastiche della gelatina di Wharton nel cordone ombelicale, nelle cellule della corticale surrenale nella zona glomerulosa, nelle cellule dell'endotelio glomerulare nel rene e occasionalmente nelle cellule dei tubuli seminiferi e dello stroma endometriale. È stata osservata colorazione citoplasmica e nucleare nelle cellule aciniche del pancreas e nell'epitelio dell'ileo, del cieco, della cistifellea e del collo dell'utero. È stata osservata colorazione citoplasmica nell'epitelio duttale della ghiandola parotide, nei macrofagi e occasionalmente negli pneumociti del polmone, con colorazione debole nelle cellule dell'epitelio duttale nella mammella, nei tubuli renali e negli epitelii e condrociti nel bronco. È stata osservata colorazione anche delle fibre nervose e dei gangli del tratto gastrointestinale, e dei processi neuronali e assoni della corteccia cerebrale, dei gangli basali, dell'ippocampo e dello strato granulare del cervelletto. (Numero di casi normali valutati = 44).

Abnorme dei tessuti

Clone 25B2 ha evidenziato colorazione nucleare in 28/31 aborti idropici, 20/20 aborti semplici, 32/34 mole idatiformi parziali e 5/33 mole idatiformi complete. (Sharifi, et al 2009, Maggiori & Peres 2007). È stata osservata colorazione anche in 3/4 carcinomi papillari della tiroide, 1/2 tumori dei tessuti molli (incluso 1/1 ganglioneuroma e 0/1 fibromatosi), 1/2 tumori cerebrali (incluso 1/1 astrocitoma anaplastico e 0/1 papilloma del plesso corioideo), 2/2 tumori metastatici di origine ignota e 2/2 carcinomi a cellule renali. È stata osservata colorazione citoplasmica in 1/2 carcinomi duttali infiltranti della mammella, 1/2 adenocarcinomi gastrici, con colorazione debole in 1/1 colangiocarcinoma. È stata osservata colorazione citoplasmica focale in 2/2 carcinomi a cellule squamose dell'esofago, 1/1 carcinoma a cellule squamose della laringe, 2/2 carcinomi a cellule squamose della lingua e 1/2 carcinomi a cellule squamose del collo dell'utero. È stata osservata colorazione debole nucleare e/o citoplasmica in 2/4 tumori del polmone (incluso 1/1 carcinoma non a piccole cellule, 0/1 adenocarcinoma, 1/1 carcinoma a cellule squamose e 0/1 carcinoma a grandi cellule), 1/1 cistoadenocarcinoma mucinoso dell'ovaio e 1/2 adenocarcinomi del colon. È stata osservata colorazione nucleare debole in 1/1 carcinoma atipico del timo e 1/2 carcinomi epatocellulari. Non è stata osservata alcuna colorazione nei seminomi testicolari (0/2), adenocarcinomi del retto (0/2), un carcinoma metastatico del fegato, un tumore germinale maligno dell'ovaio, un cistoadenocarcinoma sieroso dell'ovaio, un carcinoma a cellule chiare dell'ovaio, un dermatofibrosarcoma e un carcinoma a cellule squamose della pelle. (Numero di casi anomali valutati = 162).

L'uso di NCL-L-p57 (25B2) è consigliato per la valutazione della proteina p57 in tessuti normali e neoplastici, in aggiunta all'istopatologia convenzionale, avvalendosi delle colorazioni istochimiche non immunologiche.

Limitazioni Generali

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

La colorazione del tessuto dipende dalle modalità di manipolazione e di processazione del tessuto stesso, adottate prima della colorazione. La fissazione, il congelamento, lo scongelamento, il lavaggio, l'asciugatura, il riscaldamento o la sezione condotti in modo non corretto, o la contaminazione con altri tessuti o liquidi, possono produrre artefatti, intrappolamento (trapping) anticorpale o risultati falsi negativi. Risultati incompatibili possono essere dovuti a modifiche dei metodi di fissazione e di inclusione o ad irregolarità intrinseche al tessuto.⁴

Una controcolorazione eccessiva o incompleta può compromettere la corretta interpretazione dei risultati.

L'interpretazione clinica di ogni colorazione o della sua assenza va integrata da studi morfologici che utilizzino i controlli appropriati e deve essere valutata da un patologo qualificato, nel contesto della storia clinica del paziente e delle altre metodiche diagnostiche adoperate.

Gli anticorpi di Leica Biosystems Newcastle Ltd. sono destinati all'uso, quando indicato, su sezioni congelate o incluse in paraffina, con specifici requisiti di fissazione. Un'espressione antigenica inattesa può manifestarsi in particolare nelle neoplasie. L'interpretazione clinica di ogni sezione tissutale colorata deve includere l'analisi morfologica e la valutazione dei controlli appropriati.

Riferimenti Bibliografici Di Base

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1-15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Kanthan R, Fried I, Rueckl T, et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma. World Journal of Surgical Oncology 2010; 8:10.
6. Sharifi N, Sadeghian MH, Ayatollahi H, et al. Validity of P57kip2 immunohistochemical marker in differential diagnosis of molar pregnancy. Journal of the Turkish-German Gynecological Association 2009;10:39-42.
7. Maggiori MS and Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome in situ hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology 2007; 135: 170-176.

Modifiche Alla Pubblicazione Precedente

Aggiornamento al formato CE.

Data Di Pubblicazione

16 giugno 2017

Novocastra™ Flüssiger Monoklonaler Maus-Antikörper p57 Protein (Kip2) Produkt-Nr.: NCL-L-p57

Verwendungszweck

Für *in-vitro*-Diagnostik.

NCL-L-p57 ist für den qualitativen Nachweis von humanem p57-Protein, das auch als Kip2-Protein bezeichnet wird, in Paraffinschnitten mittels Lichtmikroskopie vorgesehen. Die klinische Bewertung einer vorliegenden bzw. fehlenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit entsprechenden Kontrollen ergänzt und im Kontext der Krankengeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

Verfahrensgrundlage

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

Klon

25B2

Immunogen

Prokaryotisches rekombinantes Antigen, das einer 116-Aminosäureregion des N-Terminus des p57-Proteins entspricht.

Spezifität

Humanes p57-Protein, auch als Kip2-Protein bezeichnet.

Reagenzzusammensetzung

NCL-L-p57 ist ein flüssiger Gewebekulturüberstand, der Natriumazid als Konservierungsmittel enthält.

Ig-Klasse

IgG1

Gesamtproteinkonzentration Total Protein

Siehe Angaben auf dem Produktetikett bezüglich der chargenspezifischen Gesamtproteinkonzentration.

Antikörperkonzentration

Größer als oder gleich 19 mg/L laut ELISA-Bestimmung. Hinsichtlich der chargenspezifischen Ig-Konzentration siehe Angaben auf dem Produktetikett.

Gebrauchsempfehlungen

Immunhistochemie in Paraffinschnitten.

Hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Bitte Gebrauchsanweisung für Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6 befolgen.

Empfohlene Verdünnung: 1:50 über einen Zeitraum von 30 Minuten bei 25 °C. Dies ist nur eine Empfehlung, und die Benutzer sollten ihre eigenen optimalen Arbeitsverdünnungen bestimmen.

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

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

Lagerung und Stabilität

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

Probenvorbereitung

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

Warnhinweise und Sicherheitsmaßnahmen

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

Dieses Reagenz enthält Natriumazid. Ein Material Sicherheits-Datenblatt ist auf Anfrage von www.LeicaBiosystems.com erhältlich. Die entsprechenden nationalen und lokalen Bestimmungen und Vorschriften zur Entsorgung potentiell giftiger Komponenten sind einzuhalten.

Vor und nach der Fixierung sind die Proben sowie alle Materialien, die mit ihnen in Kontakt gekommen sind, als potentiell

infektiös zu behandeln und daher mit entsprechender Vorsicht zu entsorgen.¹ Reagenzien dürfen niemals mit dem Mund pipettiert werden, und jeglicher Kontakt der Reagenzien und Proben mit Haut und Schleimhäuten ist zu vermeiden. Falls Reagenzien oder Proben mit empfindlichen Bereichen in Kontakt gekommen sind, müssen diese mit reichlich Wasser gespült werden. Ärztlichen Rat einholen.

Die mikrobielle Verunreinigung von Reagenzien ist zu minimieren, da ansonsten eine erhöhte unspezifische Färbung auftreten kann.

Falls die spezifizierten Inkubationszeiten oder –temperaturen nicht eingehalten werden, kann es zu fehlerhaften Ergebnissen kommen. Jegliche Abweichungen von den angegebenen Werten müssen vom Benutzer verifiziert werden.

Qualitätskontrolle

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

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

Positive Gewebekontrolle

Zeigt korrekt vorbereitete Gewebe und korrekte Färbetechniken an.

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

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

Für die positive Gewebekontrolle wird Plazenta empfohlen.

Falls das positive Kontrollgewebe keine positive Färbung nachweisen kann, sollten die mit den Testproben erzielten Ergebnisse als ungültig betrachtet werden.

Negative Gewebekontrolle

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

Für die negative Gewebekontrolle wird Leber (Hepatozyten) empfohlen.

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

Liegt eine unspezifische Färbung vor, hat diese gewöhnlich ein diffuses Erscheinungsbild. Eine sporadische Färbung des Bindegewebes kann ebenfalls in Schnitten von übermäßig formalinfixierten Geweben beobachtet werden. Zur Bewertung der Färbegergebnisse intakte Zellen verwenden. Nekrotische oder degenerierte Zellen werden oft unspezifisch gefärbt.³ Falsch-positive Ergebnisse können aufgrund einer nichtimmunologischen Bindung von Proteinen oder Substratreaktionsprodukten beobachtet werden. In Abhängigkeit von der Art der verwendeten Immunfärbung können solche Ergebnisse auch durch endogene Enzyme wie Pseudoperoxidase (Erythrozyten), endogene Peroxidase (Zytochrom C) oder endogenes Biotin (beispielsweise Leber, Mamma, Gehirn, Niere) hervorgerufen werden. Um eine endogene Enzymaktivität bzw. eine unspezifische Enzymbindung von einer spezifischen Immunreaktivität zu unterscheiden, können zusätzliche Patientengewebe ausschließlich mit Substratchromogen bzw. mit Enzymkomplexen (Avidin-Biotin, Streptavidin, markiertes Polymer) plus Substratchromogen gefärbt werden. Falls im negativen Kontrollgewebe eine spezifische Färbung auftritt, sollten die Ergebnisse mit den Patientenproben als ungültig betrachtet werden.

Negative Reagenzkontrolle

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

Patientengewebe

Die mit NCL-L-p57 gefärbten Patientenproben müssen zuletzt untersucht werden. Eine positive Färbintensität ist im Kontext einer unspezifischen Hintergrundfärbung der negativen Reagenzkontrolle zu bewerten. Wie bei jedem immunhistochemischen Test bedeutet ein negatives Ergebnis, dass das Antigen nicht nachgewiesen wurde. Ein negatives Ergebnis bedeutet jedoch nicht notwendigerweise, dass das Antigen in den getesteten Zellen / im getesteten Gewebe nicht vorlag. Bei Bedarf sollte zur Identifizierung falsch-negativer Reaktionen eine Gruppe von Antikörpern verwendet werden.

Erwartete Ergebnisse

Normale Gewebe

Klon 25B2 wies das p57-Protein im Kern von Hofbauer-Zellen, Trophoblasten und Dezidua der Plazenta, fibroblastischen Zellen der Whartonschen Sulze in der Nabelschnur, Zellen der Nebennierenrinde in der Zona glomerulosa, glomerulären Endothelzellen in der Niere und vereinzelt Zellen in den Hodenkanälchen und im endometriellen Stroma nach. Zytoplasmische und nukleäre Färbung wurde in Azinuszellen im Pankreas und Epithel in Ileum, Blinddarm, Gallenblase und Zervix beobachtet. Zytoplasmische Färbung wurde im Duktusepithel der Ohrspeicheldrüse, Makrophagen und vereinzelt Pneumozyten in der Lunge beobachtet, wobei die Färbung in Duktusepithelzellen in Mamma und Nierentubuli sowie in Epithelien und Chondrozyten im Bronchus schwach war. Zudem wurde eine Färbung von Nervenfasern und Ganglien des Gastrointestinaltrakts und von neuronalen Prozessen und Axonen von Gehirnrinde, Basalganglien, Hippocampus und Stratum granulosum des Kleinhirns beobachtet. (Anzahl der untersuchten Normalgewebeproben = 44).

Anomale Gewebe

Klon 25B2 zeigte bei 28/31 hydropischen Aborten, 20/20 einfachen Aborten, 32/34 partiellen Blasenmolen und 5/33 kompletten Blasenmolen eine nukleäre Färbung. (Sharifi et al. 2009, Maggiori & Peres 2007). Zudem wurde bei 3/4 papillären Schilddrüsenkarzinomen, 1/2 Weichteiltumoren (darunter 1/1 Ganglioneurom und 0/1 Fibromatose), 1/2 Hirntumoren (darunter 1/1 anaplastisches Astrozytom und 0/1 Choroidalplexuspapillom), 2/2 metastasierenden Tumoren unbekanntes Ursprungs und 2/2 Nierenzellkarzinomen eine Färbung beobachtet. Zytoplasmatische Färbung wurde bei 1/2 infiltrierenden Duktuskarzinomen der Brust und 1/2 Adenokarzinomen des Magens beobachtet, wobei die Färbung bei 1/1 Cholangiokarzinom schwach war. Eine fokalen zytoplasmatische Färbung wurde bei 2/2 Plattenepithelkarzinomen der Speiseröhre, 1/1 Plattenepithelkarzinom des Larynx, 2/2 Plattenepithelkarzinomen der Zunge und 1/2 Plattenepithelkarzinomen des Zervix beobachtet. Eine schwache nukleäre und/oder zytoplasmatische Färbung wurde bei 2/4 Lungentumoren (darunter 1/1 nicht-kleinzelliges Karzinom, 0/1 Adenokarzinom, 1/1 Plattenepithelkarzinom und 0/1 großzelliges Karzinom), 1/1 muzinösem Zystadenokarzinom der Eierstöcke und 1/2 Adenokarzinomen des Kolons beobachtet. Eine schwache nukleäre Färbung wurde bei 1/1 atypischen Thymuskarzinoid und 1/2 hepatozellulären Karzinomen beobachtet. Keine Färbung wurde bei Seminomen der Hoden (0/2), Adenokarzinomen des Rektums (0/2), einem metastasierenden Karzinom der Leber, einem malignen Keimzelltumor der Eierstöcke, einem serösen Zystadenokarzinom der Eierstöcke, einem klarzelligem Ovarialkarzinom, einem Dermatofibrosarkom und einem Plattenepithelkarzinom der Haut beobachtet. (Anzahl der insgesamt untersuchten pathologischen Gewebeproben = 162).

NCL-L-p57 (25B2) wird für die Bewertung von p57-Protein in normalem und neoplastischem Gewebe als zusätzliches Hilfsmittel zur herkömmlichen Histopathologie unter Verwendung nicht-immunologischer histochemischer Färbemittel empfohlen.

Allgemeine Beschränkungen

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

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

Eine exzessive oder unvollständige Gegenfärbung kann die korrekte Bewertung von Ergebnissen gefährden.

Die klinische Bewertung einer vorliegenden bzw. fehlenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit entsprechenden Kontrollen ergänzt und im Kontext der Krankengeschichte des Patienten und anderer diagnostischer Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

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

Literatur - Allgemein

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991;7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Kanthan R, Fried I, Rueckl T, et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma. World Journal of Surgical Oncology 2010; 8:10.
6. Sharifi N, Sadeghian MH, Ayatollahi H, et al. Validity of P57kip2 immunohistochemical marker in differential diagnosis of molar pregnancy. Journal of the Turkish-German Gynecological Association 2009;10:39-42.
7. Maggiori MS and Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome in situ hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology 2007; 135: 170-176.

Änderungen zur vorhergehenden Ausgabe

Aktualisierung auf CE-Format.

Ausgabedatum

16 Juni 2017

Anticuerpo monoclonal líquido de ratón Novocastra™

p57 Protein (Kip2)

Código De Producto: NCL-L-p57

Indicaciones De Uso

Para uso diagnóstico in vitro.

NCL-L-p57 está indicado para la identificación cualitativa en secciones de parafina, mediante microscopía óptica, de proteína p57 humana, conocida también como proteína Kip2. La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Principio Del Procedimiento

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

Clon

25B2

Inmunógeno

Antígeno procariótico recombinante, correspondiente a una región de 116 aminoácidos del extremo N terminal de la proteína p57.

Especificidad

Proteína p57 humana, conocida también como proteína Kip2.

Composición Del Reactivo

NCL-L-p57 es un sobrenadante de cultivo tisular líquido que contiene azida sódica como conservante.

Clase de Ig

IgG1

Concentración Total De Proteína Total Protein

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

Concentración De Anticuerpo

Igual o superior a 19 mg/L, según se ha determinado mediante ELISA. Consulte en la etiqueta del vial la concentración de Ig específica del lote.

Recomendaciones De Uso

Inmunohistoquímica con secciones de parafina.

Recuperación de epítomos termoinducida (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Siga las instrucciones de uso de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Dilución sugerida: 1:50 durante 30 minutos a 25 °C. Esta es tan solo una pauta y cada usuario debe determinar sus propias diluciones de trabajo óptimas.

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

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

Almacenamiento Y Estabilidad

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

Preparación De Las Muestras

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

Advertencias Y Precauciones

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

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

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

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

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

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

Control De Calidad

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

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

Control Tisular Positivo

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

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

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

El tejido de control positivo recomendado es placenta.

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

Control Tisular Negativo

Debe examinarse después del control de tejido positivo, a fin de verificar la especificidad del marcado del antígeno diana por el anticuerpo primario.

El tejido de control negativo recomendado es hígado (hepatocitos).

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

Si aparece una tinción no específica, ésta tiene generalmente aspecto difuso. En cortes de tejido fijados excesivamente con formol puede observarse también una tinción esporádica del tejido conectivo. Utilice células intactas para la interpretación de los resultados de la tinción. A menudo, las células necróticas o degeneradas quedan teñidas de forma no específica.³ También pueden observarse falsos positivos causados por la unión no inmunológica a proteínas o a productos de reacción del sustrato. Estos falsos positivos pueden estar causados también por enzimas endógenas tales como la pseudoperoxidasa (eritrocitos), la peroxidasa endógena (citocromo C), o la biotina endógena (por ejemplo, de hígado, mama, cerebro, riñón), en función del tipo de inmunotinción utilizada. Para diferenciar la actividad de las enzimas endógenas o los enlaces no específicos de las enzimas de la inmunorreactividad específica, pueden teñirse otros tejidos del paciente exclusivamente con cromógeno sustrato o con complejos enzimáticos (avidina-biotina, estreptavidina, polímeros marcados) y cromógeno sustrato respectivamente. Si se produce una tinción específica del control tisular negativo, los resultados de las muestras de los pacientes deben considerarse no válidos.

Control De Reactivo Negativo

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

Tejido Del Paciente

Examine las muestras del paciente o pacientes teñidas con NCL-L-p57 al final. La intensidad de la tinción positiva debe valorarse en el contexto de cualquier tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como con cualquier prueba inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado antígeno, y no que el antígeno esté ausente en las células o tejido probados. Si es necesario, use un panel de anticuerpos para identificar falsas reacciones negativas.

Resultados esperados

Tejidos normales

El clon 25B2 detectó la proteína p57 del núcleo de células de Hofbauer, trofoblastos y decidua de placenta, células fibroblásticas de gel de Wharton del cordón umbilical, células corticoadrenales de la zona glomerular, células endoteliales glomerulares del riñón y, a veces, células del interior de los túbulos seminíferos y del estroma endometrial. Se observó tinción citoplásmica y nuclear en células acinares de páncreas y de epitelio de íleon, ciego, vesícula biliar y cuello uterino. Se observó tinción citoplásmica en epitelio ductal de la glándula parótida, macrófagos y, a veces, neumocitos en pulmón, con tinción débil en células epiteliales ductales en mama, túbulos renales y epitelios y condrocitos en bronquios. También se observó tinción de fibras nerviosas y ganglios del tubo digestivo, y de procesos y axones neuronales de corteza cerebral, ganglios basales, hipocampo y capa granular del cerebelo. (Cifra de casos normales evaluados = 44).

Anormal del tejido

El clon 25B2 mostró tinción nuclear en 28/31 abortos hidrópicos, 20/20 abortos simples, 32/34 molas hidatiformes parciales y 5/33 molas hidatiformes completos. (Sharifi, et al 2009, Maggiori & Peres 2007). También se observó tinción en 3/4 carcinomas papilares del tiroides, 1/2 tumores de tejidos blandos (incluidos 1/1 ganglioneuroma y 0/1 fibromatosis), 1/2 tumores cerebrales (incluidos 1/1 astrocitoma anaplásico y 0/1 papiloma del plexo coroideo), 2/2 tumores metastásicos de origen desconocido y 2/2 carcinomas de células renales. Se observó tinción citoplásmica en 1/2 carcinomas ductales infiltrantes mamarios, 1/2 adenocarcinomas gástricos, con tinción débil en 1/1 colangiocarcinoma. Se observó tinción citoplásmica focal en 2/2 carcinomas espinocelulares esofágicos, 1/1 carcinoma espinocelular de la laringe, 2/2 carcinomas espinocelulares de la lengua y 1/2 carcinomas espinocelulares del cuello uterino. Se observó tinción nuclear o citoplásmica débil en 2/4 tumores pulmonares (incluido 1/1 carcinoma no microcítico, 0/1 adenocarcinoma, 1/1 carcinoma espinocelular y 0/1 carcinoma macrocítico), 1/1 cistoadenocarcinoma mucinoso del ovario y 1/2 adenocarcinomas del colon. Se observó tinción nuclear débil en 1/1 carcinoma atípico del timo y 1/2 carcinomas hepatocelulares. No se observó tinción en seminomas testiculares (0/2), adenocarcinomas del recto (0/2), un carcinoma hepático metastásico, un tumor maligno de células germinales ováricas, un cistoadenocarcinoma seroso ovárico, un carcinoma de células claras ováricas, un dermatofibrosarcoma y un carcinoma espinocelular de la piel. (Cifra de casos anormales evaluados = 162).

NCL-L-p57 (25B2) está recomendado para la evaluación de la proteína p57 en tejidos normales y neoplásicos, como complemento de la histopatología tradicional con tinciones histoquímicas no inmunológicas.

Limitaciones Generales

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

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

Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos, con el uso de los controles adecuados, y un anatomopatólogo cualificado debe evaluarla en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

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

Bibliografía - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Kanthan R, Fried I, Rueckl T, et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma. World Journal of Surgical Oncology 2010; 8:10.
6. Sharifi N, Sadeghian MH, Ayatollahi H, et al. Validity of P57kip2 immunohistochemical marker in differential diagnosis of molar pregnancy. Journal of the Turkish-German Gynecological Association 2009;10:39-42.
7. Maggiori MS and Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome in situ hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology 2007; 135: 170-176.

Correcciones A La Publicación Anterior

Actualizado al formato CE.

Fecha De Publicación

16 de junio de 2017

Anticorpo monoclonal líquido de rato Novocastra™ p57 Protein (Kip2) Código Do Produto: NCL-L-p57

Utilização prevista

Para utilização em diagnósticos in vitro.

O NCL-L-p57 destina-se à identificação qualitativa por microscopia ótica da proteína p57 humana, também denominada proteína Kip2, em cortes de parafina. A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos empregando os devidos controles e deve ser avaliada por um patologista qualificado, dentro do contexto do historial clínico do doente e de outros testes de diagnóstico.

Princípio Do Procedimento

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

Clone

25B2

Imunogénio

Antigénio recombinante procariótico correspondente à região de 116 aminoácidos do terminal N da molécula p57.

Especificidade

Proteína p57 humana, designada igualmente por proteína Kip2.

Composição Do Reagente

O NCL-L-p57 é um sobrenadante líquido de cultura de tecidos contendo azida de sódio como conservante.

Classe De Ig

IgG1

Concentração Total De Proteína Total Protein

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

Concentração De Anticorpo

Igual ou superior a 19 mg/L, conforme determinado por ELISA. Consultar a etiqueta da ampola para determinar a concentração de Ig do lote específico.

Recomendações Sobre A Utilização

Imunohistoquímica em cortes de inclusões em parafina.

Recuperação de epitopo induzida por calor (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): siga as instruções de utilização de Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Diluição sugerida: 1:50 durante 30 minutos a 25 °C. Esta recomendação serve apenas de orientação e os utilizadores devem determinar as suas diluições óptimas de trabalho.

Visualização: Queira seguir as instruções de utilização de Novolink™ Polymer Detection Systems. Para informação adicional do produto ou assistência, contactar o seu distribuidor local ou escritório regional de Leica Biosystems ou, alternativamente, visitar o sítio web de Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

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

Armazenamento E Estabilidade

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

Preparação Das Amostras

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

Avisos E Precauções

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

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

Consultar a legislação aplicável em relação ao descarte de quaisquer componentes potencialmente tóxicos.

As amostras, antes e depois da sua fixação, bem como todos os materiais expostos às mesmas, devem ser manipulados como se tivessem a capacidade de transmitir infecções e devem ser descartados com as devidas precauções.¹ Não pipetar nunca os reagentes com a boca e evitar o contacto entre a pele e membranas mucosas e os reagentes e amostras. Caso os reagentes ou amostras entrem em contacto com áreas sensíveis, lavar com grandes quantidades de água. Consultar um médico.

Minimizar a contaminação microbiana dos reagentes para evitar a possibilidade do aumento da coloração não específica.

Os períodos de incubação ou temperaturas diferentes dos que foram especificados poderão dar azo a resultados errados.

Todas as alterações desse tipo devem ser validadas pelo utilizador.

Controlo Da Qualidade

As diferenças entre os diferentes métodos e técnicas de processamento de tecidos no laboratório do utilizador podem causar uma grande variabilidade de resultados, requerendo a realização frequente de controlos internos suplementares aos procedimentos que se seguem.

Os controlos devem ser amostras de autópsia/biopsia/cirurgia frescas, fixadas em formol, processadas e envolvidas em cera parafínica logo que possível, da mesma maneira que a(s) amostra(s) do(s) doente(s).

Controlo De Tecido Positivo

Usado para assinalar os tecidos correctamente preparados e as técnicas de coloração indicadas.

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

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

O tecido de controlo positivo recomendado é a placenta.

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

Controlo De Tecido Negativo

Este deve ser examinado depois do controlo de tecido positivo para verificar a especificidade da marcação do antígeno objectivado pelo anticorpo primário.

O tecido de controlo negativo recomendado são os hepatócitos (fígado).

Alternativamente, a variedade de diferentes tipos de células presentes na maioria das secções de tecidos oferece muitas vezes locais de controlo negativo, mas isto deve ser verificado pelo utilizador.

A coloração não específica, caso ocorra, tem geralmente um aspecto difuso. A coloração esporádica do tecido conjuntivo pode também ter lugar em secções de tecido excessivamente fixado em formol. Devem utilizar-se células intactas para a interpretação dos resultados da coloração. As células necróticas ou degeneradas causam muitas vezes uma coloração não específica.³ Podem verificar-se resultados positivos falsos devido à ligação não imunológica de proteínas ou de produtos da reacção do substrato. Esses resultados podem também ser causados por enzimas endógenas tais como a pseudoperoxidase (eritrócitos), a peroxidase endógena (citocromo C), ou a biotina endógena (ex. no fígado, mama, cérebro ou rim) dependendo do tipo de imunocoloração utilizado. Para diferenciar entre a actividade das enzimas endógenas e as ligações não específicas de enzimas de imunoreactividade específica, podem colorir-se tecidos adicionais dos doentes exclusivamente com substrato cromogénio ou com complexos de enzimas (avidina-biotina, estreptavidina, polímero marcado) e substrato-cromogénio, respectivamente. Se ocorrer a coloração específica no controlo de tecido negativo, os resultados dos testes feitos com as amostras do doente devem ser considerados inválidos.

Controlo De Reagente Negativo

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

Tecido Do Doente

Examine as amostras do doente coradas com NCL-L-p57 em último lugar. A intensidade da coloração positiva deve ser avaliada dentro do contexto de qualquer coloração não específica de fundo do controlo de reagente negativo. Tal como com qualquer teste imunohistoquímico, um resultado negativo significa que o antígeno não foi detectado, e não que o antígeno se encontrava ausente das células ou tecido analisados. Se necessário, deve utilizar-se um painel de anticorpos para identificar reacções falso-negativas.

Resultados Previstos

Tecidos normais

O clone 25B2 detetou a proteína p57 no núcleo de células Hofbauer, trofoblastos e membrana decidual placentária, células fibroblásticas da geleia de Wharton do cordão umbilical, células das suprarrenais na zona glomerulosa, células endoteliais glomerulares nos rins e células ocasionais nos túbulos seminíferos e estroma endometrial. Foi observada coloração citoplasmática e nuclear em células acinares no pâncreas e no epitélio do íleo, ceco, vesícula biliar e colo do útero. Foi observada coloração citoplasmática no epitélio ductal da glândula parótida, em macrófagos e ocasionalmente pneumócitos no pulmão, com coloração fraca em células epiteliais ductais na mama, túbulos renais, e epitélios e condrócitos em brônquios. Foi igualmente observada coloração de fibras nervosas e gânglios do trato gastrointestinal e dos processos neuronais e axões do córtex cerebral, gânglios basais, hipocampo e a camada granular do cerebelo. (Número de casos normais avaliados = 44.)

Tecidos anormal

O clone 25B2 apresentou coloração nuclear em 28/31 abortos hidrópicos, 20/20 abortos simples, 32/34 molas hidatiformes parciais e 5/33 molas hidatiformes completas. (Sharifi, et al 2009, Maggiori & Peres 2007). Foi igualmente observada coloração em 3/4 carcinomas papilares da tireoide, 1/2 tumores dos tecidos moles (incluindo 1/1 ganglioneuroma e 0/1 fibromatose), 1/2 tumores cerebrais (incluindo 1/1 astrocitoma anaplásico e 0/1 papiloma do plexo coroide), 2/2 tumores metastáticos de origem desconhecida e 2/2 carcinomas de células renais. Foi observada coloração citoplasmática em 1/2 carcinomas ductais infiltrativos da mama, 1/2 adenocarcinomas gástricos e coloração fraca em 1/1 colangiocarcinoma. Foi observada coloração citoplasmática focal em 2/2 carcinomas de células escamosas do esôfago, 1/1 carcinoma de células escamosas da laringe, 2/2 carcinomas de células escamosas da língua e 1/2 carcinomas de células escamosas do colo do útero. Foi observada coloração nuclear fraca e/ou coloração citoplasmática em 2/4 tumores pulmonares (incluindo 1/1 carcinoma de não-pequenas células, 0/1 adenocarcinoma, 1/1 carcinoma de células escamosas e 0/1 carcinoma de células grandes), 1/1 cistadenocarcinoma mucinoso do ovário e 1/2 adenocarcinomas do cólon. Foi observada coloração nuclear fraca em 1/1 carcinoide atípico do timo e em 1/2 carcinomas hepatocelulares. Não foi observada coloração em seminomas testiculares (0/2), adenocarcinomas do reto (0/2), um carcinoma metastático do fígado, um tumor de células germinais ováricas maligno, um cistadenocarcinoma seroso ovárico, um adenocarcinoma de células claras ováricas, um dermatofibrossarcoma e um carcinoma de células escamosas da pele. (Número total de casos anormais avaliados = 162.)

O NCL-L-p57 (25B2) é recomendado para avaliação da proteína p57 em tecidos normais e neoplásicos, como auxiliar da histopatologia convencional, através da utilização de corantes histoquímicos não imunológicos.

Limitações Gerais

A imunohistoquímica é um processo diagnóstico em múltiplas etapas que consta de: uma formação especializada na selecção dos reagentes apropriados, selecção, fixação e processamento de tecidos, preparação das lâminas de IHQ e interpretação dos resultados das colorações.

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

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

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

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

Bibliografia - Geral

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Kanthan R, Fried I, Rueckl T, et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma. World Journal of Surgical Oncology 2010; 8:10.
6. Sharifi N, Sadeghian MH, Ayatollahi H, et al. Validity of P57kip2 immunohistochemical marker in differential diagnosis of molar pregnancy. Journal of the Turkish-German Gynecological Association 2009; 10:39-42.
7. Maggiori MS and Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome in situ hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology 2007; 135: 170-176.

Emendas Da Edição Anterior

Atualização para o formato CE.

Data De Emissão

16 de Junho de 2017

Novocastra™ flytande monoklonal antikropp från mus

p57 Protein (Kip2)

Produktkod: NCL-L-p57

Avsedd Användning

För in vitro diagnostisk användning.

NCL-L-p57 är avsedd för den kvalitativa identifikationen med ljusmikroskopi av humant p57protein, också kallat Kip2-protein, i paraffinsnitt. Den kliniska tolkningen av all färgning eller dess frånvaro bör kompletteras med morfologiska undersökningar som använder korrekta kontroller och utvärderas av kvalificerad patologi inom ramen för patientens kliniska anamnes och andra diagnostiska tester.

Metodens Princip

Immunhistokemiska (IHC) färgningstekniker tillåter visualisering av antigener genom sekvenstillämpning av en specifik antikropp till antigenet (primär antikropp), en sekundär antikropp till den primära antikroppen och ett enzymkomplex med ett kromogent substrat med inlagda tvättsteg. Den enzymatiska aktiveringen av kromogenet resulterar i en synlig reaktionsprodukt på antigenområdet. Proverna kan då kontrastfärgas och förses med täckglas. Resultaten tolkas med ljusmikroskop och bidrar till differentialdiagnosen av patofysiologiska processer som eventuellt kan associeras till ett särskilt antigen.

Klon

25B2

Immunogen

Prokaryotiskt rekombinant antigen motsvarande ett område med 116 aminosyror på p57-proteinets N-terminal.

Specifitet

Humant p57-protein, också kallat Kip2-protein.

Reagensinnehåll

NCL-L-p57 är en flytande supernatant från vävnadsodling innehållande natriumazid som ett konserveringsmedel.

Ig-klass

IgG1

Total Proteinkoncentration

Total Protein

Se flaskans etikett för total specifik proteinkoncentration för satsen.

Antikropps-koncentration

Större än eller lika med 19 mg/L fastställt genom ELISA. Se flaskans etikett för specifik Ig-koncentration för satsen.

Rekommendationer Vid Användning

Immunhistokemi på paraffinsnitt.

Värmeinducerad epitopåtervinning (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Följ bruksanvisningen för Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Föreslagen spädning: 1:50 i 30 minuter vid 25 °C. Detta är endast en riktlinje och användare bör själva fastställa den optimala bruksspädningen.

Visualisering: Vänligen följ instruktionerna för användning i Novolink™ Polymer Detection Systems. Om ytterligare produktinformation eller stöd behövs, kontakta då din lokala distributör eller Leica Biosystems regionalkontor, alternativt på Leica Biosystems webbplats, www.LeicaBiosystems.com

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

Förvaring Och Stabilitet

Förvara vid 2–8 °C. Frys ej. Återgå till 2–8 °C direkt efter användning. Använd ej efter det utgångsdatum som anges på flaskans etikett. Förvaringsförhållanden som skiljer sig från de ovan nämnda måste kontrolleras av användaren.

Preparation Av Prov

Rekommenderat fixeringsmedel för paraffinbäddade vävnadssnitt är 10% neutralbuffrat formalin.

Varningar Och Försiktighetsåtgärder

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

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

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

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

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

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

Kvalitetskontroll

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

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

Positiv Vävnadskontroll

Används för att ange korrekt förberedda vävnader och rätt färgningstekniker.

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

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

Placenta rekommenderas som positiv kontrollvävnad.

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

Negativ Vävnadskontroll

Bör undersökas efter den positiva vävnadskontrollen för att fastställa specificiteten för märkningen av målantigenet med den primära antikroppen.

Lever (hepatocyter) rekommenderas som negativ kontrollvävnad är lever.

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

Ospecifik färgning, om det förekommer, har ofta ett diffust utseende. Sporadisk färgning av bindväv kan också observeras i snitt från överflödigt formalinfixerade vävnader. Använd intakta celler för tolkning av färgningsresultat. Nekrotiska eller degenererade celler fångar ofta ospecifikt.³ Falskt positiva resultat kan uppstå p.g.a. icke-immunologisk bindning av proteiner eller substratreaktionsprodukter. De kan också orsakas av endogena enzymer som pseudoperoxidas (erythrocyter), endogent peroxid (cytokrom C) eller endogent biotin (t.ex. lever, bröst, hjärna, njure) beroende på typ av immunfärgning som används. För att skilja endogen enzymaktivitet eller ospecifik enzymbindning från specifik immunreaktivitet kan ytterligare patientvävnader färgas exklusivt med respektive substratkromogen eller enzymkomplex (avidin-biotin, streptavidin, märkt polymer) och substrat-kromogen. Om specifik färgning sker i den negativa vävnadskontrollen bör resultatet med patientprover anses vara ogiltiga.

Negativ Reagenskontroll

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

Patientvävnad

Undersök patientprover färgade med NCL-L-p57 sist. Positiv färgningsintensitet bör utvärderas inom ramen för all ospecifik bakgrunds-färgning av den negativa reagenskontrollen. Som vid alla immunhistokemiska tester betyder ett negativt resultat att antigenet inte upptäcktes och inte att det inte förekom i de analyserade cellerna/vävnaderna. Använd vid behov en antikroppspanel för att identifiera falskt negativa reaktioner.

Förväntade Resultat

Normal vävnad

Klon 25B2 detekterade p57-proteinet i kärnor från Hofbauer-celler, trofoblaster och decidua placentalis, fibroblastceller från Wharton's jelly i navelsträngen, adrenokortikala celler i zona glomerulosa, glomerulära endotelceller i njuren och enstaka celler inom tubuli seminiferi och endometrium. Färgning i cytoplasma och kärnor sågs i acinusceller från pancreas och i epitel från ileum, cecum, gallblåsa och cervix. Cytoplasmafärgning sågs i duktalepitel från parotis, makrofager och enstaka pneumocyter i lunga, med svag färgning i duktala epitelceller från bröst, njurtubuli samt epitel och kondrocyter i bronkerna. Färgning noterades också i nervfibrer och ganglion från magtarmkanalen, samt i neuronala utskott och axoner från cerebrala kortex, basalganglier, hippocampus och det granulära lagret av cerebellum. (Antal utvärderade normalfall = 44).

Onormal vävnad

Klon 25B2 visade kärnfärgning i 28/31 hydropiska aborter, 20/20 enkla aborter, 32/34 partiella hydatidmolor och 5/33 kompletta hydatidmolor. (Sharifi, et al 2009, Maggiori & Peres 2007). Färgning observerades också i 3/4 papillära thyreoideacarcinom, 1/2 mjukvävnadstumörer (inklusive 1/1 ganglioneurom och 0/1 fibromatos), 1/2 hjärntumörer (inklusive 1/1 anaplastiskt astrocytom och 0/1 choroid plexus-papillom), 2/2 metastastumörer av okänt ursprung och 2/2 renalcellscarcinom. Cytoplasmafärgning sågs i 1/2 infiltrerande duktala bröstscarcinom, 1/2 ventrikeladenocarcinom, med svag färgning i 1/1 kolangiocarcinom. Fokal cytoplasmafärgning sågs i 2/2 skivepitelcellscarcinom från esofagus, 1/1 skivepitelcellscarcinom från larynx, 2/2 skivepitelcellscarcinom från tungan och 1/2 skivepitelcellscarcinom från cervix. Svag färgning i kärnor och/eller cytoplasma sågs i 2/4 lungtumörer (inklusive 1/1 icke-småcelligt carcinom, 0/1 adenocarcinom, 1/1 skivepitelcellscarcinom och 0/1 storcellscarcinom), 1/1 mucinöst cystadenocarcinom från ovariet och 1/2 adenocarcinom från kolon. Svag färgning i kärnor sågs i 1/1 atypisk carcinoid från thymus och 1/2 hepatocellulära carcinom. Ingen färgning sågs i testikulära seminom (0/2), adenocarcinom från rektum (0/2), ett metastatiskt carcinom från levern, en malign ovarial germinaltumör, ett ovarialt seröst cystadenocarcinom, ett ovarialt klarcellscarcinom, ett dermatofibrosarkom och ett skivepitelcellscarcinom från huden. (Totalt antal utvärderade onormala fall = 162).

NCL-L-p57 (25B2) rekommenderas för bedömningen av p57-protein i normala och neoplastiska vävnader, som tillägg till konventionell histopatologi med användande av icke-immunologiska histokemiska färgningar.

Allmänna Begränsningar

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

Vävnadsfärgning påverkas av hantering och bearbetning av vävnaden före färgningen. Felaktig fixering, nedfrysning, upptining, tvättning, torkning, uppvärmning, snittning eller kontaminering av andra vävnader eller vätskor kan framställa artefakter, infångande av

antikroppar eller falskt negativa resultat. Motsägelsefulla resultat kan bero på variationer av fixerings- och inbäddningsmetoder eller på naturliga oregelbundenheter i vävnaden.⁴

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

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

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

Bibliografi - Allmän

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Kanthan R, Fried I, Rueckl T, et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma. World Journal of Surgical Oncology 2010; 8:10.
6. Sharifi N, Sadeghian MH, Ayatollahi H, et al. Validity of P57kip2 immunohistochemical marker in differential diagnosis of molar pregnancy. Journal of the Turkish-German Gynecological Association 2009;10:39-42.
7. Maggiori MS and Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome in situ hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology 2007; 135: 170-176.

Rättelser Av Tidigare Utgivning

Uppdatering till CE-format.

Utgivningsdatum

16 juni 2017

Υγρό μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού Novocastra™ p57 Protein (Kip2) Κωδικός είδους: NCL-L-p57

Χρήση Για Την Οποία Προορίζεται

Για in vitro διαγνωστική χρήση.

Το NCL-L-p57 προορίζεται για την ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός της ανθρώπινης πρωτεΐνης p57, γνωστής επίσης ως πρωτεΐνη Kip2, σε τομές παραφίνης. Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή της απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες που χρησιμοποιούν σωστούς μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στα πλαίσια του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολογοανατόμο.

Αρχή Της Διαδικασίας

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

Κλώνος

25B2

Ανοσογόνο

Προκαρμωτικό ανασυνδυασμένο αντιγόνο που αντιστοιχεί σε περιοχή 116 αμινοξέων του αμινοτελικού άκρου της πρωτεΐνης p57.

Ειδικότητα

Ανθρώπινη πρωτεΐνη p57, γνωστή επίσης ως πρωτεΐνη Kip2.

Σύνθεση Αντιδραστήριου

Το NCL-L-p57 είναι ένα υγρό υπερκείμενο ιστοκαλλιέργειας που περιέχει αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

Τάξη Ig

IgG1

Ολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης Total Protein

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

Συγκέντρωση Αντισώματος

Μεγαλύτερη ή ίση με 19 mg/l, όπως προσδιορίζεται με ELISA. Για τη συγκέντρωση Ig που είναι ειδική για την εκάστοτε παρτίδα, ανατρέξτε στην ετικέτα του φιαλιδίου.

Συστάσεις Για Τη Χρήση

Ανοσοστοχημικά σε παρασκευάσματα παραφίνης.

Ανάκτηση επιτόπου επαγόμενη με θερμότητα (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Ακολουθήστε τις οδηγίες χρήσης του Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Προτεινόμενη διάλυση: 1:50 επί 30 λεπτά σε 25 °C. Παρέχεται ως οδηγός και οι χρήστες θα πρέπει να καθορίζουν τις δικές τους διαλύσεις εργασίας.

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

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

Φύλαξη Και Σταθερότητα

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

Παρασκευή Δείγματος

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

Προειδοποιήσεις Και Προφυλάξεις

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

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

Συμβουλευτείτε τους ομοσπονδιακούς, πολιτειακούς ή τοπικούς κανονισμούς για απόρριψη τυχόν δυνητικών τοξικών συστατικών.

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

Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διότι ενδέχεται να συμβεί αύξηση μη ειδικής χρώσης. Χρόνοι ή θερμοκρασίες επώασης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται ενδέχεται να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Τυχόν τέτοιες μεταβολές πρέπει να επικυρώνονται από το χρήστη.

Ποιοτικός Έλεγχος

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

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

Θετικός Μάρτυρας Ιστού

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

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

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

Συνιστώμενος ιστός θετικού μάρτυρα είναι ο πλακούτσας.

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

Αρνητικός Μάρτυρας Ιστού

Θα πρέπει να εξετάζεται μετά τον θετικό μάρτυρα ιστού για την επαλήθευση της ειδικότητας της επίσημης της ανιγόνο-στόχου από το πρωτοπαγές αντίσωμα.

Συνιστώμενος ιστός αρνητικού μάρτυρα είναι το ήπαρ (ηπατοκύτταρα).

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

Μη ειδική χρώση, εάν υπάρχει, έχει συνήθως διάχυτη εμφάνιση. Ενδέχεται επίσης να παρατηρηθεί αποραδική χρώση του συνδετικού ιστού σε τομές από ιστούς που έχουν μονιμοποιηθεί με υπερβολική ποσότητα φορμόλης. Χρησιμοποιείτε άθικτα κύτταρα για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της χρώσης. Νεκρωτικά ή εκφυλισμένα κύτταρα παρουσιάζουν συχνά μη ειδική χρώση.³ Ενδέχεται να παρατηρηθούν ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω μη ανοσολογικής δέσμευσης των πρωτεϊνών ή των προϊόντων αντίδρασης του υποστρώματος. Ενδέχεται επίσης να προκληθούν από ενδογενή ένζυμα, όπως η ψευδοπυροξείδωση (ερυθροκύτταρα), η ενδογενής υπερξειδάση (κυτόχρωμα C) ή η ενδογενής βιοτίνη (π.χ. ήπαρ, μαστός, εγκέφαλος, νεφρός) ανάλογα με τον τύπο ανσοσχρώσης που χρησιμοποιείται. Για τη διαφοροποίηση της ενδογενούς ενζυμικής δραστηριότητας ή της μη ειδικής δέσμευσης των ενζύμων από ειδική ανοσοαντιδραστικότητα, είναι δυνατό να χρωματιστούν αποκλειστικά επιπλέον ιστού ασθενών με χρωμόγιο υποστρώματος ή ενζυμικά σύμπλοκα (αβιδίνη-βιοτίνη, στρεπταβιδίνη, σημιασμένο πολυμερές) και υπόστρωμα-χρωμόγιο, αντίστοιχα. Εάν παρουσιαστεί ειδική χρώση στον αρνητικό μάρτυρα ιστού, τα αποτελέσματα με τα δείγματα ασθενούς θα πρέπει να θεωρούνται άκυρα.

Αρνητικός Μάρτυρας Αντιδραστηρίου

Χρησιμοποιείτε έναν μη ειδικό αρνητικό μάρτυρα αντιδραστηρίου αντί του πρωτοπαγούς αντισώματος με μια τομή κάθε δείγματος ασθενούς για την αξιολόγηση μη ειδικής χρώσης και για να επιτρέπεται καλύτερη ερμηνεία της ειδικής χρώσης στη θέση του ανιγόνου.

Ιστός Ασθενούς

Εξετάστε τελευταία τα δείγματα ασθενούς που έχουν χρωματιστεί με NCL-L-p57. Η ένταση της θετικής χρώσης θα πρέπει να εκτιμάται στα πλαίσια τυχών μη ειδικής χρώσης υποβάθρου του αρνητικού μάρτυρα αντιδραστηρίου. Όπως συμβαίνει με οποιαδήποτε ανοσοϊστοχημική εξέταση, ένα αρνητικό αποτέλεσμα σημαίνει ότι το ανίγιο δεν ανιχνεύθηκε, όχι ότι το ανίγιο δεν υπήρχε στα κύτταρα/στον ιστό που εξετάστηκε. Εάν είναι απαραίτητο, χρησιμοποιήστε μια σειρά αντισωμάτων για την αναγνώριση ψευδώς αρνητικών αντιδράσεων.

Αναμενόμενα Αποτελέσματα

Φυσιολογικοί Ιστοί

Ο κλώνος 25B2 ανιχνεύει την πρωτεΐνη p57 στον πυρήνα κυττάρων Hofbauer, τροφοβλαστών και του υπολοιπού του πλακούντα, νοβλαστικών κυττάρων της γέλης του Wharton στον ομφάλιο λώρο, κυττάρων του φλοιού των επινεφριδίων της σπειραματικής περιοχής, σπειραματικών ενδοθηλιακών κυττάρων στον νεφρό και σποραδικών κυττάρων εντός των σπειρατοδόχων σωληναρίων και του στρώματος του ενδομητρίου. Κυτταροπλασματική και πυρηνική χρώση παρατηρήθηκε σε κυψελιδικά κύτταρα του παγκρέατος και στο επιθήλιο του ειλεού, του τυφλού, της χοληδόχου κύστης και του τραχήλου της μήτρας. Κυτταροπλασματική χρώση παρατηρήθηκε στο επιθήλιο του παραρτηρικού πόρου, σε μακροφάγα και σε σποραδικά πνευμονοκύτταρα του πνεύμονα, με ασθενή χρώση σε επιθηλιακά κύτταρα των πόρων του μαστού, σε νεφρικά σωληνάκια και σε επιθηλιακά κύτταρα και χονδροκύτταρα των βρόγχων. Παρατηρήθηκε επίσης χρώση νεφρικών ιστών και γαγγλίων της γαστρεντερικής οδού και νευρικών αποφυάδων και αδένων του εγκεφαλικού φλοιού, των βασικών γαγγλίων, του ιππόκαμπτου και της κοκκώδους στοιβάδας της παρεγκεφαλίδας. (Αριθμός φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 44).

Ανώμαλη Ιστού

Ο κλώνος 25B2 εμφάνισε πυρηνική χρώση σε 28/31 υδρωπικές αποβολές, 20/20 απλές αποβολές, 32/34 μερικές υδατιώδεις μύλες κυψέλες και 5/33 ολικές υδατιώδεις μύλες κυψέλες. (Sharifi, et al 2009, Maggiori & Peres 2007). Χρώση παρατηρήθηκε επίσης σε 3/4 θηλώδη καρκινώματα του θυρεοειδούς, 1/2 όγκους μαλακών μορίων (συμπεριλαμβανομένων 1/1 γαγγλιονευρώματος και 0/1 ινομυώματος), 1/2 όγκους του εγκεφάλου (συμπεριλαμβανομένων 1/1 αναπλαστικού αστροκυττώματος και 0/1 θηλώματος χοριοειδούς πλέγματος), 2/2 μεταστατικούς όγκους άγνωστης προέλευσης και 2/2 καρκινώματα νεφρικών κυττάρων. Κυτταροπλασματική χρώση παρατηρήθηκε σε 1/2 διηθητικά καρκινώματα του μαστού, 1/2 γαστρικά αδενοκαρκινώματα, με ασθενή χρώση σε 1/1 χολαγγειοκαρκίνωμα. Εστιακή κυτταροπλασματική χρώση παρατηρήθηκε σε 2/2 ακανθοκυτταρικά καρκινώματα του οισοφάγου, 1/1 ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα του λάρυγγα, 2/2 ακανθοκυτταρικά καρκινώματα της γλώσσας και 2/2 ακανθοκυτταρικά καρκινώματα του τραχήλου της μήτρας. Ασθενής πυρηνική ή/και κυτταροπλασματική χρώση παρατηρήθηκε σε 2/4 όγκους του πνεύμονα (συμπεριλαμβανομένων 1/1 μη μικροκυτταρικού καρκινώματος, 0/1 αδενοκαρκινώματος, 1/1 ακανθοκυτταρικού καρκινώματος και 0/1 μεγάλουκυτταρικού καρκινώματος), 1/1 βλεννώδους κυσταδενοκαρκινώματος της ωοθήκης και 1/2 αδενοκαρκινωμάτων του κόλου. Ασθενής πυρηνική χρώση παρατηρήθηκε σε 1/1 άτυπο καρκινοειδές του θύμου αδένα και 1/2 ηπατοκυτταρικό καρκινώματα. Δεν παρατηρήθηκε χρώση σε σημινώματα των όρχων (0/2), αδενοκαρκινώματα του ορθού (0/2), μεταστατικό καρκίνωμα του ήπατος, κακοήγη όγκο γεννητικών ωοθηκικών κυττάρων, ορώδες κυσταδενοκαρκίνωμα των ωοθηκών, διακυτταρικό καρκίνωμα των ωοθηκών, δερματοϊνοσάρκωμα και ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα του δέρματος. (Αριθμός μη φυσιολογικών περιστατικών που αξιολογήθηκαν = 162).

Το NCL-L-p57 (25B2) συνιστάται για την αξιολόγηση της πρωτεΐνης p57 σε φυσιολογικό και νεοπλασματικό ιστό, ως συμπλήρωμα της συμβατικής ιστοπαθολογίας, χρησιμοποιώντας μη ανοσολογική ιστοχημικές χρώσεις.

Γενικοί Περιορισμοί

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

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

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

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

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

Βιβλιογραφία - Γενική

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Kanthan R, Fried I, Rueckl T, et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma. *World Journal of Surgical Oncology* 2010; 8:10.
6. Sharifi N, Sadeghian MH, Ayatollahi H, et al. Validity of P57kip2 immunohistochemical marker in differential diagnosis of molar pregnancy. *Journal of the Turkish-German Gynecological Association* 2009;10:39-42.
7. Maggiori MS and Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome in situ hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology* 2007; 135: 170-176.

Τροποποιήσεις Στην Προηγούμενη Έκδοση

Ενημέρωση σε μορφή CE.

Ημερομηνία Έκδοσης

16 Ιουνίου 2017

Novocastra™ flydende murint monoklonalt antistof p57 Protein (Kip2) Produktkode: NCL-L-p57

Tilsigtet Anvendelse

Til in vitro diagnostisk anvendelse.

NCL-L-p57 er beregnet til kvalitativ identifikation med lysmikroskop af humant p57-protein, også kendt som Kip2-protein, i paraffinsnit.

Klinisk fortolkning af farvning eller mangel derpå skal suppleres med morfologiske undersøgelser under anvendelse af passende kontroller og bør evalueres i sammenhæng med patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests af en kvalificeret patolog.

Procedureprincip

Immunhistokemiske (IHC) farvningsteknikker muliggør visualisering af antigener via sekventiel tilsætning af et specifikt antistof mod antigenet (primært antistof), et sekundært antistof mod det primære antistof og et enzym kompleksbundet til et kromogent substrat med indskudte vasketrin. Den enzymatiske aktivering af kromogenet resulterer i et synligt reaktionsprodukt på antigenstedet. Prøven kan derefter kontrastfarves og dækkes med et dækglas. Resultaterne fortolkes ved anvendelse af et lysmikroskop og medvirker til differential diagnose af patofysiologiske processer, som muligvis kan være associeret med et bestemt antigen.

Klon

25B2

Immunogen

Prokaryotisk rekombinant antigen, der svarer til 116 aminosyrer af det N-terminale område af p57-proteinet.

Specifitet

Humant p57-protein, også kendt som Kip2-protein.

Reagenssammensætning

NCL-L-p57 er en flydende vævskultursupernatant, der indeholder natriumazid som konserveringsmiddel.

Ig-klasse

IgG1

Totalproteinkoncentration

Total Protein

Se etiketten på hætteflasken for lotspecifik totalproteinkoncentration.

Antistofkoncentration

Større end eller lig med 19 mg/l som bestemt med ELISA. Se etiketten på hætteflasken for lotspecifik Ig-koncentration.

Anbefalinger Vedrørende Anvendelse

Immunhistokemi på paraffinsnit.

Varmeinduceret epitopdemaskering (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Følg venligst brugsanvisningen til Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Foreslået fortynding: 1:50 ved 30 minutter ved 25 °C. Disse retningslinjer er vejledende, og brugeren bør selv bestemme egne optimale brugsopløsninger.

Visualisering: Følg venligst vejledningen i Novolink™ Polymer Detection Systems. Yderligere produktinformation og support fås ved henvendelse til lokal forhandler eller Leica Biosystems regionskontor - samt på vores hjemmeside: www.LeicaBiosystems.com
[Dette antistofs funktion valideres, når det anvendes med andre manuelle farvningssystemer eller automatiserede platforme.](#)

Opbevaring Og Holdbarhed

Opbevares ved 2–8 °C. Må ikke fryses. Sættes tilbage til 2–8 °C umiddelbart efter brug. Må ikke anvendes efter udløbsdatoen angivet på hætteflaskens etikette. Andre opbevaringsbetingelser end de ovenfor angivne skal verificeres af brugeren.

Prøveklargøring

Det anbefalede fiksativ er 10% neutralbufferjusteret formalin til paraffinindstøbte vævssnit.

Advarsler Og Forholdsregler

Dette reagens er fremstillet ud fra supernatanten af en cellekultur. Da det er et biologisk produkt, skal der tages fornuftige sikkerhedsforanstaltninger ved dets håndtering.

Denne reagens indeholder natriumazid. Et datablad for materialesikkerhed kan fås efter anmodning eller er tilgængeligt på www.LeicaBiosystems.com

Konsulter landsdækkende og lokale love og regler vedrørende bortskaffelse af alle potentielt toksiske komponenter.

Prøver skal før og efter fiksering, lige som alle materialer eksponeret mod prøverne, håndteres som potentielt smittefarlige og bortskaffes under iagttagelse af passende forholdsregler¹. Pipetter aldrig reagenser med munden og undgå, at reagenser og prøver kommer i kontakt med huden eller slimhinder. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal der skylles efter med rigelige mængder vand. Søg læge.

Minimer mikrobiel kontaminering af reagenserne, da der ellers kan forekomme øget uspecifik farvning.

Inkubationstider eller -temperaturer andre end de specificerede kan give fejlagtige resultater. Alle sådanne ændringer skal valideres af brugeren.

Kvalitetskontrol

Forskelle i behandlingen af væv og forskelle i tekniske procedurer i brugerens laboratorium kan frembringe betydeligt varierende resultater og nødvendiggøre regelmæssig udførelse af kontroller på stedet ud over nedenstående procedurer.

Kontrollerne skal være friske autopsier/biopsier/kirurgiske prøver fikseret i formalin og behandlet og indstøbt i paraffin så hurtigt som muligt på samme måde som patientprøver.

Positiv Vævskontrol

Anvendes til påvisning af, at vævet er fremstillet korrekt, og at der er anvendt korrekte farvningsteknikker.

Der bør inkluderes en positiv vævskontrol for hvert sæt testbetingelser i hver farvekørsel.

Svagt positivt farvet væv er mere egnet end kraftigt positivt farvet væv til optimal kvalitetskontrol og påvisning af små niveauer af reagensnedbrydning.²

Anbefalet væv til positiv kontrol er placenta.

Hvis den positive vævskontrol ikke udviser positiv farvning, skal resultater af testprøverne kasseres.

Negativ Vævskontrol

Skal undersøges efter den positive vævskontrol for at sikre, at det primære antistof mærker målantigenet specifikt.

Anbefalet negativ kontrolvæv er leverhepatocytter.

Alternativt frembyder de mange forskellige celletyper, der er til stede i de fleste vævssnit, ofte negative kontrolsteder, men dette skal verificeres af brugeren.

Uspecifik farvning har, hvis til stede, ofte et diffust udseende. Sporadisk farvning af bindevæv kan ligeledes observeres i vævssnit af væv, der er fikseret for kraftigt i formalin. Anvend intakte celler til fortolkning af farvningsresultaterne. Nekrotiske eller degenererede celler farves ofte mere uspecifikt.³ Der kan eventuelt ses falske positive resultater, der skyldes non-immunologisk binding af proteiner eller substratreaktionsprodukter. Dette kan ligeledes skyldes endogene enzymer, såsom pseudoperoxidase (erythrocytter), endogen peroxidase (cytochrom C) eller endogent biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre) afhængigt af den anvendte type immunfarve. For at differentiere mellem endogen enzymaktivitet eller uspecifik enzymbinding og specifik immunreaktivitet kan yderligere patientvæv eventuelt farves udelukkende med henholdsvis substratkromogen eller enzymkomplekser (avidin-biotin, streptavidin, mærket polymer) og substratkromogen. Hvis der optræder specifik farvning i den negative vævskontrol, skal resultaterne af patientprøverne kasseres.

Negativ Reagenskontrol

Anvend en uspecifik negativ reagenskontrol i stedet for det primære antistof på et vævssnit af hver patientprøve for at vurdere uspecifik farvning og muligvis bedre fortolkning af specifik farvning på antigenstedet.

Patientvæv

Undersøg patientpræparater farvet med NCL-L-p57 til sidst. Intensiteten af positiv farvning bør vurderes i sammenhæng med eventuel uspecifik baggrundsfarvning af den negative reagenskontrol. Som med alle immunhistokemiske tests betyder et negativt resultat, at antigenet ikke blev påvist. Ikke at antigenet var fraværende i de analyserede celler eller det analyserede væv. Om nødvendigt anvendes et panel af antistoffer til identifikation af falske negative reaktioner.

Forventede Resultater

Normalt væv

Klon 25B2 påviser p57-proteinet i cellekernen i Hofbauer-celler, trofoblaster og decidua i placenta, fibroblastceller i Whartons gel i navlestrengen, adrenale kortikale celler i zona glomerulosa, glomerulære endotelceller i nyre og lejlighedsvis celler i seminiferøse tubuli og endometriale stroma. Der ses cytoplasmisk farvning og kernefarvning i acinære celler i pancreas og epitel i ileum, cecum, galdeblære og cervix. Der ses cytoplasmisk farvning i ductalt epitel i glandula parotis, makrofager og lejlighedsvis pneumocytter i lunge, med svag farvning i ductale epitelceller i bryst, nyretubuli og epitel og kondrocytter i bronchus. Der blev også observeret farvning af nervefibre og ganglier i mave-tarm-kanalen og af neuronale processer og axoner i den cerebrale cortex, basale ganglier, hippocampus og i cerebellums granulære lag. (Antal normale tilfælde, der blev evalueret = 44).

Abnormt væv

Klon 25B2 viste kernefarvning i 28/31 hydropiske aborter, 20/20 simple aborter, 32/34 partielle mola hydatidosa og 5/33 komplette mola hydatidosa. (Sharifi, et al 2009, Maggiori & Peres 2007). Der blev også observeret farvning i 3/4 papillære karcinomer i thyroidea, 1/2 bløddelstumor (inklusive 1/1 ganglioneurom og 0/1 fibromatose), 1/2 hjernetumor (inklusive 1/1 anaplastisk astrocytom og 0/1 plexus choroideus papillom), 2/2 metastatiske tumorer af ukendt oprindelse og 2/2 renalcellekarcinomer. Der blev observeret cytoplasmisk farvning i 1/2 infiltrerende ductale brystkarcinomer, 1/2 gastriske adenokarcinomer, med svag farvning i 1/1 cholangiokarcinom. Der blev observeret fokal cytoplasmisk farvning i 2/2 pladecellekarcinomer i øsofagus, 1/1 placecellekarcinom i larynx, 2/2 pladecellekarcinomer i tungen og 1/2 pladecellekarcinomer i cervix. Der blev observeret svag kernefarvning og/eller cytoplasmisk farvning i 2/4 lungetumorer (inklusive 1/1 ikke-småcellet karcinom, 0/1 adenokarcinom, 1/1 pladecellekarcinom og 0/1 storcellet karcinom), 1/1 mucinøs cystadenokarcinom i ovarie og 1/2 adenokarcinomer i colon. Der blev observeret svag kernefarvning i 1/1 atypisk karcinoid i thymus og 1/2 hepatocellulære karcinomer. Der blev ikke observeret farvning i testisseminom (0/2), adenokarcinomer i rektum (0/2), metastatisk karcinom i lever, malign kimcelletumor i ovarie, serøst cystadenokarcinom i ovarie, clear-cellekarcinom i ovarie, dermatofibrosarkom og pladecellekarcinom i hud. (Antal unormale tilfælde, der blev evalueret = 162).

NCL-L-p57 (25B2) anbefales til påvisning af p57-protein i normale og neoplastiske væv, som et hjælpemiddel til traditionel histopatologi ved brug af ikke-immunologiske histokemiske farvninger.

Generelle Begrænsninger

Immunhistokemi er en diagnostisk proces bestående af mange trin, der omfatter specialiseret uddannelse i valg af passende reagenser, vævsselektion, -fiksering og -behandling samt fremstilling af IHC-objektglas og fortolkning af farvningsresultaterne.

Vævsfarvning er afhængig af håndteringen og behandlingen af vævet inden farvning. Forkert fiksering, frysning, optøning, vask, tørring, opvarmning, sektionering eller kontaminering med andet væv eller andre væsker kan frembringe artefakter, indfangning af antistof eller falske negative resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes variationer i fikserings- og indstøbningsmetoder eller irregulareteter indeholdt i vævet.⁴

For kraftig eller ukomplet kontrastfarvning kan gøre korrekt fortolkning af resultaterne vanskelig.

Klinisk fortolkning af farvning eller mangel derpå skal suppleres med morfologiske undersøgelser under anvendelse af passende kontroller og bør evalueres i sammenhæng med patientens kliniske historie og andre diagnostiske tests af en kvalificeret patolog.

Antistoffer fra Leica Biosystems Newcastle Ltd er som angivet beregnet til anvendelse på enten frosne eller paraffinindstøbte vævssnit med specifikke krav til fiksering. Der kan forekomme uventet antigenekspresion, navnlig i neoplasmer. Den kliniske fortolkning af alle farvede vævssnit skal indbefatte morfologisk analyse og evaluering af passende kontroller.

Bibliografi - Generelt

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, PA. 1991;7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. *Progress in Surgical Pathology*. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Laboratory Medicine*. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1980; 73:626.
5. Kanthan R, Fried I, Rueckl T, et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma. *World Journal of Surgical Oncology* 2010; 8:10.
6. Sharifi N, Sadeghian MH, Ayatollahi H, et al. Validity of P57kip2 immunohistochemical marker in differential diagnosis of molar pregnancy. *Journal of the Turkish-German Gynecological Association* 2009;10:39-42.
7. Maggiori MS and Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome in situ hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology* 2007; 135: 170-176.

Rettelser Til Tidligere Udgave

Opdatering til CE-format.

Udgivelsesdato

16 juni 2017

Novocastra™ vloeibaar monoklonaal muisantilichaam p57 Protein (Kip2)

Productcode: NCL-L-p57

Beoogd Gebruik

Voor gebruik bij *in-vitro*-diagnostiek.

NCL-L-p57 is bedoeld voor de kwalitatieve identificatie, door middel van lichtmicroscopie, van humaan p57-eiwit, ook bekend als Kip2-eiwit, in paraffinecoupes. 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.

Beinsel van de Procedure

Immunohistochemische (IHC) kleuringstechnieken maken de visualisatie van antigenen mogelijk via de sequentiële toepassing van een specifiek antilichaam naar het antigeen (primaire antilichaam), het secundaire antilichaam naar het primaire antilichaam en een enzymcomplex met een chromogeen substraat met ingevoegde wasstappen. De enzymatische activering van de chromogeenresultaten in een zichtbaar reactieproduct op de antigene plaats. De monsters kunnen dan tegengekleurd en afgedekt zijn. De resultaten worden geïnterpreteerd met een lichtmicroscopie en hulpmiddelen in de differentiële diagnose van pathofysiologische processen, die wel of niet met een specifiek antigeen geassocieerd kunnen worden.

Kloon

25B2

Immunogeen

Prokaryotisch recombinant-antigeen dat overeenkomt met een gebied van 116 aminozuren van de N-terminus van het p57-eiwit.

Specificiteit

Humaan p57-eiwit, ook bekend als Kip2-eiwit.

Reagentiasamenstelling

NCL-L-p57 is een vloeibaar supernatant van weefselweek dat natriumazide bevat als conserveringsmiddel.

Ig-klasse

IgG1

Totale Proteïneconcentratie

Total Protein

Raadpleeg het etiket op de flacon voor de specifieke totale proteïneconcentratie.

Antilichaamconcentratie

Groter dan of gelijk aan 19 mg/l zoals bepaald door ELISA. Raadpleeg het etiket op de flacon voor de specifieke Ig-concentratie.

Aanbevelingen over het Gebruik

Immunochemisch op paraffine coupes.

Warmte-geïnduceerd epitoopherstel (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Volg de instructies voor het gebruik in Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Aangeraden verdunning: 1:50 voor 30 minuten bij 25 °C. Dit wordt gezien als een richtlijn en gebruikers dienen hun eigen optimale werkverdunningen te bepalen.

Visualisatie: Volg a.u.b. de gebruiksinstructies in de Novolink™ Polymer Detection Systems. Voor meer productinformatie of ondersteuning dient u contact op te nemen uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems, of de website van Leica Biosystems te bezoeken, www.LeicaBiosystems.com

De prestatie van dit antilichaam dient gevalideerd te worden als het wordt gebruikt met andere handmatige kleuringssystemen of automatische platformen.

Opslag en Stabiliteit

Opslaan bij temperaturen van 2–8 °C. Niet bevroren. Laat het systeem direct na gebruik terugkeren naar een temperatuur van 2–8 °C. Gebruik het product niet meer na de expiratedatum die op de flacon staat. Opslagcondities andere dan degene die hierboven gespecificeerd zijn, dienen door de gebruiker geïnterpreteerd te worden.

Vorbereiding van Monsters

De aanbevolen fixeerstof is 10% neutraal gebufferde formaline voor paraffine ingebedde weefselcoupes.

Waarschuwingen en Voorzorgsmaatregelen

Deze reagens is voorbereid van het supernatant van de celweek. Aangezien het biologisch product is, dient u bij het gebruik ervan voorzichtig te werk te gaan.

Deze reagens bevat natriumazide. Een materiaalveiligheidsblad is op verzoek verkrijgbaar bij www.LeicaBiosystems.com

Raadpleeg de richtlijnen van de lokale of nationale overheid voor het afdanken van potentieel giftige componenten.

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.¹

Reagentia mogen nooit met de mond worden gepipetteerd. Daarnaast moet contact tussen de huid en het slijmvlies met 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.

Minimaliseer de kans van microbacteriële contaminatie van reagentia. Als u dit niet doet, kan er een toename van niet-specifieke kleuring optreden.

Incubatietijden of temperaturen die afwijken van degenen die gespecificeerd zijn, kunnen tot onjuiste resultaten leiden. Iedere dergelijke verandering moet door de gebruiker gevalideerd worden.

Kwaliteitscontrole

Verschillen in het verwerken van weefsel en technische procedures in het laboratorium van de gebruiker kunnen zorgen voor een aanzienlijke variabiliteit van de resultaten. Dit vereist een regulier gebruik van bedrijfsseigen controles naast de volgende procedures.

De controles moeten verse autopsie-, biopsie-, of chirurgische monsters omvatten, en zo snel mogelijk formale gefixeerd en in paraffinewax ingebed worden, op dezelfde manier als de patiëntmonster(s).

Positieve Weefselcontrole

Wordt gebruikt om correct voorbereide weefsels en goede kleuringstechnieken aan te duiden.

Er dient een positieve weefselcontrole opgenomen te worden voor iedere set testcondities in iedere kleuringsrun.

Voor een optimale kwaliteitscontrole en voor het detecteren van geringe niveaus van reagensdegradatie, is weefsel met zwakke positieve kleuring beter geschikt dan weefsel met sterke positieve kleuring.²

Aanbevolen positieve weefselcontrole is placenta.

Als de positieve weefselcontrole geen positieve kleuring vertoont, moeten de resultaten met de testmonsters als ongeldig worden beschouwd.

Negatieve Weefselcontrole

Dient onderzocht te worden na de positieve weefselcontrole om de specificiteit te verifiëren van de labeling van het doelantigen door het primaire antilichaam.

Aanbevolen negatief controleweefsel is lever (hepatocyten).

Daarnaast leveren de verscheidenheid aan celtypen, die in de meeste weefselcoupes aanwezig zijn, regelmatig negatieve controlelocaties op, maar dit dient door de gebruiker geverifieerd te worden. Niet-specifieke kleuring, indien aanwezig, heeft meestal een diffuus uiterlijk.

Daarnaast kan in coupes sporadische kleuring van bindweefsel worden geobserveerd. Dit treedt op als gevolg van overdadig fixeren van weefsel met formaline. Maak voor de interpretatie van kleuringsresultaten gebruik van intacte cellen. Necrotische of gedegenererde cellen kunnen vaak een niet-specifieke kleuring vertonen.³

Er kan sprake zijn van fout-positieven als gevolg van niet-immunologische binding van eiwitten of substraatreactieproducten. Zij kunnen ook veroorzaakt worden door endogene enzymen zoals pseudoperoxidase (erythrocyten), endogene peroxidase (cytochrom C), of endogene biotine (bijv. lever, borst, hersenen, nieren), afhankelijk van het type immunokleuring dat gebruikt wordt.

Om endogene enzymen of niet-specifieke binding van enzymen van specifieke immunoreactiviteit te differentiëren, kan het zijn dat extra patiëntweefsels exclusief gekleurd wordt met substraat chromogeen of enzymcomplexen (avidine-biotine, streptavidine, gelabeld polymeer) en respectievelijk substraat-chromogeen. Indien specifieke kleuring binnen het interne negatieve controleweefsel optreedt, moeten de resultaten die met de patiëntmonsters zijn verkregen als ongeldig worden beschouwd.

Negatieve Reagenscontrole

Gebruik een niet-specifieke negatieve reagenscontrole in plaats van het primaire antilichaam met een coupe van ieder patiëntmonster, om een niet-specifieke kleuring te evalueren en een betere interpretatie te krijgen van de specifieke kleuring op de antigene plaats.

Patiëntweefsel

Onderzoek de patiëntmonsters die met NCL-L-p57 zijn gekleurd, het laatst. De positieve kleuringsintensiteit moet worden geëvalueerd binnen de context van iedere niet-specifieke achtergrondkleuring van de negatieve reagenscontrole. Net zoals bij elke immunohistochemische test betekent een negatief resultaat dat het antigeen niet is gedetecteerd. Het betekent dus niet dat het antigeen afwezig was in de geanalyseerde cellen/het geanalyseerde weefsel. Gebruik een panel van antilichamen om de verkeerd-negatieve reacties te identificeren.

Verwachte Resultaten

Normale weefsels

Kloon 25B2 detecteerde het p57-eiwit in de kern van Hofbauer-cellen, trofoblasten en decidua van placenta, fibroblastische cellen van gelelei van Wharton in de navelstreng, bijnierschorscellen in de zona glomerulosa, glomerulaire endotheelcellen in de nier en incidentele cellen in de tubuli seminiferi en endometriumstroma. Cytoplasma- en kernkleuring werd waargenomen in acinaire cellen in de pancreas en het epitheel in ileum, caecum, galblaas en baarmoederhals. Cytoplasmakleuring werd waargenomen in ductaal epitheel van de oorspeekseldklier, macrofagen en incidentele pneumocyten in de longen, met zwakke kleuring in ductale epitheelcellen in de borst, de niertubuli en epitheel en chondrocyten in bronchi. Daarnaast werd kleuring van zenuwvezels en ganglia van het maag-darmkanaal opgemerkt, evenals van neuronale processen en axonen van de hersenschors, basale ganglia, hippocampus en het stratum granulosum van het cerebellum. (Totaal aantal normale gevallen dat werd geëvalueerd = 44.)

Abnormale weefsels

Kloon 25B2 vertoede kernkleuring in 28/31 hydropische abortussen, 20/20 eenvoudige abortussen, 32/34 gedeeltelijke hydatidenmolen en 5/33 complete hydatidenmolen. (Sharifi, et al 2009, Maggiori & Peres 2007). Kleuring werd ook waargenomen in 3/4 papillaire carcinomen van de schildklier, 1/2 wekedelentumoren (waaronder 1/1 ganglioneuroom en 0/1 fibromatose), 1/2 hersentumoren (waaronder 1/1 anaplastisch astrocytoom en 0/1 papilloom van de plexus choroideus), 2/2 metastatische tumoren van onbekende oorsprong en 2/2 niercelcarcinomen. Cytoplasmakleuring werd waargenomen 1/2 infiltrerende ductale mammacarcinomen, 1/2 adenocarcinomen van de maag, met zwakke kleuring in 1/1 cholangiocarcinoom. Focale cytoplasmakleuring werd waargenomen in 2/2 plaveiselcelcarcinomen van de slokdarm, 1/1 plaveiselcelcarcinoom van de larynx, 2/2 plaveiselcelcarcinomen van de tong en 1/2 plaveiselcelcarcinomen van de baarmoederhals. Zwakke kern- en/of cytoplasmakleuring werd waargenomen in 2/4 longtumoren (inclusief 1/1 niet-kleincellig carcinoom, 0/1 adenocarcinoom, 1/1 plaveiselcelcarcinoom en 0/1 grootcellig carcinoom), 1/1 mucineus cystadenocarcinoom van de eierstok en 1/2 adenocarcinomen van het colon. Zwakke kernkleuring werd waargenomen in 1/1 atypisch carcinoïd van de thymus en 1/2 hepatocellulaire carcinomen. Er werd geen kleuring waargenomen in testisseminomen (0/2), adenocarcinomen van het rectum (0/2), een metastatisch carcinoom van de lever, een maligne kiemcellumtor van de eierstok, een sereus cystadenocarcinoom van de eierstok, een 'clear cell'-carcinoom van de eierstok, een dermatofibrosarcoom en een plaveiselcelcarcinoom van de huid. (Totaal aantal afwijkende gevallen dat werd geëvalueerd = 162.)

NCL-L-p57 (25B2) wordt aanbevolen voor het detecteren van p57-eiwit in normale en neoplastische weefsels, als aanvulling op conventionele histopathologie waarbij niet-immunologische histochemische kleuringen worden gebruikt.

Algemene Beperkingen

Immunohistochemie is een diagnoseproces van meerdere stappen dat uit een gespecialiseerde training bestaat in het selecteren van de desbetreffende reagentia; weefselselectie, fixatie en verwerking; voorbereiding van de IHC-objectglaasjes; en de interpretatie van de kleuringsresultaten. Weefselkleuring is afhankelijk van het gebruik en de verwerking van het weefsel vóór het aanbrengen van de kleuring. Een onjuiste manier van fixeren, invriezen, ontdooven, wassen, drogen, verwarmen en opdelen of contaminatie met andere weefsels of vloeistoffen kunnen leiden tot artefacten, het vastzitten van antilichamen of fout-negatieven. Inconsistente resultaten kunnen het gevolg zijn van variaties in de methoden die voor het fixeren en inbedden worden gebruikt of van inherente onregelmatigheden binnen het weefsel.⁴

Overmatige of onvolledige tegenkleuring kan een correcte interpretatie van de resultaten in te weg zitten.

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.

Antilichamen van Leica Biosystems Newcastle Ltd zijn bedoeld voor gebruik, zoals aangegeven, op bevroren of paraffine ingebedde coupes met specifieke fixatie-eisen. Er kan een onverwachte antigenexpressie optreden, met name in neoplasma's. De klinische interpretatie van ieder gekleurde weefselcoupe moet morfologische analyses bevatten en de evaluatie van de juiste controles.

Algemene Literatuurlijst

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, PA. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Kanthan R, Fried I, Rueckl T, et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma. World Journal of Surgical Oncology 2010; 8:10.
6. Sharifi N, Sadeghian MH, Ayatollahi H, et al. Validity of P57kip2 immunohistochemical marker in differential diagnosis of molar pregnancy. Journal of the Turkish-German Gynecological Association 2009;10:39-42.
7. Maggiori MS and Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome in situ hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology 2007; 135: 170-176.

Aanpassingen ten opzichte van Vorige Editie

Update naar CE-formaat

Publicatiedatum

16 juni 2017

Novocastra™ flytende murint monoklonalt antistoff p57 Protein (Kip2)

Produktkode: NCL-L-p57

Tiltenkt bruk

Til in vitro-diagnostisk bruk.

NCL-L-p57 skal brukes til kvalitativ identifisering med lysmikroskopi av humant p57-protein, også kalt Kip2-protein, i parafinsnitt. Den kliniske tolkningen av farge eller manglende farge skal suppleres med morfologiske undersøkelser og bruk av egnede kontroller, og bør evalueres av en kvalifisert patolog i lys av pasientens kliniske historie og eventuelle andre diagnostiske tester.

Prosedyreprinsipp

Immunohistokjemiske (IHC) fargingsteknikker gjør det mulig å se antigener via en sekvensiell tilsetning av et bestemt antistoff mot antigenet (primært antistoff), et sekundært antistoff mot det primære antistoffet og et enzymkompleks med et kromogent substrat med innskutte vasketrinn. Den enzymatiske aktiveringen av kromogenet gir et synlig reaksjonsprodukt på antigenstedet. Prøven kan deretter kontrastfarges og dekkes med et dekkglass. Resultatene fortolkes ved hjelp av et lysmikroskop og medvirker til differensialdiagnose av patofysiologiske prosesser som muligens kan være assosiert med et bestemt antigen.

Klon

25B2

Immunogen

Prokaryotisk rekombinant antigen tilsvarende en region med 116 aminosyrer på N-terminalen av p57-proteinet.

Spesifisitet

Humant p57-protein, også kalt Kip2-protein.

Reagenssammensetning

NCL-L-p57 er en flytende vekultursupernatant som inneholder natriumazid som konserveringsmiddel.

Ig-klasse

IgG1

Totalproteinkonsentrasjon

Total Protein

Se etiketten på hetteglasset for lotspesifikk totalproteinkonsentrasjon.

Antistoffkonsentrasjon

Større enn eller lik 19 mg/l som fastslått av ELISA. Se etiketten på hetteglasset for lotspesifikk Ig-konsentrasjon.

Anbefalinger for Bruk

Immunohistokjemi på parafinsnitt.

Varmeindusert epitopgjenfinning (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Følg bruksanvisningen for Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Foreslått fortynning: 1:50 i 30 minutter ved 25 °C. Disse retningslinjene er veiledende, og brukeren bør selv bestemme egne optimale bruksfortynninger.

Visualisering: Følg bruksanvisningen for Novolink™ Polymer Detection Systems. Ønsker du ytterligere produktinformasjon eller -støtte, kan du ta kontakt med den lokale forhandleren eller regionkontoret til Leica Biosystems, eller på nettsidene til Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com

Ytelsen til dette antistoffet bør valideres ved bruk av andre manuelle fargingsystemer eller automatiske systemer.

Oppbevaring og Stabilitet

Oppbevares ved 2–8 °C. Må ikke fryses. Returneres til 2–8 °C umiddelbart etter bruk. Må ikke brukes etter utløpsdatoen angitt på produktetiketten. Andre oppbevaringsbetingelser må valideres av brukeren.

Klargjøring av Prøver

Anbefalt fiksativ er 10 % nøytralbufret formalin for parafinlagrede vevsnett.

Advarsler og Forholdsregler

Denne reagensen er laget av supernatanten fra en cellekultur. Dette er et biologisk produkt som må behandles deretter.

Denne reagensen inneholder natriumazid. Dataark om materialsikkerhet (MSDS) er tilgjengelig på forespørsel eller kan lastes ned fra www.LeicaBiosystems.com

Følg nasjonale og lokale forskrifter for avhending av komponenter som kan være giftige.

Prøver (før og etter fiksering) og alt materiale som eksponeres for dem, skal behandles som potensielt smittefarlig og kasseres i samsvar med gjeldende forholdsregler.¹

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.

Reduser mikrobiell kontaminering av reagensene til et minimum, ellers kan det forekomme økt uspesifisert farging.

Inkubasjonstider eller temperaturer som er annerledes enn det som er angitt, kan gi unøyaktige resultater. Slike endringer må valideres av brukeren.

Kvalitetskontroll

Forskjeller i behandlingen av vev og forskjeller i tekniske prosedyrer i brukerens laboratorium kan gi signifikant varierte resultater, og det kan være nødvendig å foreta kontroller på stedet i tillegg til prosedyrene angitt nedenfor.

Kontrollene skal være nye autopsi-/biopsi-/kirurgiske prøver, formalinfikserte, behandlede og parafinlagrede så snart som mulig, på samme måte som pasientprøver.

Positiv Vevskontroll

Brukes for å påvise korrekt vevspreparering og fargeteknikker.

En positiv vevskontroll bør inkluderes for hvert sett med testbetingelser i hver fargerunde.

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

Anbefalt positivt kontrollvev er fra morkake.

Hvis den positive vevskontrollen ikke viser positiv farging, skal resultatene til testprøvene anses som ugyldige.

Negativ Vevskontroll

Skal undersøkes etter den positive vevskontrollen for å sikre at det primære antistoffet merker målantigenet spesifikt.

Anbefalt negativt kontrollvev er leverhepatocytter.

Alternativt har de mange ulike celletypene som finnes i de fleste vevssnittene ofte negative kontrollsteder, men dette må verifiseres av brukeren. Uspesifikk farging, hvis dette er aktuelt, har ofte et diffus utseende.

Sporadisk farging av bindevev kan på samme måte observeres i snitt fra vev som er fiksert for kraftig i formalin. Bruk intakte celler for å tolke fargerresultatene. Nekrotiske eller degenererte celler kan ofte farges uspesifikt.³

Falske positive resultater kan skyldes ikke-immunologisk binding av proteiner eller substratreaktionsprodukter. Dette kan også skyldes endogene enzymer som pseudoperoxidase (erythrocytter), endogen peroksidase (cytokrom C) eller endogent biotin (f.eks. lever, bryst, hjerne, nyre), avhengig av anvendt type immunfarge.

For å differensiere endogen enzymaktivitet eller uspesifikk enzymbinding og spesifikk immunreaktivitet kan ytterligere pasientvev eventuelt farges kun med henholdsvis substratkromogen eller enzymkomplekser (avidin-biotin, streptavidin, merket polymer) og substratkromogen. Hvis det skjer spesifikk farging i den negative vevskontrollen, må resultatene for pasientprøvene anses som ugyldige.

Negativ reagenskontroll

Bruk en uspesifikk negativ reagenskontroll i stedet for det primære antistoffet på et snitt av hver pasientprøve for å vurdere uspesifikk farging og for å muliggjøre bedre fortolkning av spesifikk farging på antigenstedet.

Pasientvev

Undersøk pasientprøver farget med NCL-L-p57 sist. Intensiteten av positiv farging bør vurderes i sammenheng med eventuell uspesifikk bakgrunnsfarging av den negative reagenskontrollen. Som med alle immunhistokjemiske tester, betyr et negativt resultat at antigenet ikke ble påvist, ikke at antigenet var fraværende i de analyserte cellene/vevet. Om nødvendig kan man bruke et panel av antistoffer for å identifisere falske negative reaksjoner.

Forventede Resultater

Normalt Vev

Klon 25B2 detekterte p57-proteinet i nukleusen til Hofbauer-celler, trofoblaster og decidua i morkake, fibroblastiske celler i Whartons gele i navlestrengen, adenale kortikalceller i zona glomerulosa, glomerulære endotelceller i nyren og sporadiske celler i sædkanalene og endometrielle stroma. Cytoplasma- og nukleusfarging ble observert i acinære celler i bukspyttkjertelen og epitel i ileum, cecum, galleblære og livmorhals. Cytoplasmafarging ble observert i duktalet epitel i parotidkjertel, makrofager og sporadiske pneumocytter i lunge, med svak farging i duktalet epitelceller i bryst, nyretubuler og epitel og kondrocytter i bronkie. Farging ble også observert i nervefibre og ganglier i mage-tarmkanalen og i nevrale prosesser og aksoner i cerebrale korteks, basalganglier, hippocampus og det granulære laget av cerebellum. (Antall normale tilfeller evaluert = 44.)

Abnormalt Vev

Klon 25B2 viste nukleusfarging i 28/31 hypodermiske aborter, 20/20 enkle aborter, 32/34 delvise blæremola og 5/33 fullstendige blæremola. (Sharifi, et al 2009, Maggiori & Peres 2007). Farging ble også observert i 3/4 papillære karsinomer i skjoldbruskkjertelen, 1/2 bløtvevtumorer (inkludert 1/1 ganglioneurom og 0/1 fibromatose), 1/2 hjernetumorer (inkludert 1/1 anaplastisk astrocytom og 0/1 plexus choroideus-papillom), 2/2 metastatiske tumorer av ukjent opprinnelse og 2/2 nyrecellekarsinomer. Cytoplasmafarging ble observert i 1/2 infiltrerende duktalet brystkarsinomer, 1/2 gastriske adenokarsinomer, med svak farging i 1/1 kolangiokarsinom. Fokal cytoplasmafarging ble observert i 2/2 plateepitelkarsinomer i spiserøret, 1/1 plateepitelkarsinom i strupehodet, 2/2 plateepitelkarsinomer i tungen og 1/2 plateepitelkarsinomer i livmorhalsen. Svak nukleusfarging og/eller cytoplasmafarging ble observert i 2/4 lungetumorer (inkludert 1/1 ikke-småcellekarsinom, 0/1 adenokarsinom, 1/1 plateepitelkarsinom og 0/1 storcellekarsinom), 1/1 mucinøst cystadenokarsinom i eggstokken og 1/2 adenokarsinomer i tykktarmen. Svak nukleusfarging ble observert i 1/1 atypisk karsinoid i brisselen og 1/2 hepatocellulære karsinomer. Ingen farging ble observert i testikkelseminomer (0/2), adenokarsinomer i endetarmen (0/2), et metastatisk karsinom i leveren, en ondartet bakteriecelletumor i eggstokken, et serøst cystadenokarsinom i eggstokken, et klarcellekarsinom i eggstokken, et dermatofibrosarkom og et plateepitelkarsinom i huden. (Antall unormale tilfeller evaluert = 162.)

NCL-L-p57 (25B2) anbefales for vurdering av p57-protein i normale og neoplastiske vev, og som tillegg til konvensjonell histopatologi med bruk av ikke-immunologiske histokjemiske farger.

Generelle Begrensninger

Immunhistokjemi er en diagnostisk prosess i flere trinn som omfatter spesialutdanning i valg av egnede reagenser, vevsseleksjon, -fiksering og -behandling samt preparering av IHC-objektglass og tolking av fargerresultater. Vevsfarging avhenger av håndteringen og behandlingen av vevet før farging. Feil fiksering, frysing, tining, vasking, tørking, oppvarming, snitting eller kontaminering med annet vev eller væsker kan gi artefakter, innfangning av antistoffer eller falske negative resultater. Inkonsekvante resultater kan skyldes variasjoner ved fiksering eller innstøpningsmetoder eller iboende uregelmessigheter i vevet.⁴

Overdreven eller ufullstendig motfarging kan også gjøre det vanskelig å tolke resultatene riktig.

Den kliniske tolkningen av farge eller manglende farge skal suppleres med morfologiske undersøkelser og bruk av egnede kontroller, og bør evalueres av en kvalifisert patolog i lys av pasientens kliniske historie og eventuelle andre diagnostiske tester.

Antistoffer fra Leica Biosystems Newcastle Ltd skal brukes, som angitt, på enten frosne eller parafinlagrede snitt med spesifikke krav til fiksering. Uventet antigenekspresjon kan forekomme, spesielt i neoplasma. Den kliniske tolkningen av fargede vevssnitt må omfatte morfologiske analyser og evaluering av egnede kontroller.

Bibliografi – Generelt

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Kanthan R, Fried I, Rueckl T, et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma. World Journal of Surgical Oncology 2010; 8:10.
6. Sharifi N, Sadeghian MH, Ayatollahi H, et al. Validity of P57kip2 immunohistochemical marker in differential diagnosis of molar pregnancy. Journal of the Turkish-German Gynecological Association 2009;10:39-42.
7. Maggiori MS and Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome in situ hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology 2007; 135: 170-176.

Endringer i forhold til Forrige Utgave

Oppdatering til CE-format.

Utgivelsesdato

16 juni 2017

Novocastra™ Likit Fare Monoklonal Antikoru

p57 Protein (Kip2)

Ürün Kodu: NCL-L-p57

Kullanım Amacı

In vitro diagnostik kullanımı için.

NCL-L-p57, parafin kesitlerinde, Kip2 proteini olarak da bilinen insan p57proteininin ışık mikroskopisi ile nitel tanımlanmasında kullanım amaçlıdır. Herhangi bir boyamanın mevcut olması veya olmaması ile ilgili klinik yorumlama, uygun kontroller kullanılarak morfolojik çalışmalarla tamamlanmalıdır ve hastanın klinik geçmişi ve diğer diagnostik testler kapsamında kalifiye bir patolojist tarafından değerlendirilmelidir.

Prosedür Prensipleri

İmmünohistokimyasal (IHC) boyama teknikleri, spesifik bir antikoru antijene (primer antikor), ikincil bir antikoru primer antikora ve bir enzim kompleksinin kromojenik bir substrat ile arada yıkama adımları olacak şekilde sekansiyel olarak uygulanmasıyla antijenlerin görselleştirilmesini sağlar. Kromojenin enzimatik aktivasyonu, antijen bölgesinde görünür bir reaksiyon ürettiği ile sonuçlanır. Numune bu durumda karşı boyanabilir ve lamellenebilir. Sonuçlar, bir ışık mikroskopu kullanılarak yorumlanır ve özel bir antijenle birleştirilebilen veya birleştirilemeyen patofizyolojik işlemlerin ayrıştırıcı tanısına yardımcı olur.

Clone

25B2

İmmünojen

p57 proteininin N uç bölgesinde bir 116 aminoasit bölgesine karşılık gelen prokaryotik rekombinant antijen.

Spesifite

İnsan p57 proteini; Kip2 protein olarak da bilinir.

Reagent Kompozisyonu

NCL-L-p57, prezervatif olarak sodyum azid içeren bir sıvı doku kültürü supernatantıdır.

Ig Sınıfı

IgG1

Toplam Protein Konsantrasyonu

Total Protein

Lota özel toplam protein konsantrasyonu için viyal etiketine başvurun.

Antikor Konsantrasyonu

ELISA tarafından belirlendiği gibi 19 mg/L'ye eşit veya bu değerden yüksek. Lota özel Ig konsantrasyonu için viyal etiketine başvurun.

Kullanım Tavsiyeleri

Parafin seksiyonlarında immünohistokimya.

Isı Etkisiyle Epitop Geri Kazanımı (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Lütfen, Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6 için kullanma talimatını izleyin.

Önerilen dilüsyon: 1:50 25 °C'de 30 dakika için. Bu bir kılavuz olarak verilmiştir; kullanıcılar, kendilerine özel optimal çalışma dilüsyonlarını belirlemelidirler.

Görselleştirme: Novolink™ Polymer Detection System kullanım talimatlarına uyun. Ürünle ilgili daha fazla bilgi veya destek için yerel distribütörünüze veya bölgesel Leica Biosystems ofisine başvurun veya alternatif olarak www.LeicaBiosystems.com Leica Biosystems internet sitesini ziyaret edin.

Bu antikorun performansı, diğer manuel boyama sistemleri veya otomatik platformlarla kullanıldığında doğrulanmalıdır.

Saklama ve Dayanıklılık

2–8 °C'de saklayın. Dondurmayın. Kullanımdan hemen sonra 2–8 °C'ye dönün. Viyal etiketinin üzerinde belirtilen son kullanım tarihinden sonra kullanmayın. Yukarıda belirtilenlerin dışındaki saklama koşullarının, kullanıcı tarafından kontrol edilmesi gerekir.

Numune Hazırlığı

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

Uyarılar ve Önlemler

Bu reagent, hücre kültürünün supernatantından hazırlanmıştır. Bu bir biyolojik ürün olduğundan işlem yaparken özel dikkat gerektirir.

Bu reagent, sodyum azit içerir. Talep üzerine veya www.LeicaBiosystems.com 'dan bir Material Safety Data Sheet (Malzeme Güvenlik Veri Sayfası) elde edilebilir.

Potansiyel tüm toksik bileşenlerin imhası için federal, ulusal veya lokal düzenlemelere başvurun.

Fikse etme işleminden önce ve sonra numuneler ve bunlara maruz kalan tüm materyaller, enfeksiyon yayabilecek gibi ele alınmalı ve doğru önlemler alınarak atığa çıkartılmalıdır.¹

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.

Reagent'ların mikrobiyal kontaminasyonunu minimize edin, aksi durumda nonspesifik boyamada bir artış ortaya çıkabilir.

Belirtilenlerin dışında inkübasyon süreleri veya sıcaklıkları, hatalı sonuçlara neden olabilir. Tüm değişiklikler, kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Kalite Kontrol

Kullanıcının laboratuvarındaki doku işleme ve teknik prosedürlerdeki değişiklikler, sonuçlarda önemli farklılıklara neden olabilir ve aşağıdaki prosedürlere ek olarak dahili kontrollerin düzenli şekilde yapılmasını gerektirir.

Kontroller, mümkün olan en kısa sürede ve hasta örneği (örnekleri) ile aynı şekilde formalinle fikse edilmiş, işlenmiş ve parafin mumuna gömülmüş taze otopsi/biyopsi/cerrahi numune olmalıdır.

Pozitif Doku Kontrolü

Doğru hazırlanmış dokuları ve düzgün boyama tekniklerini belirtmek için kullanılır.

Bir pozitif doku kontrolü, her boyama çalıştırmasında test koşullarının her seti için dahil edilmelidir.

Optimal kalite kontrol için ve reagent degradasyonunun minör düzeylerini tespit etmek için zayıf pozitif boyamaya sahip bir doku, güçlü pozitif boyamaya sahip bir dokudan daha uygundur.²

Önerilen pozitif kontrol dokusu plasentadır.

Pozitif doku kontrolü, pozitif boyamayı göstermezse test numuneleri ile elde edilen sonuçlar geçersiz olarak ele alınmalıdır.

Negatif Doku Kontrolü

Pozitif doku kontrolünden sonra hedef antijenin etiketleme spesifitesini primer antikorla kontrol etmek için gerçekleştirilmelidir.

Önerilen negatif kontrol dokusu karaciğer hepatositleridir.

Pek çok doku seksiyonunda bulunan farklı hücre tiplerinin çeşitliliği, genelde negatif kontrol bölgeleri sağlar ancak bu, kullanıcı tarafından kontrol edilmelidir. Nonspesifik boyama, mevcutsa genelde difüz bir görünüme sahiptir.

Bağ dokusu sporadik boyama, aşırı formalinle fikse edilmiş dokulardan seksiyonlarda da gözlemlenebilir. Boyama sonuçlarının yorumlanması için intakt hücreler kullanın. Nekrotik veya dejenere hücreler, genelde belirsiz şekilde boyanabilir.³

Yanlış pozitif sonuçlar, substrat reaksiyon ürünleri veya proteinlerin immünojen olmayan protein bağlanması nedeniyle görülebilir.

Bunlar, kullanılan immüno boyamanın tipine bağlı olarak psödoperoksidaz (eritrositler), endojen peroksidaz (sitokrom C) veya endojen biotin (örn. karaciğer, meme, beyin, böbrek) gibi endojen enzimler nedeniyle de ortaya çıkabilir.

Endojen enzim aktivitesini veya enzimlerin nonspesifik bağlanmasını, spesifik immünoaktiviteden ayırt etmek için ilave hasta dokuları, sadece sırasıyla substrat kromojen veya enzim kompleksleriyle (avidin biotin, streptavidin, etiketli polimer) ve substrat kromojen ile boyanabilir. Spesifik boyamann, negatif doku kontrolünde ortaya çıkması durumunda hasta numuneleri ile elde edilen sonuçlar geçersiz olarak ele alınmalıdır.

Negatif Reagent Kontrolü

Antijen bölgede nonspesifik boyamanın değerlendirilmesi ve spesifik boyamanın daha iyi yorumlanmasını sağlamak amacıyla her hasta numunesinin bir seksiyonu ile primer antikorun yerine bir nonspesifik negatif reagent kontrolü kullanın.

Hasta Dokusu

NCL-L-p57 ile boyanmış hasta numunelerini en son inceleyin. Pozitif boyama intensitesi, negatif reagent kontrolünün herhangi bir nonspesifik arka plan boyamasının kapsamında değerlendirilmelidir. Herhangi bir immünohistokimyasal test ile negatif bir sonuç, antijenin tespit edilmediği anlamına gelir; antijenin test edilen hücrelerde/dokuda mevcut olmadığı anlamına gelmez. Gerekliyse yanlış negatif reaksiyonları belirlemek için bir antikor paneli kullanın.

Öngörülen Sonuçlar

Normal Dokular

Klon 25B2; Hofbauer hücrelerinin çekirdeğinde, plasenta desiduası ve trofoblastlarında, göbek kordonundaki wharton jeli fibroblast hücrelerinde, zona glomerulosa'daki adrenokortikal hücrelerde, böbrekteki glomeruler endotel hücrelerde ve zaman zaman seminiferöz tübüllerdeki hücrelerde ve endometriyal stromada p57 proteinini saptadı. Pankreas asiner hücrelerinde ve ileum, çekum, safra kesesi ve servikste epitelyumda sitoplazmik ve nükleer boyanma görüldü. Sitoplazmik boyanmanın parotis bezli duktal epitelyumu, akciğerde makrofajlar ve zaman zaman pnömositlerde görülmesiyle birlikte, böbrek tübüllerinde, meme duktal epitel hücrelerinde ve bronştaki kondrositler ve epitellerde zayıf boyanma görüldü. Boyanma ayrıca gastrointestinal sistemdeki sinir lifleri ve gangliyalarda, ve serebral korteksin nöron prosesleri ve aksonları, bazal ganglia, hipokampus ve serebellumun granüler tabakasında görüldü. (Değerlendirilen normal olgu sayısı = 44).

Abnormal Dokular

Klon 25B2; 28/31 hidropik abortus, 20/20 basit abortus, 32/34 parsiyel hidatidiform mol ve 5/33 komplet hidatidiform molda nükleer boyanma görüldü. (Sharifi ve ark. 2009, Maggiori ve Peres 2007). Boyanma ayrıca; 3/4 tiroid papiller karsinomunda, 1/2 yumuşak doku tümöründe (1/1 ganglionörom ve 0/1 fibromatoz dahil), 1/2 beyin tümöründe (1/1 anaplastik astrositom ve 0/1 koroid pleksus papillomu dahil), 2/2 kökeni bilinmeyen metastatik tümörde ve 2/2 renal hücreli kanserde gözlemlendi. Sitoplazmik boyanma; 1/2 infiltran duktal meme kanserinde, 1/2 gastrik adenokarsinomda, zayıf boyanma ile 1/1 kolanjiyokarsinomda görüldü. Fokal sitoplazmik boyanma; 2/2 özofagus skuamöz hücreli kanserinde, 1/1 larinks skuamöz hücreli kanserinde, 2/2 dil skuamöz hücreli kanserinde ve 1/2 serviks skuamöz hücreli kanserinde gözlemlendi. 2/4 akciğer tümöründe (1/1 küçük hücreli dışı kanser, 0/1 adenokarsinom, 1/1 skuamöz hücreli kanser ve 0/1 büyük hücreli kanser dahil), 1/1 over musinöz kistadenakarsinomu ve 1/2 kolon adenokarsinomunda zayıf nükleer ve/veya sitoplazmik boyanma gözlemlendi. 1/1 timusun atipik karsinoidinde ve 1/2 hepatoselüler karsinomlarda zayıf nükleer boyanma gözlemlendi. Testiküler seminomlarda (0/2), rektum adenokarsinomlarında (0/2), bir metastatik karaciğer karsinomunda, bir malign over germ hücreli tümörde, bir over seröz kistadenokarsinomunda, bir over berrak hücreli kanserde, bir dermatofibrosarkomada ve bir skuamöz hücreli cilt karsinomunda, herhangi bir boyanma gözlemlenmedi. (Değerlendirilen anormal olgu sayısı = 162).

NCL-L-p57 (25B2), immünojenik olmayan histokimyasal boyamalar kullanılarak yapılan geleneksel histopatolojiye ek olarak, normal ve neoplastik dokularda p57 proteinin değerlendirilmesi için önerilir.

Genel Sınırlamalar

İmmünohistokimya uygun reagent'ların seçilmesinde; dokunun seçilmesi, fikse edilmesi ve işlenmesinde; IHC lamininin hazırlanmasında ve boyama sonuçlarının yorumlanmasında uzmanlık eğitimi gerektiren çok adımlı bir diagnostik işlemdir. Doku boyama, boyamadan önce dokunun ele alınması ve işlenmesine bağlıdır. Diğer dokularla veya akışkanlarla hatalı fikse etme, dondurma, eritme, yıkama, kurutma, ısıtma, seksiyonlama veya kontaminasyon artefakt, antikor trapping veya yanlış negatif sonuçlar oluşabilir. Doku içerisinde fikse etme ve gömme yöntemleri veya inherent aksaklıklar nedeniyle tutarsız sonuçlar ortaya çıkabilir.⁴

Aşırı veya inkomplet karşıt boya, sonuçların doğru yorumlanmasına engel olabilir.

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

Leica Biosystems Newcastle Ltd antikorları, belirtildiği gibi spesifik fikse etme işlemleri gerektiren dondurulmuş veya parafine gömülmüş seksiyonlarda kullanılmak içindir. Özellikle neoplazmalarda beklenmedik antijen ekspresyonu ortaya çıkabilir. Boyanan doku seksiyonunun klinik yorumu, morfolojik analiz ve uygun kontrollerin değerlendirmesini içermelidir.

Kaynakça - Genel

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Kanthan R, Fried I, Rueckl T, et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma. World Journal of Surgical Oncology 2010; 8:10.
6. Sharifi N, Sadeghian MH, Ayatollahi H, et al. Validity of P57kip2 immunohistochemical marker in differential diagnosis of molar pregnancy. Journal of the Turkish-German Gynecological Association 2009;10:39-42.
7. Maggiori MS and Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome in situ hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology 2007; 135: 170-176.

Önceki Baskıya Göre Değişiklikler

CE formatına güncelleme.

Yayın tarihi

16 Haziran 2017

Novocastra™ моноклонално антитяло от мишка в течно състояние p57 протеин (Kip2)

Код на продукта: NCL-L-p57

Предназначение

За употреба при *in vitro* диагностика.

NCL-L-p57 е предназначен за качествено определяне със светлинна микроскопия на човешки p57 протеин, известен също като Kip2 протеин, в парафинови срезове. Клиничната интерпретация на което и да е оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания с помощта на подходящи контроли и трябва да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

Принцип на процедурата

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

Клон

25B2

Имуноген

Прокариотен рекомбинантен антиген, съответстващ на позиция 116 на аминокиселината в N-края на p57 протеина.

Специфичност

Човешки p57 протеин, известен също като Kip2 протеин.

Състав на реагента

NCL-L-p57 е супернатантна течност от тъканна култура, съдържаща натриев азид като консервант.

Клас Ig

IgG1

Обща концентрация на протеин Total Protein

Вижте етикета на флакона за специфичната за партидата обща концентрация на протеин.

Концентрация на антитялото

По-висока или равна на 19 mg/ml, както е определено с ELISA. Вижте етикета на флакона за специфичната за партидата концентрация на Ig.

Препоръки за употреба

Имунохистохимия върху парафинови срези.

Топлинно индуцирано възстановяване на епитопа (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Моля, спазвайте инструкциите за употреба, включени в опаковката на Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Предложение за разреждане: 1:50 за 30 минути при 25 °C. Това е дадено като указание, а потребителите трябва сами да определят техни собствени оптимални работни разреждания.

Визуализация: Моля, спазвайте инструкциите за употреба, приложени към Novolink™ Polymer Detection Systems. За допълнителна информация за продукта или помощ, свържете се с Вашия локален дистрибутор или местния офис на Leica Biosystems, или, алтернативно, посетете уебсайта на Leica Biosystems, www.LeicaBiosystems.com.

Работните характеристики на това антитяло трябва да бъдат валидирани при употреба с други мануални системи за оцветяване или автоматизирани платформи.

Съхранение и стабилност

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

Подготовка на проби

Препоръчителният фиксатор е неутрален буфериран формалин 10% за тъканни срези, включени в парафин.

Предупреждения и предпазни мерки

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

Този реагент съдържа натриев азид. Листъ с данните за безопасност на материала може да се получи при поискване или е на разположение от www.LeicaBiosystems.com.

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

Всички проби, преди и след фиксиране, и всички материали, изложени на тях, трябва да се третира като възможни преносители на инфекция и да се изхвърлят, като се вземат правилни предпазни мерки.¹ Никогa не пипетирайте реагенти с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реагенти и проби. Ако реагентите или пробите влязат в контакт с чувствителни участъци, промийте с обилно количество вода. Консултирайте се с лекар.

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

Инкубационни времена или температури, различни от посочените, могат да причинят грешни резултати. Всякакви такива промени трябва да бъдат валидирани от потребителя.

Качествен контрол

Различията в обработката на тъканите и техническите процедури в лабораторията на потребителя могат да причинят значителна вариабилност в резултатите, налагаща редовно извършване на външни контроли освен следните процедури. Контролите трябва да са свежи проби, взети по време на аутопсия/биопсия/операция, фиксирани във формалин, обработени и включени в парафинов восък, възможно най-бързо, по същия начин като пробата(ите) на пациента(ите).

Положителна тъканна контрола

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

Една положителна тъканна контрола трябва да бъде включена за всеки сет с тест-условия при всяка серия проби за оцветяване.

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

Препоръчителната тъкан за положителна контрола е плацента.

Ако положителната тъканна контрола не показва положително оцветяване, резултатите от пробите, включени в теста, трябва да се считат за невалидни.

Отрицателна тъканна контрола

Трябва да се изследва след положителната тъканна контрола, за да се провери специфичността на маркирането на таргетния антиген от първичното антияло.

Препоръчителната тъкан за отрицателна контрола е чернодробни хепатоцити.

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

Неспецифичното оцветяване, ако присъства, обикновено е дифузно на вид. Спорадично оцветяване на съединителна тъкан може да се наблюдава и в прекомерно фиксирани във формалин тъкани. Използвайте интактни клетки за интерпретация на резултатите от оцветяването. Некротичните или дегенерираните клетки често се оцветяват неспецифично.³ Може да се видят фалшиво положителни резултати поради неимунологично свързване на протеини или реакционни продукти на субстрата. Те може да са причинени и от ендогенни ензими като псевдопероксидаза (еритроцити), ендогенна пероксидаза (цитохром С) или ендогенен биотин (напр. черен дроб, гърда, мозък, бъбрек) в зависимост от типа на използваното имуно оцветяване. За диференциране на ендогенна ензимна активност или неспецифично ензимно свързване от специфична имунна реактивност, ексклузивно може да се оцветят допълнителни тъкани от пациента, съответно със субстрат-хромоген или със ензимни комплекси (авидин-биотин, стрептавидин, маркиран полимер) и субстрат-хромоген. Ако се появи специфично оцветяване в отрицателната тъканна контрола, резултатите от пробите на пациентите трябва да се считат за невалидни.

Отрицателна контрола на реагента

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

Тъкан от пациента

Изследвайте проби на пациенти, оцветени последно с NCL-L-p57. Наситеността на положителното оцветяване трябва да бъде оценена в контекста и на фона на някакво неспецифично оцветяване на отрицателната контрола на реагента. Както при всеки имунохистохимичен тест, един отрицателен резултат означава, че антигенът не е открит, а не че антигенът отсъства в анализираният клетки/тъкан. Ако се налага, използвайте панел от антигела за идентифициране на фалшиво отрицателни реакции.

Очаквани резултати

Нормални тъкани

С клон 25B2 е открит p57 протеин в ядрото на клетки на Хопфбауер, трофобласти и децидуа на плацента, фибробластни клетки от желе на Уортън в пълната връв, клетки от кортикалната част на надбъбречната жлеза в гломерулозна зона, гломерулни ендотелни клетки в бъбрека и отделни клетки в семениферните тубули и ендометриалната строма. Оцветяване на цитоплазмата и ядрото е наблюдавано при ацинарни клетки в панкреаса и епитела на илеума, цекума, жлъчния мехур и шийката на матката. Оцветяване на цитоплазмата е наблюдавано при дуктален епител на паротидната жлеза, макрофаги и отделни пневмоцити в бял дроб, със слабо оцветяване при дуктални епителни клетки в гърда, бъбречни тубули и епители и хондроцити в бронх. Отбелязано е също оцветяване на нервни влакна и ганглии на стомашно-чревния тракт и на невронални процеси и аксони на мозъчната кора, базални ганглии, хипокампус и грануларния слой на церебелума. (Брой на оценените нормални случаи = 44).

Абнормни тъкани

Клон 25B2 показва оцветяване на ядрото при 28/31 хидропични абортти, 20/20 обикновени абортти, 32/34 парциални моли хидатидоза и 5/33 комплетни моли хидатидоза. (Sharifi, et al 2009, Maggiori & Peres 2007). Наблюдавано е оцветяване и при 3/4 папиларни карциноми на щитовидната жлеза, 1/2 тумори на меки тъкани (включително 1/1 ганглионевром и 0/1 фиброматоза), 1/2 мозъчни тумори (включително 1/1 анапластичен астроцитом и 0/1 папилом на хороидния плексус), 2/2 метастатични тумори с неизвестен произход и 2/2 бъбречноклетъчни карциноми. Оцветяване на цитоплазмата е наблюдавано при 1/2 инфилтриращи дуктални карциноми на гърдата, 1/2 стомашни аденокарциноми, със слабо оцветяване при 1/1 холангиокарцином. Фокално оцветяване на цитоплазмата е наблюдавано при 2/2 сквамозноклетъчни карциноми на хранопровода, 1/1 сквамозноклетъчен карцином на ларинкса, 2/2 сквамозноклетъчни карциноми на езика и 1/2 сквамозноклетъчни карциноми на шийката на матката. Слабо оцветяване на ядрото и/или цитоплазмата е наблюдавано при 2/4 белодробни тумори (включително 1/1 недребноклетъчен карцином, 0/1 аденокарцином, 1/1 сквамозноклетъчен карцином и 0/1 едроклетъчен карцином), 1/1 муцинозен цистаденокарцином на яйчника и 1/2 аденокарциноми на колона. Слабо оцветяване на ядрото е наблюдавано при 1/1 атипични карциноиди на тимуса и 1/2 хепатоцелуларни карциноми. Не е наблюдавано оцветяване при тестикуларни семиноми (0/2), аденокарциноми на ректума (0/2), метастатичен карцином на черния дроб, злокачествени овариални герминативноклетъчни тумори, овариален серозен цистаденокарцином, овариален светлоклетъчен карцином, дерматофибросарком и сквамозноклетъчен карцином на кожата. (Брой на оценените абнормни случаи = 162).

NCL-L-p57 (25B2) се препоръчва за оценка на p57 протеин в нормални и неопластични тъкани, като допълнение към конвенционалната хистопатология, с използване на неимунологични хистохимични оцветявания.

Общи ограничения

Имунохистохимията е многостепенен диагностичен процес, който се състои от специализирано обучение в избор на подходящите реагенти; избор на тъкани, фиксация и обработка; подготовка на IXX слайд; и интерпретация на резултатите от оцветяването.

Тъканното оцветяване зависи от боравенето с тъканта и нейната обработка преди оцветяването. Неправилното фиксиране, замразяване, размразяване, промиване, изсушаване, затопляне, срязване или контаминацията с други тъкани или течности може да причини артефакти, блокиране на антителата или фалшиво отрицателни резултати. Несъвместимите резултати може да са причинени от отклонения във фиксирането и методите на включване в парафина, или от присъщи нередности вътре в тъканта.⁴

Прекаленото или непълно контраоцветяване може да компрометира правилната интерпретация на резултатите.

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

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

Библиография - основна

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjj M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Kanthan R, Fried I, Rueckl T, et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma. World Journal of Surgical Oncology 2010; 8:10.
6. Sharifi N, Sadeghian MH, Ayatollahi H, et al. Validity of P57kip2 immunohistochemical marker in differential diagnosis of molar pregnancy. Journal of the Turkish-German Gynecological Association 2009;10:39-42.
7. Maggiori MS and Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome in situ hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology 2007; 135: 170-176.

Изменения на предишно издание

Актуализация в CE формат.

Дата на издаване

16 Юни 2017

Novocastra™ folyékony egér monoklonális antitest p57 fehérje (Kip2)

Termékkód: NCL-L-p57

Tervezett felhasználás

In vitro diagnosztikai használatra.

Az NCL-L-p57 a humán p57 fehérje – más néven Kip2 fehérje – fénymikroszkóppal végzett minőségi azonosítására szolgál paraffinmetszetekben. Minden megfestésnek vagy a megfestés bármely hiányának a klinikai értelmezését a megfelelő kontrollokat alkalmazó morfológiai vizsgálatokkal kell kiegészíteni, és a beteg klinikai kórelőzménye, valamint az egyéb, képzett patológus által végzett diagnosztikai vizsgálatok kontextusában kell kiértékelni.

Az eljárás alapelve

Az immunhisztokémiai (IHC) megfestési technikák – közbeiktatott mosási lépések mellett – az antigén ellen termelődő specifikus antitest (elsődleges antitest), az elsődleges antitest ellen termelődő másodlagos antitest és az egy kromogén szubsztráttal rendelkező enzimmolekulák egymás után következő alkalmazásán keresztül teszik lehetővé az antigének képi megjelenítését. A kromogén enzimaktiválása látható reakcióterméket eredményez az antigén helyén. Utána a minta kontrasztfesthető és fedőlemezzel látható el. Az eredményeket fénymikroszkóp segítségével lehet értelmezni; ezek az eredmények segítenek a patofiziológiás folyamatok differenciál diagnóza során, amely folyamatok lehet, hogy egy konkrét antigénhez kapcsolhatók, de lehet, hogy nem.

Klón

25B2

Immunogén

A p57 fehérje N-terminusa 116-os aminosav-régiójának megfelelő prokaryota rekombináns antigén.

Specifititás

Humán p57 fehérje, más néven Kip2 fehérje.

Reagens összetétele

Az NCL-L-p57 egy a tartósítószerként nátrium-azidot tartalmazó folyékony szövetkultúra felülúszó.

Ig-osztály

IgG1

Összfehérje-koncentráció

Total Protein

A tétel specifikus összfehérje-koncentrációját illetően lásd a fiola címkéjét.

Antitest-koncentráció

Legalább 19 mg/l az ELISA által meghatározottak szerint. A tétel-specifikus Ig-koncentrációt illetően lásd a fiola címkéjét.

Javaslatok a felhasználással kapcsolatban

Immunhisztokémiai paraffinmetszeteken.

Hőindukált epitópfeltárás (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Kövesse a Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6 termék használati utasítását.

Javasolt feloldás: 1:50 30 percen át, 25 °C-on. Mindez csak útmutatóul szolgál, a felhasználóknak kell meghatározniuk saját optimális munkaadataikat.

Megjelenítés: Kövesse a Novolink™ Polymer Detection Systems rendszerekben történő használatra vonatkozó utasításokat. Ha további termékinformációra vagy támogatásra van szüksége, forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához, vagy keresse fel a Leica Biosystems webhelyét a www.LeicaBiosystems.com címen.

Ennek az antitestnek a teljesíthetőségét validálni kell, amikor más festési rendszerekkel vagy automatizált platformokkal használják.

Tárolás és stabilitás

2–8 °C-os hőmérsékleten tárolandó. Tilos fagyasztani. Felhasználás után azonnal tegye vissza olyan helyre, ahol a hőmérséklet 2–8 °C. A fiola címkéjén feltüntetett lejárati dátumot követően felhasználása tilos. A fentiekben előírtaktól eltérő tárolási feltételeket a felhasználónak ellenőriznie kell.

Minta előkészítése

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

Figyelmeztetések és óvintézkedések

Ez a reagens a sejtkultúra felülúszójából készült. Mivel biológiai termék, kezelésekor ésszerű körültekintéssel kell eljárni.

Ez a reagens nátrium-azidot tartalmaz. Az anyagbiztonsági lap igényelhető, vagy a www.LeicaBiosystems.com webhelyen rendelkezésre áll. Minden potenciálisan toxikus összetevőnek az ártalmatlanításával kapcsolatban tanulmányozza a szövetségi, állami vagy helyi rendelkezéseket.

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

Minimálisra kell csökkenteni a reagensek mikrobiális szennyezettségét, különben megnövekedhet a nem specifikus megfestés. A megadottaktól eltérő inkubációs idők, illetve hőmérsékletek hibás eredményekre vezethetnek. Minden ilyen változást a felhasználónak kell validálnia.

Minőség-ellenőrzés

A felhasználó laboratóriumában a szövetszövetfeldolgozás és a műszaki eljárások terén jelentkező különbségek jelentős eltérést idézhetnek elő az eredmények területén, ami – a következő eljárásokon túlmenően – a házon belüli ellenőrzések rendszeres végrehajtását teszi szükségessé.

A kontrollok legyenek friss boncolási/biopsziás/sebészeti minták, amelyeket – amint lehet – ugyanúgy formalinnal fixáltak, dolgoztak fel, illetve ágyztak paraffinvaszba, mint a betegmintá(ka)t.

Poszítív szövetszövetkontroll

Ezeket a megfelelően preparált szövetek és a megfelelő megfestési technikák jelzésére használják.

Mindegyik vizsgálati feltételrendszer esetében egy pozitív szövetszövetkontrollt kell alkalmazni minden megfestési sorozat során.

A gyengén pozitív megfestésű szövet alkalmasabb egyrészt az optimális minőség-ellenőrzés, másrészt az alacsonyabb szinten történő reagensbomlás észlelése szempontjából, mint az erősebben pozitív megfestésű szövet.²

A javasolt pozitív kontrollszövet a placenta.

Ha a pozitív szövetszövetkontroll nem mutat pozitív megfestést, a vizsgálati minták eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

Negatív szövetszövetkontroll

A pozitív szövetszövetkontroll után azért kell megvizsgálni, hogy a célantigén az elsődleges antitest segítségével történő címkézésének a specificitását ellenőrizni lehessen.

A javasolt negatív kontrollszövet a májhepatocita.

Illetve, a legtöbb szövetszövetben jelen lévő különböző sejttípusok változatossága gyakran kínál negatív kontrollhelyeket, de ezt a felhasználónak kell ellenőriznie.

A nem specifikus megfestés, ha van ilyen, rendszerint diffúz megjelenésű. Kötőszövet szövetszövet megfestése is megfigyelhető a formalinnal túlzottan fixált szövetekből származó metszeteknél. A megfestési eredmények értelmezése érintetlen sejtek használatánál. Az elhalt vagy degenerálódott sejtek gyakran nem specifikusan festődnek meg.³ Hamis pozitív eredmények jelentkezhetnek a fehérjéknek vagy a szubsztrát reakciótermékeinek a nem immunológiai kötődése miatt. Okozhatják ezt olyan endogén enzimek is, mint a pszeudoperoxidáz (eritrociták), endogén peroxidáz (citokrórn C), illetve endogén biotin (pl. máj, mell, agy, vese), az alkalmazott immunmegfestés típusától függően. Az endogén enzim aktivitásának vagy a specifikus immunreaktivitásból származó enzimek nem specifikus kötődésének a megkülönböztetésére további betegszövetek festhető kizárólag szubsztrát kromogénnel vagy enzimkomplexekkel (avidin-biotin, sztreptavidin, címkézett polimer), illetve szubsztrát kromogénnel. Ha a specifikus megfestésre negatív szövetszövetkontrollnál kerül sor, a betegmintáknál jelentkező eredményeket érvénytelennek kell tekinteni.

Negatív reagensszövetkontroll

Az elsődleges antitest helyett nem specifikus negatív reagensszövetkontrollt alkalmazzon mindegyik betegminta metszeténél, hogy a nem specifikus megfestést kiértékelhesse, és hogy lehetővé váljon a specifikus megfestés jobb értelmezése az antigén helyén.

Betegszövet

Az NCL-L-p57-tel festett betegmintákat utolsóként vizsgálja meg. A pozitív megfestésintenzitást a negatív reagensszövetkontroll bármely nem specifikus háttérmegfestésének a kontextusában kell kiértékelni. Ugyanúgy, mint bármely immunhisztokémiai vizsgálatnál, a negatív eredmény azt jelenti, hogy az antigén nem volt kimutatható, nem pedig azt, hogy az antigén nem volt jelen a vizsgált sejtekben/ szövetben. Ha szükséges, a hamis negatív reakciók azonosítására használjon antitestpanelt.

Várható eredmények

Normális szövetek

A 25B2 klón érzékelte a p57 fehérjét a Hofbauer-sejtek sejtmagjában, a placenta trophoblastjaiban és a deciduájában, a köldökzsinór Wharton-kocsonyájának fibroblast sejtjeiben, a mellékvesekéreg sejtjeiben a zona glomerulosaiban, a vese glomerularis endothelialis sejtjeiben, valamint az ondóvezeték és az endometrialis stroma belsejében lévő egyes sejtekben. A citoplazma és a sejtmag megfestése látható volt az acinosus sejtekben a hasnyálmirigyben és az epitheliumban az ileumban, a vakkéliben, az epehólyagban és a méhnyakban. A citoplazma megfestése látható volt a ductalis epitheliumban a fültömrigyben, a makrofogokban és a tüdő egyes pneumocitáiban; gyenge megfestés volt megfigyelhető a mellben, a vesetubulusokban, valamint a epitheliumban és a chondrocytáiban a bronchusban. Megfigyelték emellett a megfestést a gastrointestinalis traktus idegszálaiban és ganglionjaiban, valamint az agykéreg, a bazális ganglionok, a hippocampus és a kisagy granuláris rétegének neuronfolymataiban és axonjaiban. (Normális értékelt esetek összesített száma = 44.)

Abnormális szövetek

A 25B2 klón a sejtmag megfestését mutatta 28/31 hydropticus abortus, 20/20 egyszerű abortus, 32/34 részleges mola hydatidosa és 5/33 teljes mola hydatidosa esetében. (Sharifi, et al 2009, Maggiori & Peres 2007). Megfestést figyeltek ezenkívül meg 3/4 pajzsmirigy papillaris carcinoma, 1/2 lágyszövetumor (1/1 ganglioneuroma és 0/1 fibromatosis), 1/2 agytumor (1/1 anaplasticus astrocytoma és 0/1 plexus choroideus papilloma), 2/2 ismeretlen eredetű metastaticus tumor és 2/2 vesesejtes carcinoma esetén. A citoplazma megfestését figyeltek meg 1/2 beszűrődött mell ductalis carcinoma, 1/2 gyomor-adenocarcinoma esetében, és gyenge megfestést figyeltek meg 1/1 cholangiocarcinoma esetében. A citoplazma focalis megfestését figyeltek meg 2/2 pikkelysejtes nyelőcső-carcinoma, 1/1 pikkelysejtes gégecarcinoma, 2/2 pikkelysejtes nyelvcarcinoma és 1/2 pikkelysejtes méhnyakcarcinoma esetében. A sejtmag és/vagy a citoplazma gyenge megfestését figyeltek meg 2/4 tüdőtumor (1/1 nem kis sejtes carcinoma, 0/1 adenocarcinoma, 1/1 pikkelysejtes carcinoma és 0/1 nagy sejtes carcinoma), 1/1 mucinosus petefészek-cystadenocarcinoma és 1/2 vastagbél-adenocarcinoma esetében. A sejtmag gyenge megfestését figyeltek meg 1/1 atipusos csecsemőmirigy-carcinoid és 1/2 hepatocites carcinoma esetében. Nem figyeltek meg megfestést hereseiminoma (0/2), végbél-adenocarcinoma (0/2), metastaticus májcarcinoma, rosszindulatú petefészek csírasejtumor, serosus petefészek-cystadenocarcinoma, világos sejtes petefészek-carcinoma, dermatofibrosarcoma és pikkelysejtes bőrcarcinoma esetén. (Az értékelt abnormális esetek száma = 162.)

Az NCL-L-p57 (25B2) a p57 fehérje értékelésére ajánlott normális és neoplasziás szövetekben, a nem immunológiai hisztokémiai festést használó hagyományos hisztopatológia kiegészítéseként.

Általános korlátozások

Az immunhisztokémia egy többlépcsős diagnosztikai eljárás, amely a következőkből áll: szakképzés a megfelelő reagensek kiválasztása terén; szövétválasztás, -fixálás és feldolgozás; az IHC-tárgylemez előkészítése; és a megfestési eredmények értelmezése.

A szövétmegfestés függ a szövet kezelésétől és feldolgozásától a megfestés előtt. A nem megfelelő fixálás, fagyasztás, olvasztás, mosás, szárítás, melegítés, metszetkészítés vagy a más szövetekkel, illetve folyadékokkal történő szennyezés műtermékeket, az antitestek befogását, illetve hamis negatív eredményeket produkálhat. A következtelen eredmények a fixálási vagy beágyazási módszerek tekintetében jelentkező eltéréseknek, illetve a szöveten belül jelentkező eredendő rendellenességeknek tudhatók be.⁴

A túlzott vagy hiányos kontrasztmegfestés az eredmények megfelelő értelmezését ronthatja.

Minden megfestésnek vagy a megfestés bármely hiányának a klinikai értelmezését a megfelelő kontrollokat alkalmazó morfológiai vizsgálatokkal kell kiegészíteni, és a beteg klinikai kórelőzménye, valamint az egyéb, képzett patológus által végzett diagnosztikai vizsgálatok kontextusában kell kiértékelni.

A Leica Biosystems Newcastle Ltd-től származó antitestek, a jelzettek szerint – specifikus fixálási követelmények mellett – a fagyasztott vagy paraffinba ágyazott metszeteken történő felhasználásra szolgálnak. Váratlan antigén-kifejeződés is előfordulhat, különösen neoplazmák esetében. Bármely festett szövétmetszet klinikai értelmezésének ki kell terjednie a morfológiai elemzésre és a megfelelő kontrollok értékelésére is.

Bibliográfia - általános

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavi M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Kanthan R, Fried I, Rueckl T, et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma. World Journal of Surgical Oncology 2010; 8:10.
6. Sharifi N, Sadeghian MH, Ayatollahi H, et al. Validity of P57kip2 immunohistochemical marker in differential diagnosis of molar pregnancy. Journal of the Turkish-German Gynecological Association 2009;10:39-42.
7. Maggiori MS and Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome in situ hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology 2007; 135: 170-176.

Előző kiadás módosításai

Frissítés CE-formátumra.

Kiadás időpontja

16 június 2017

Novocastra™ Anticorp monoclonal lichid de șoarece Proteina p57 (Kip2)

Cod produs: NCL-L-p57

Domeniu de utilizare

Pentru diagnosticare in vitro.

NCL-L-p57 este destinat identificării calitative, prin intermediul microscopiei optice, a proteinei p57 umane, cunoscută și drept proteina Kip2, în secțiunile de parafină. Interpretarea clinică a oricărei colorații sau a absenței acesteia trebuie verificată prin studii morfologice utilizând proceduri de control adecvate și trebuie evaluată în contextul antecedentelor clinice ale pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de un patolog calificat.

Principiul de procedură

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

Clonă

25B2

Imunogen

Antigen procariot recombinant, corespunzând unei regiuni cu 116 aminoacizi a terminalului N al proteinei p57.

Specificitate

Proteina p57 umană, cunoscută și drept proteina Kip2.

Compoziția reactivului

NCL-L-p57 este un supernatant de cultură tisulară lichid care conține azidă de sodiu drept conservant.

Clasa Ig

IgG1

Concentrație proteină totală

Total Protein

Consultați eticheta flaconului pentru concentrația proteinelor totale specifică lotului.

Concentrație anticorpi

Mai mare sau egală cu 19 mg/l, așa cum este determinată prin ELISA. Consultați eticheta flaconului pentru concentrația Ig specifică lotului.

Recomandări privind utilizarea

Imunohistochimie pe secțiuni de parafină.

Recuperarea epitopului indusă de căldură (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Urmați instrucțiunile de utilizare din Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Diluție sugerată: 1:50 timp de 30 minute la 25 °C. Aceste informații sunt furnizate cu rol de îndrumare, iar utilizatorii trebuie să-și stabilească singuri propriile diluții de lucru optime.

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

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

Depozitare și stabilitate

Depozitați la 2–8 °C. Nu congelați. Returnați la 2–8 °C imediat după utilizare. A nu se utiliza după data de expirare indicată pe eticheta flaconului. Alte condiții de depozitare decât cele specificate mai sus trebuie verificate de către utilizator.

Pregătirea probei

Mediul de fixare recomandat este de formalină tamponată neutru 10% pentru secțiunile de țesut încorporate în parafină.

Avertismente și precauții

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

Acest reactiv conține azidă de sodiu. Fișa cu informații de siguranță despre material este disponibilă la cerere sau poate fi obținută de pe site-ul www.LeicaBiosystems.com.

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

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

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

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

Controlul calității

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

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

Țesutul de control pozitiv

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

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

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

Țesutul de control pozitiv recomandat este placenta.

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

Țesutul de control negativ

Trebuie examinat după țesutul de control pozitiv pentru a verifica specificitatea informațiilor de etichetare ale antigenului țintă în funcție de anticorpii primari.

Țesutul de control negativ recomandat este reprezentat de hepatocitele ficatului.

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

Colorația nespecifică, dacă este prezentă, are de obicei un aspect difuz. Colorația sporadică a țesutului conjunctiv poate fi observată, de asemenea, în secțiuni de țesuturi fixate în mod excesiv în formalină. Folosiți celule intacte pentru interpretarea rezultatelor de colorație.

Celulele necrotice sau degenerate se colorează deseori într-un mod nespecific.³ Se pot observa rezultate fals pozitive ca urmare a legării non-immunologice a proteinelor sau produșilor de reacție ai substratului. Acestea pot fi cauzate, de asemenea, de enzimele endogene precum pseudoperoxidaza (eritrocite), peroxidaza endogenă (citocromul C) sau biotina endogenă (de exemplu, ficat, sân, creier, rinichi), în funcție de tipul de imunocolorație folosit. Pentru a diferenția activitatea enzimelor endogene sau legarea nespecifică a enzimelor de imunoreactivitatea specifică, pot fi colorate țesuturi suplimentare de la pacient numai cu substrat-cromogen sau, respectiv, complexe enzimatic (avidină-biotină, streptavidină, polimer etichetat) și substrat-cromogen. În cazul în care colorația specifică are loc în țesutul de control negativ, rezultatele obținute pe probele pacientului trebuie să fie considerate nevalide.

Reactivul de control negativ

Folosiți un reactiv de control negativ nespecific în locul anticorpului primar cu o parte din fiecare probă a pacientului pentru a evalua colorația nespecifică și a permite o mai bună interpretare a colorației specifice la locul antigenului.

Țesutul pacientului

Examinați probele pacientului colorate cu NCL-L-p57 ultimele. Intensitatea colorației pozitive trebuie evaluată în contextul oricărei

colorații de fond nespecifice a reactivului de control negativ. La fel ca în cazul oricărui test imunohistochimic, un rezultat negativ înseamnă că antigenul nu a fost detectat, și nu că antigenul a fost absent în celulele/țesuturile analizate. Dacă este necesar, folosiți un set de anticorpi pentru identificarea reacțiilor fals negative.

Rezultate așteptate

Tesuturi normale

Clona 25B2 a detectat proteina p57 în nucleul celulelor Hofbauer, trofoblaste și membrana deciduală a placentei, celulele fibroblastice ale gelatinei Wharton din cordonul ombilical, celulele corticale ale glandelor suprarenale din zona glomeruloasă, celulele endoteliale glomerulare din rinichi și celulele ocazionale din tuburile seminifere și stroma endometrială. Colorația citoplasmică și nucleară a fost detectată în celulele acinare din pancreas și epitelul din ileon, cecum, vezica biliară și cervix. Colorația citoplasmică a fost detectată în epitelul ductal al glandei parotide, macrofage și pneumocitele ocazionale din plămâni, cu colorație slabă în celulele epiteliale ductale din sâni, tuburile renale și epitelii și condrocitele din bronhii. De asemenea s-a detectat colorație în fibrele nervoase și ganglionii tractului gastrointestinal și în procesele neuronale și axonii cortexului cerebral, în ganglionii bazali, hipocampus și stratul granular al cerebelului. (Numărul cazurilor normale evaluate = 44).

Tesuturi anormale

Clona 25B2 a prezentat colorație nucleară în 28/31 hipoplazii hidropice, 20/20 hipoplazii simple, 32/34 corioadoame parțiale și 5/33 corioadoame totale. (Sharifi, et al 2009, Maggiori & Peres 2007). De asemenea s-a detectat colorație în 3/4 carcinoame papilare ale glandei tiroide, 1/2 tumori ale țesuturilor moi (inclusiv 1/1 ganglioneuroame și 0/1 fibromatoze), 1/2 tumori cerebrale (inclusiv 1/1 astrocitoame atipice și 0/1 papiloame de plex coroid), 2/2 tumori metastatice de origine necunoscută și 2/2 carcinoame ale celulelor renale. Colorația citoplasmică a fost detectată în 1/2 carcinoame ductale ale sânilui cu infiltrare, 1/2 adenocarcinoame gastrice, cu colorație slabă în 1/1 colangiocarcinom. Colorația citoplasmică focală a fost detectată în 2/2 carcinoame cu celule scuamoase ale esofagului, 1/1 carcinoame cu celule scuamoase ale laringelui, 2/2 carcinoame cu celule scuamoase ale limbii și 1/2 carcinoame cu celule scuamoase ale cervixului. Colorația slabă nucleară și/sau citoplasmică a fost detectată în 2/4 tumori pulmonare (inclusiv 1/1 carcinoame nemicrociculare, 0/1 adenocarcinoame, 1/1 carcinoame cu celule scuamoase și 0/1 carcinoame cu celule mari), 1/1 chistadenocarcinoame mucipare ale ovarelor și 1/2 adenocarcinoame ale colonului. Colorația slabă nucleară a fost detectată în 1/1 carcinoid atipic al timusului și 1/2 carcinoame hepatocelulare. Nu s-a detectat nicio colorație în cazul seminomelor testiculare (0/2), adenocarcinomelor rectului (0/2), unui carcinom metastatic al ficatului, unei tumori ovariene maligne cu celule germinale, unui chistadenocarcinom ovarian seros, unui carcinom ovarian clarocelular, unui dermatofibrosarcom și unui carcinom cu celule scuamoase al pielii. (Numărul cazurilor anormale evaluate = 162).

NCL-L-p57 (25B2) este recomandat pentru detectarea proteinei p57 în tesuturile normale și neoplazice, ca adjuvant al histopatologiei convenționale care utilizează coloranți histochemici non-imunologici.

Limitări generale

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

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

Contracolorația excesivă sau incompletă poate compromite interpretarea adecvată a rezultatelor.

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

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

Bibliografie - General

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rike F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Kanthan R, Fried I, Rueckl T, et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma. World Journal of Surgical Oncology 2010; 8:10.
6. Sharifi N, Sadeghian MH, Ayatollahi H, et al. Validity of P57kip2 immunohistochemical marker in differential diagnosis of molar pregnancy. Journal of the Turkish-German Gynecological Association 2009; 10:39-42.
7. Maggiori MS and Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome in situ hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology 2007; 135: 170-176.

Amendamente la ediția anterioară

Actualizare la formatul CE.

Data publicării

16 iunie 2017

Жидкая форма мышинных моноклональных антител Novocastra™ Белок p57 (Kip2)

Код продукта: NCL-L-p57

Назначение

Для диагностики *in vitro*

Препарат NCL-L-p57 предназначен для качественной идентификации белка p57 человека, известного также как белок Kip2, в парафиновых срезах методом световой микроскопии. Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями с надлежащими контролями и должна быть оценена квалифицированным патологом с учетом анамнеза пациента и других диагностических тестов.

Принцип процедуры

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

Клон

25B2

Иммуноген

Прокариотный рекомбинантный белок, соответствующий региону 116 аминокислот N-конца белка p57.

Специфичность

Белок p57 человека, известный также как белок Kip2.

Состав реактива

NCL-L-p57 является супернатантом жидкой культуры тканей, содержащим азид натрия в качестве консерванта.

Класс иммуноглобулинов

IgG1

Общая концентрация белка Total Protein

Общая концентрация белка в каждой партии указана на этикетке флакона.

Концентрация антитела

Не менее 19 мкг/мл при измерении методом ИФА. Общая концентрация иммуноглобулина в каждой партии указана на этикетке флакона.

Рекомендации по применению

Иммуногистохимическое окрашивание парафиновых срезов.

Высокотемпературная демаскировка антигена (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): выполняйте инструкцию по применению, прилагаемую к препарату Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Рекомендуемое разведение: 1:50 в течение 30 минут при 25 °С. Эти указания следует считать ориентировочными, и пользователи должны определить свои собственные параметры оптимального рабочего разведения.

Визуализация: выполняйте инструкцию по применению, прилагаемую к Novolink™ Polymer Detection Systems. За дополнительной информацией об этом продукте и поддержке обращайтесь к своему местному дистрибьютору или региональному офису компании Leica Biosystems, либо посетите веб-сайт компании Leica Biosystems: www.LeicaBiosystems.com.

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

Хранение и стабильность

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

Подготовка образцов

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

Предупреждения и меры предосторожности

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

Этот реактив содержит азид натрия. Паспорт безопасности вещества (Material Safety Data Sheet) можно получить по запросу или загрузить с www.LeicaBiosystems.com.

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

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

Сводите к минимуму микробное загрязнение реактивов во избежание усиления неспецифического окрашивания. Инкубация при сроках и температурах, отличных от указанных в инструкции, может дать ошибочные результаты. Любые подобные изменения должны быть валидированы пользователем.

Контроль качества

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

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

Положительный контроль ткани

Применяется для проверки правильности подготовки тканей и методов окрашивания.

В каждый набор условий теста при каждом цикле окрашивания следует включать один положительный контроль ткани. Для оптимального контроля и обнаружения небольшой степени снижения качества реактива более подходит ткань со слабым положительным окрашиванием, чем ткань с сильным положительным окрашиванием.²

В качестве положительного контроля рекомендуется ткань плаценты.

При отсутствии положительного окрашивания положительного контроля ткани результаты, полученные с исследуемыми образцами, считаются недействительными.

Отрицательный контроль ткани

Этот тест необходимо выполнять после положительного контроля ткани для проверки специфичности мечения целевого антигена первичным антителом.

В качестве отрицательного контроля рекомендуются гепатоциты.

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

Неспецифическое окрашивание, если оно присутствует, обычно выглядит диффузным. В срезах тканей, избыточно фиксированных формалином, можно также иногда увидеть окрашивание соединительной ткани. Для интерпретации результатов окрашивания используйте интактные клетки. Некротизированные или разрушенные клетки часто окрашиваются неспецифически.³ Неиммунное связывание белков или продуктов реакции с субстратом может привести к ложноположительным результатам. Такие же результаты могут быть связаны с эндогенными ферментами, например псевдопероксидазой (в эритроцитах), эндогенной пероксидазой (цитохром С) или эндогенным биотином (например, в печени, молочной железе, головном мозге или почке) в зависимости от типа использованного иммунного окрашивания. Чтобы отличить активность эндогенных ферментов или неспецифическое связывание ферментов от специфической иммунореактивности, можно выполнить окрашивание дополнительных тканей пациента исключительно хромогенным субстратом или ферментными комплексами (авидин-биотин, стрептавидин, меченый полимер) и хромогенным субстратом соответственно. При наличии специфического окрашивания в отрицательном контроле ткани результаты исследования полученных у пациентов образцов считаются недействительными.

Отрицательный контроль реактива

Используйте неспецифический отрицательный контроль реактива вместо первичного антитела на срезе каждого полученного у пациента образца с целью оценки неспецифического окрашивания и лучшей интерпретации специфического окрашивания в месте расположения антигена.

Ткань, полученная у пациента

Исследуйте полученные у пациентов образцы, окрашенные NCL-L-p57, в последнюю очередь. Интенсивность положительного окрашивания следует оценивать с учетом любого неспецифического фонового окрашивания отрицательного контроля реактива. Как и при любом иммуногистохимическом исследовании, отрицательный результат означает необнаружение антигена, но не его отсутствие в исследованных клетках или ткани. При необходимости следует использовать панель антител для выявления ложноотрицательных реакций.

Ожидаемые результаты

Нормальные ткани

Клон 25B2 обнаруживал белок p57 в ядрах клеток Хофбауэра, трофобластах и децидуальной ткани плаценты, фибробластах вартонова студня пулочного канатика, клетках клубочковой зоны коры надпочечников, эндотелиальных клетках почечных клубочков, а также отдельных клетках семенных канальцев и стромы эндометрия. Окрашивание цитоплазмы и ядер обнаружено в ацинарных клетках поджелудочной железы и эпителии подвздошной кишки, слепой кишки, желчного пузыря и шейки матки. Окрашивание цитоплазмы обнаружено в эпителии протоков околоушной железы, макрофагах и отдельных пневмоцитах легких; слабое окрашивание обнаружено в эпителиальных клетках протоков молочных желез, почечных канальцев, а также в эпителии и хондрокитах бронхов. Также обнаружено окрашивание нервных волокон и ганглиев желудочно-кишечного тракта, а также отростков и аксонах нейронов коры головного мозга, базальных ганглиев, гиппокампа и зернистого слоя мозжечка. (Число исследованных нормальных тканей = 44).

Патологически измененные ткани

Клон 25B2 окрашивал ядра в 28 из 31 препарата гидрочесического аборта, 20 из 20 препаратов простого аборта, 32 из 34 препаратов частичного пузырного заноса и 5 из 33 препаратов полного пузырного заноса. (Sharifi, et al 2009, Maggiori & Peres 2007). Обнаружено также окрашивание в 3 из 4 папиллярных карцином щитовидной железы, 1 из 2 опухолей мягких тканей (в том числе 1 из 1 ганглионевроме и 0 из 1 препарата фиброматоза), 1 из 2 опухолей головного мозга (включая 1 из 1 анапластическую астроцитому и 0 из 1 папиллом сосудистого сплетения), 2 из 2 метастатических опухолей неясного происхождения, 2 из 2 почечноклеточных карцином. Обнаружено окрашивание цитоплазмы в 1 из 2 инфильтрирующих протоковых карцином молочной железы, 1 из 2 аденокарцином желудка, а также слабое окрашивание в 1 из 1 холангиокарциноме. Локальное окрашивание цитоплазмы обнаружено в 2 из 2 плоскоклеточных карцином пищевода, 1 из 1 плоскоклеточной карциноме гортани, 2 из 2 плоскоклеточных карцином языка и 1 из 2 плоскоклеточных карцином шейки матки. Слабое окрашивание ядер и (или) цитоплазмы обнаружено в 2 из 4 опухолей легкого (в том числе 1 из 1 немелкоклеточном раке, 0 из 1 аденокарциноме, 1 из 1 плоскоклеточном раке и 0 из 1 крупноклеточном раке), 1 из 1 слизистой цистаденокарциноме яичника и 1 из 2 аденокарцином толстой кишки. Слабое окрашивание ядер обнаружено в 1 из 1 препарате атипичного карциноида вилочковой железы и 1 из 2 гепатоцеллюлярных карцином. Не обнаружено окрашивания в семиноме тестикул (0 из 2), аденокарциноме прямой кишки (0 из 2), метастатической карциноме печени, злокачественной эмбриональноклеточной опухоли яичника, серозной цистаденокарциноме яичника, светлоклеточной карциноме яичника, дерматофибросаркоме и плоскоклеточном раке кожи. (Число исследованных патологически измененных тканей = 162).

NCL-L-p57 (25B2) рекомендуется для определения белка p57 в нормальных и опухолевых тканях в качестве дополнения к обычным гистопатологическим исследованиям с неиммунным гистохимическим окрашиванием.

Общие ограничения

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

Окрашивание тканей зависит от обращения с тканями и их обработкой перед окрашиванием. Неправильные процедуры фиксации, замораживания, оттаивания, промывки, сушки, нагрева, приготовления срезов, а также загрязнение другими тканями или жидкостями могут приводить к артефактам, захвату антител или ложноотрицательным результатам.

Непостоянство результатов может быть связано с различиями методов фиксации и заливки или с присущей тканям внутренней неравномерностью структуры.⁴

Избыточное или неполное контрастное окрашивание может привести к неправильной интерпретации результатов.

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

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

Литература — общая

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadjji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Kanthan R, Fried I, Rueckl T, et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma. World Journal of Surgical Oncology 2010; 8:10.
6. Sharifi N, Sadeghian MH, Ayatollahi H, et al. Validity of P57kip2 immunohistochemical marker in differential diagnosis of molar pregnancy. Journal of the Turkish-German Gynecological Association 2009; 10:39-42.
7. Maggiori MS and Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome in situ hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology 2007; 135: 170-176.

Дополнения к предыдущему выпуску

Обновление до формата CE.

Дата выпуска

16 Июнь 2017

Płynne mysie przeciwciało monoklonalne Novocastra™

Białko p57 (Kip2)

Kod produktu: NCL-L-p57

Przeznaczenie

Do diagnostyki *in vitro*.

Test NCL-L-p57 jest przeznaczony do badań laboratoryjnych, w celu identyfikacji jakościowej w mikroskopie optycznym ludzkiego białka p57 (białka Kip2) w skrawkach zatopionych w parafinie. Klinczną interpretację wybarwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Ocenę powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii klinicznej pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

Procedura badania

Metody wybarwienia immunohistochemicznego (IHC) umożliwiając wizualizację antygenów za pomocą kolejnych zastosowań swoistego przeciwciała przeciwko antygenowi (pierwsze przeciwciało), drugiego przeciwciała do pierwszego przeciwciała i kompleksu enzymu z substratem chromogennym z etapami przymywania. Aktywacja enzymatyczna dodanego chromogenu powoduje utworzenie widocznego produktu reakcji w miejscu antygeny. Następnie można wykonać barwienie negatywne próbki badanej i zakryć ją szkiełkiem przykrywkowym. Wyniki są interpretowane przy użyciu mikroskopu optycznego i są pomocne w diagnostyce różnicowej procesów patofizjologicznych, które mogą mieć związek lub mogą nie mieć związku z określonym antygenem.

Klon

25B2

Immunogen

Prokariotyczny antygen rekombinowany odpowiadający regionowi 116 aminokwasu N-końcowego białka p57.

Swoistość

Ludzkie białko p57 zwane również białkiem Kip2.

Skład odczynnika

NCL-L-p57 jest płynnym supernatantem hodowli tkankowej zawierającym azydek sodu jako substancję konserwującą.

Klasa Ig

IgG1

Całkowite stężenia białka

Total Protein

Całkowite stężenie białka w danej serii podano na etykiecie fiołki.

Stężenie przeciwciał

Większe lub równe 19 mg/l oznaczone za pomocą testu ELISA. Stężenie białka w danej serii podano na etykiecie fiołki.

Zalecenia dotyczące stosowania

Badanie immunohistochemiczne na skrawkach zatopionych w parafinie.

Stosowanie podwyższonej temperatury do odzyskiwania epitopu (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Należy postępować zgodnie z instrukcją stosowania załączoną do roztworu Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Sugerowane rozcieńczenie: 1:50 przez 30 minut w temperaturze 25 °C. Są to jedynie wskazówki i użytkownicy powinni sami określić swoje optymalne rozcieńczenie robocze.

Wizualizacja: Należy postępować zgodnie z instrukcją stosowania podaną w produktach Novolink™ Polymer Detection Systems.

W sprawie dodatkowych informacji o produkcie lub w celu uzyskania pomocy należy kontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub z regionalnym biurem firmy Leica Biosystems lub odwiedzić stronę firmy Leica Biosystems www.LeicaBiosystems.com.

Działanie tego przeciwciała należy zwalidować podczas używania z innymi ręcznymi metodami barwienia lub platformami automatycznymi.

Przechowywanie i trwałość

Przechowywać w temperaturze 2 °C–8 °C. Nie zamrażać. Po użyciu natychmiast przenieść do temperatury 2 °C–8 °C. Nie używać po upływie daty ważności wskazanej na etykiecie. Użytkownik musi sprawdzić warunki przechowywania inne niż wskazane powyżej.

Przygotowanie preparatów

Zalecanym utwalaczem jest 10% obojętna zbuforowana formalina przeznaczona dla skrawków tkankowych zatopionych w parafinie.

Ostrzeżenia i środki ostrożności

Ten odczynnik został przygotowany dla supernatantu hodowli tkankowej. Ponieważ jest to produkt biologiczny, podczas postępowania z nim należy zachować odpowiednią ostrożność.

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

W sprawie utylizacji jakichkolwiek potencjalnie toksycznych składników należy zapoznać się z krajowymi lub miejscowymi przepisami.

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

Należy ograniczyć skażenie odczynników drobnoustrojami, ponieważ w przeciwnym razie może dojść do nasilenia barwienia nieswoistego.

Zastosowanie czasów inkubacji i temperatur innych niż podano w instrukcji może spowodować błędne wyniki. Każda taka zmiana musi zostać zwalidowana przez użytkownika.

Kontrola jakości

Różnice w obróbce tkanek i procedurach technicznych w laboratorium użytkownika mogą spowodować istotną zmienność wyników, wymagającą oprócz następujących procedur prowadzenia regularnych kontroli wewnętrznych.

Kontrole powinny być próbkami ze świeżej autopsji/biopsji/operacji chirurgicznej utwalonymi, przygotowanymi i zatopionymi w parafinie najszybciej, jak to możliwe w taki sam sposób, jak badana próbka(i) pacjenta.

Dodatnia kontrola tkankowa

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

Jedna dodatnia kontrola tkankowa powinna być uwzględniona w każdym zestawie warunków testu w każdej serii barwienia.

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

Zalecaną dodatnią kontrolą tkankową jest łożysko.

Jeśli tkanka kontroli dodatniej nie wykaże odpowiedniego dodatniego wybarwienia, wyniki testu przeprowadzonego na próbkach pacjenta należy uważać za nieważne.

Ujemna kontrola tkankowa

Należy ją badać po tkance kontroli dodatniej, aby sprawdzić swoistość znakowania docelowego antygeny przez pierwsze przeciwciało. Zalecaną ujemną kontrolą tkankową są hepatocyty wątroby.

Alternatywnie różnorodność różnych typów komórek obecnych w większości skrawków tkankowych oferuje miejsca kontroli ujemnej, jednak powinno to zostać zweryfikowane przez użytkownika.

Wybarwienie nieswoiste, jeżeli jest obecne, zwykle ma charakter rozproszony. Na skrawkach wykonanych z materiału tkankowego nadmiernie utwalonego w formalinie może być widoczne również sporadyczne wybarwienie tkanki łącznej. Do interpretacji wyników barwienia należy używać nieszkodzonych komórek. Komórki martwicze lub zdegenerowane często powodują nieswoiste barwienie.³ Wyniki fałszywie dodatnie mogą pojawić się w następstwie nieimmunologicznego wiązania białek lub produktów reakcji substratów. Mogą być również spowodowane przez endogenne enzymy, takie jak pseudoperoxydaza (erythrocyty), endogenna peroksydaza (cytochrom C) lub endogenna biotyna (np. wątroba, piersi, mózg, nerki), w zależności od zastosowanego barwnika immunohistochemicznego. Aby odróżnić endogenną aktywność enzymatyczną lub niespecyficzne wiązanie enzymów od swoistej immunoreaktywności, dodatkowe tkanki pacjenta mogą być barwione wyłącznie substratem chromogenem lub kompleksem enzymatycznym (awidyna-biotyna, streptawidyna, znakowany polimer) i substratem-chromogenem. Jeżeli pojawi się swoiste wybarwienie tkanki kontroli ujemnej, wyniki uzyskane dla próbek pacjenta należy uznać za nieważne.

Ujemna kontrola odczynnika

Zastosować nieswoisty odczynnik kontroli ujemnej w miejsce pierwszego przeciwciała wraz ze skrawkiem każdej próbki pacjenta dla oceny nieswoistego barwienia oraz uwzględnić lepszą interpretację swoistego barwienia w miejscu antygeny.

Tkanka pacjenta

Próbki pacjenta wybarwione testem NCL-L-p57 należy badać jako ostatnie. Intensywność wybarwienia dodatniego należy oceniać w kontekście ewentualnego nieswoistego wybarwienia tła odczynnika kontroli ujemnej. Tak jak we wszystkich innych badaniach immunohistochemicznych wynik ujemny oznacza, że antygen nie wykryto, co nie znaczy, że antygen nie jest obecny w badanych komórkach/tkankach. W razie konieczności wykorzystaj panel przeciwciał do identyfikacji fałszywie ujemnych reakcji.

Oczekiwane wyniki

Tkanki prawidłowe

Klon 25B2 wykrywał białko p57 w jądrze komórek Hofbauera, trofoblastów i błonie doczesnej łożyska, komórkach fibroblastycznych gałaretki Whartona w pepowinie, komórkach kory nadnercza w strefie kłębkowatej, kłębuszkowych komórkach śródłonka w nerkach i w sporadycznych komórkach wewnątrz kanalików nasiennych i podścieliska macicy. Wybarwienie cytoplazmatyczne i w jądrach obserwowano w komórkach groniastych w trzustce i w nabłonku jelita krętego, ślepego, pęcherzyka żółciowego oraz szyjki macicy. Wybarwienie cytoplazmatyczne obserwowano w nabłonku przewodów przysadki, w makrofagach i sporadycznie w pneumocytach w płucach, a słabe wybarwienie obserwowano w nabłonkowych komórkach przewodowych w piersiach, kanalikach nerkowych, nabłonku i chondrocytach w oskrzelach. Wybarwienie zauważono w przypadku włókien nerwowych i zwojów przewodu pokarmowego oraz w procesach neuronów i aksonów kory mózgowej, zwojach podstawnych, hipokampie i w ziarnistej warstwie mózdzku. (Liczba ocenionych prawidłowych przypadków = 44).

Tkanki patologiczne

Klon 25B2 wykazywał wybarwienie jądrowe w 28/31 aborcjach w obrzku płodu, 20/20 prostych aborcjach, 32/34 częściowych zaśniadach groniastych i 5/33 całkowitych zaśniadach groniastych. (Sharifi, i wsp. 2009, Maggiori & Peres 2007). Stwierdzono również wybarwienie w przypadku 3/4 brodawkowego raka tarczycy, 1/2 raka tkanek miękkich (w tym 1/1 ganglioneuromy i 0/1 fibromatozy), 1/2 raka mózgu (w tym 1/1 gwiaździstaka anaplastycznego i 0/1 brodawczaka spłotu naczyńiówkowego), 2/2 raka z przerzutami o nieznanym pochodzeniu oraz 2/2 raka komórek nerkowych. Wybarwienie cytoplazmatyczne obserwowano w przypadku 1/2 naciekającego raka przewodowego piersi, 1/2 gruczolakoraka żołądka, a słabe wybarwienie w przypadku 1/1 raka dróg żółciowych. Skupione wybarwienie cytoplazmatyczne obserwowano w przypadku 2/2 raka płaskonabłonkowego przetyku, 1/1 raka płaskonabłonkowego krtani, 2/2 raka płaskonabłonkowego języka i 1/2 raka płaskonabłonkowego szyjki macicy. Niewielkie wybarwienie jądrowe i (lub) cytoplazmatyczne obserwowano w przypadku 2/4 raka płuc (w tym 1/1 raka niedrobnokomórkowego, 0/1 gruczolakoraka, 1/1 raka płaskonabłonkowego i 0/1 raka wielkokomórkowego), 1/1 śluzowego torbielakogruczolakoraka jajnika i 1/2 gruczolakoraka okrężnicy. Słabe wybarwienie jądrowe obserwowano w przypadku 1/1 nietypowego rakowiaka grasicy i 1/2 raka wątrobowokomórkowego. Nie stwierdzono wybarwienia w przypadku nasieniaka jąder (0/2), gruczolakoraka odbytnicy (0/2), raka wątroby z przerzutami, złośliwego raka jajników z komórek rozrodczych, surowiczego torbielakogruczolakoraka jajnika, raka jasnokomórkowego jajnika, włóknakiomiasaka oraz raka płaskonabłonkowego skóry. (Liczba ocenionych nieprawidłowych przypadków = 162).

Test NCL-L-p57 (25B2) jest zalecany do oceniania białka p57 w tkankach zdrowych i nowotworowych, jako uzupełnienie konwencjonalnego badania histopatologicznego opartego na nieimmunologicznym barwieniu histologicznym.

Ograniczenia ogólne

Badanie immunohistochemiczne polega na wieloetapowym procesie diagnostycznym, który wymaga specjalistycznego szkolenia w zakresie doboru odpowiednich odczynników, doborze tkanek, utwalaniu oraz przygotowaniu; przygotowaniu szkiełek immunohistochemicznych oraz interpretacji wyników wybarwienia.

Wybarwienie tkanek zależy od postępowania i przygotowania tkanki przed barwieniem. Nieprawidłowe utwalenie, zamrażanie, rozmrażanie, przemywanie, suszenie, podgrzewanie, dzielenie na skrawki lub skażenie innymi tkankami lub płynami może powodować artefakty, zatrzymywanie przeciwciał lub fałszywie ujemne wyniki. niespójne wyniki mogą wynikać z różnic w metodach utwalania i zatapiania lub z powodów nieprawidłowości samej tkanki.⁴

Nadmierne lub niepełne barwienie ujemne może pogarszać interpretację wyników.

Kliniczną interpretację wybarwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Oceny powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii klinicznej pacjenta oraz innych badań diagnostycznych. Przeciwciała firmy Leica Biosystems Newcastle Ltd są przeznaczone do stosowania zgodnie z przeznaczeniem na skrawkach zamrożonych lub na skrawkach zatopionych w parafinie i po spełnieniu określonych wymagań utwalania. Może wystąpić nieoczekiwana ekspresja antygenu, szczególnie w przypadku raków. Interpretacja kliniczna wybarwionych skrawków musi obejmować analizę morfologiczną oraz ocenę odpowiednich kontroli.

Piśmiennictwo - ogólne.

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Ritke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadj M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Kanthan R, Fried I, Rueckl T, et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma. World Journal of Surgical Oncology 2010; 8:10.
6. Sharifi N, Sadeghian MH, Ayatollahi H, et al. Validity of P57kip2 immunohistochemical marker in differential diagnosis of molar pregnancy. Journal of the Turkish-German Gynecological Association 2009;10:39-42.
7. Maggiori MS and Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome in situ hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology 2007; 135: 170-176.

Poprawki do poprzedniego wydania

Aktualizacja do formatu CE.

Data wydania

16 czerwca 2017

Tekočinsko monoklonsko protitelo Novocastra™ iz miši

Protein p57 (Kip2)

Koda izdelka: NCL-L-p57

Predvidena uporaba

Za *diagnostično uporabo in vitro*.

Izdelek NCL-L-p57 je namenjen za kvalitativno identifikacijo humanega proteina p57, znan tudi kot protein Kip2, v parafinskih rezinah s pomočjo svetlobne mikroskopije. Klinično razlago obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopolnjevati morfološke študije ustreznih kontrolnih vzorcev, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

Osnove postopka

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

Klon

25B2

Imunogen

Prokariotični rekombinantni antigen, ki ustreza območju aminokislinske 116 na N-terminalnem delu proteina p57.

Specifičnost

Humani protein p57, znan tudi kot protein Kip2.

Sestava reagenta

NCL-L-p57 je tekočinski supernatant kulture tkiva in vsebuje natrijev azid kot konzervans.

Klasa imunoglobulina

IgG1

Skupna koncentracija proteina Total Protein

Glejte etiketo na foli za skupno koncentracijo proteina določene serije.

Koncentracija protitelesa

Višja ali enaka 19 mg/l, kot določa test ELISA. Glejte etiketo na foli za koncentracijo imunoglobulina določene serije.

Priporočila za uporabo

Imunohistokemija parafinskih rezin.

Toplotno izzvano razkrivanje epitopov (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Sledite navodilom za uporabo raztopine za razkrivanje epitopov Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Predlagano redčenje: 1:50 za 30 minut pri 25 °C. To je samo vodilo; uporabniki naj poiščejo svoje lastne najbolj učinkovite delovne razredčine.

Vizualizacija: Sledite navodilom za uporabo sistemov za zaznavanje polimerov Novolink™ Polymer Detection Systems. Za več podatkov o izdelku ali podporo se obrnite na svojega lokalnega distributerja ali regionalno pisarno podjetja Leica Biosystems, lahko pa tudi obiščete spletno mesto podjetja Leica Biosystems na www.LeicaBiosystems.com.

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

Shranjevanje in stabilnost

Hranite pri temperaturah 2–8 °C. Ne zamrzujte. Takoj po uporabi vrnite v okolje s temperaturo 2–8 °C. Ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti. Uporabnik naj preveri pogoje shranjevanja, ki se razlikujejo od zgoraj navedenih.

Priprava vzorcev

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

Opozorila in previdnostni ukrepi

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

Ta reagent vsebuje natrijev azid. Če želite varnostni list, nam sporočite; najdete ga lahko tudi na spletnem mestu www.LeicaBiosystems.com. Sledite federativnim, državnim ali lokalnim predpisom za odstranjevanje katerihkoli morebitno strupenih sestavin.

Z vzorci, pred fiksiranjem in po njem, in vsemi materiali, s katerimi so prišli v stik, morate rokovati, kot da bi lahko prenašali okužbe, in pri njihovem odstranjevanju slediti ustreznim previdnostnim ukrepom.¹ Nikoli ne pipetirajte reagentov skozi usta; pazite, da reagenti in vzorci ne pridejo v stik s kožo in sluznicami. Če reagenti ali vzorci pridejo v stik z občutljivimi deli, jih izperite z obilo vode. Poiščite zdravstveni nasvet.

Pazite, da ne pride do mikrobne okužbe reagentov, drugače se lahko pojavi nespecifično obarvanje.

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

Kontrola kakovosti

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

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

Pozitivni kontrolni vzorci tkiva

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

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

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

Za pozitivni kontrolni vzorec tkiva priporočamo tkivo placente.

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

Negativni kontrolni vzorci tkiva

Pregledati jih morate po pregledu pozitivnih kontrolnih vzorcev tkiva, da preverite specifičnost oznake ciljnega antigena glede na primarno protiteleso.

Za negativni kontrolni vzorec tkiva priporočamo tkivo jetrnih hepatocitov.

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

Neopredeljeno obarvanje, če je prisotno, je navadno razpršeno. Opazite lahko tudi posamično obarvanje vezivnega tkiva v rezinah tkiv, kot posledica premočnega fiksiranja s formalinom. Za razlago rezultatov obarvanja uporabite nespremenjene celice. Obarvanje nekrotičnih ali degeneriranih celic je pogosto nespecifično.³ Napačni pozitivni rezultati se lahko pojavijo zaradi ne-imunološke vezave proteinov ali reakcijskih substrat izdelkov. Povzročijo jih lahko tudi endogeni encimi, kot so psevdoperoksidaza (eritrociti), endogena peroksidaza (citokromni C) ali endogeni biotin (npr. jetra, dojke, možgani, ledvice), odvisno od vrste uporabljenega imunskega barvila.

Za razlikovanje med endogensko aktivnostjo encimov ali nespecifično vezavo encimov zaradi specifične imunske reaktivnosti, lahko barvate dodatna tkiva bolnika izključno ali s kromogenim substratom ali encimskimi kompleksi (avidin-biotin, streptavidin, označeni polimer) in kromogenim substratom. Če pride do specifičnega obarvanja negativnih kontrolnih vzorcev tkiva, morate rezultate vzorcev bolnika zavreči kot neveljavne.

Negativni kontrolni reagent

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

Bolnikovo tkivo

Nazadnje preglejte bolnikove vzorce, obarvane z izdelkom NCL-L-p57. Intenzivnost pozitivnega obarvanja ocenite v okviru morebitnega nespecifičnega obarvanja ozadja z negativnim kontrolnim reagentom. Tako kot pri vseh imunohistokemijskih preizkusih negativen rezultat pomeni, da antigen ni bil zaznan, ne pa odsotnosti antigena v preizkušenih celicah/tkivih. Po potrebi uporabite panel protiteles za opredelitev napačnih negativnih reakcij.

Pričakovani rezultati

Normalna tkiva

Klon 25B2 je zaznal protein p57 v jedru Hofbauerjevih celic, trofoblastih in endometriju placente, fibroblastičnih celicah Whartonovega kolagena popkvine, nadledvičnih kortikoidnih celicah v glomerulozni coni, glomerularnih endoteljskih celicah v ledvicah in občasnih celicah v semiferih tubulih in endometrijski stromi. Obarvanje citoplazme in jeder so opazili v acinarnih celicah trebušne slinavke in v povrhnjici spodnjega tankega črevesja, slepega čreva, žolčnika in materničnega vratu. Obarvanje citoplazme so opazili v duktalnem epiteliju parotidne žleze, v makrofagih in obasnih pnevmocitih pljuč ter blago obarvanje v duktalnih epiteljskih celicah dojk, tubulih ledvic in epiteljskih celicah in hondrocih bronhijev. Zabeležili so tudi obarvanje živčnih vlaken in ganglijev prebavil ter nevronalnih procesov in aksonov možganske skorje, bazalnih ganglijev, hipokampus in granularne plasti malih možganov. (Skupno število ocenjenih normalnih primerov = 44).

Anomalna tkiva

Klon 25B2 je pokazal obarvanje celic pri hidropičnih splavih 28/31, enostavnih splavih 20/20, delnih hidatidiformnih molih 32/34 in popolnih hidatidiformnih molih 5/33. (Sharifi, et al 2009, Maggiori & Peres 2007). Obarvanje so opazili tudi v papilarnih karcinomihi ščitnice 3/4, tumorjih mehkih tkiv 1/2 (vključno z ganglionevromom 1/1 in fibromatozo 0/1), možganskih tumorjih 1/2 (vključno z anaplastično astroцитomom 1/1 in papilomom horoidnega pleteža 0/1), metastatskih tumorjih neznanega izvora 2/2 in karcinomihi ledvičnih celic 2/2. Obarvanje citoplazme so opazili v infiltriranih duktalnih karcinomihi dojk 1/2, gastričnih adenokarcinomihi 1/2 ter blago obarvanje v holangiokarcinomihi 1/1. Obarvanje žarišča citoplazme so opazili v ploščatoceličnih karcinomihi požiralnika 2/2, ploščatoceličnih karcinomihi grla 1/1, ploščatoceličnih karcinomihi jezika 2/2 in ploščatoceličnih karcinomihi materničnega vratu 1/2. Blago obarvanje jeder in/ali citoplazme so opazili v pljučnih tumorjih 2/4 (vključno z nedroboceličnim karcinomom 1/1, adenokarcinomom 0/1, ploščatoceličnim karcinomom 1/1 in 0/1 karcinomom velikih celic), želatinoznem cistadenokarcinomom jajčnikov 1/1 in adenokarcinomihi debelega črevesja 1/2. Blago obarvanje jeder so opazili v atipičnem karcinoidu priželjca 1/1 in hepatocelularnih karcinomihi 1/2. Obarvanja niso opazili v testikularnih seminomihi (0/2), adenokarcinomihi danke (0/2), metastatskem karcinomom jeter, malignem tumorju kličnih celic jajčnika, seroznem cistadenokarcinomom jajčnika, svetloceličnem karcinomom jajčnika, dermatofibrosarkomu in ploščatoceličnem karcinomom kože. (Skupno število ocenjenih anomalnih primerov = 162).

Izdelek NCL-L-p57 (25B2) se priporoča za zaznavanje proteina p57 v normalnih in neoplastičnih tkivih kot dodatna analiza konvencionalni histopatologiji z uporabo neimunoloških histokemičnih barvil.

Splošne omejitve

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

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

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

Klinično razlago obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopolnjevati morfološke študije ustreznih kontrolnih vzorcev, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patološki zdravnik.

Protitelesa podjetja Leica Biosystems Newcastle Ltd so namenjena uporabi, kot je navedeno, na zamrznjenih ali parafinsko obdelanih rezinah z določenimi zahtevami za fiksiranje. Lahko pride do nepričakovane reakcije antigena, posebno pri neoplazmah. Pri klinični razlagi obarvane rezine tkiva morate upoštevati morfološko analizo in oceno ustreznih kontrol.

Splošna literatura

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Kanthan R, Fried I, Rueckl T, et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma. World Journal of Surgical Oncology 2010; 8:10.
6. Sharifi N, Sadeghian MH, Ayatollahi H, et al. Validity of P57kip2 immunohistochemical marker in differential diagnosis of molar pregnancy. Journal of the Turkish-German Gynecological Association 2009;10:39-42.
7. Maggiori MS and Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome in situ hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology 2007; 135: 170-176.

Dodatki in spremembe k prejšnji izdaji

Posodobitev CE formata.

Datum izdaje

16 junij 2017

Novocastra™ Tekutá myší monoklonální protilátka

Protein p57 (Kip2)

Kód výrobku: NCL-L-p57

Určené použití

Pro diagnostické použití in vitro.

NCL-L-p57 je určen ke kvalitativnímu stanovení lidského proteinu p57, označovaného také jako protein Kip2, světelnou mikroskopií na parafinových řezech. Klinickou interpretaci jakéhokoli barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfoloogickým vyšetřením s použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

Princip metody

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

Klon

25B2

Imunogen

Prokaryotický rekombinantní antigen odpovídající oblasti se 116 aminokyselinami v blízkosti N-termínu proteinu p57.

Specifita

Lidský protein p57, označovaný také jako protein Kip2.

Složení reagentie

NCL-L-p57 je tekutý supernatant z tkáňové kultury obsahující jako konzervační prostředek azid sodný.

Třída Ig

IgG1

Koncentrace celkového proteinu

Total Protein

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

Koncentrace protilátek

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

Doporučení k použití

Imunohistochemické vyšetření na parafinových řezech.

Teplem indukované odmaskování epitopu (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER): Postupujte podle pokynů k použití k roztoku Novocastra Epitope Retrieval Solution pH 6.

Doporučené ředění: 1:50 po dobu 30 minut při 25 °C. Toto doporučení je uvedeno jako vodítko; uživatelé musí stanovit vlastní optimální pracovní ředění.

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

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

Uchování a stabilita

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

Příprava vzorku

Fixační roztok doporučený pro parafinové tkáňové řezy je 10% formalin pufovaný na neutrální pH.

Varování a bezpečnostní opatření

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

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

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

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

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

Kontrola jakosti

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

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

Positivní tkáňová kontrola

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

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

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

Doporučená pozitivní tkáňová kontrola je placenta.

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

Negativní tkáňová kontrola

Musi být vyšetřena po pozitivní tkáňové kontrole k ověření specificity označení cílového antigenu primární protilátkou.

Doporučená negativní tkáňová kontrola jsou jaterní hepatocyty.

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

Nespecifické barvení, je-li přítomno, má obvykle difúzní vzhled. V řezech ze tkání nadměrně fixovaných formálinem může být také zjištěno sporadické barvení pojivové tkáně. K interpretaci výsledků barvení použijte neporušené buňky. Nekrotické nebo degenerované buňky se často barví nespecificky.³ Falešně pozitivní výsledky mohou být důsledkem neimunologické vazby proteinů nebo produktů reakčního substrátu. Mohou být také způsobeny endogenními enzymy, jako je např. pseudoperoxidáza (erythrocyty), endogenní peroxidáza (cytochrom C) nebo endogenní biotin (např. játra, prs, mozek, ledviny), podle typu použitého imunobarviva. K odlišení aktivity endogenních enzymů či nespecifické vazby enzymů od specifické imunoreaktivity mohou být barveny další tkáně pacienta vylučně chromogenním substrátem, případně enzymovými komplexy (avidin-biotin, streptavidin, značený polymer) a chromogenním substrátem. Pokud dojde v negativní tkáňové kontrole ke specifickému barvení, musí být výsledky vzorků pacienta považovány za neplatné.

Negativní reagenční kontrola

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

Tkáň pacienta

Nakonec vyšetřete vzorky pacienta barvené pomocí NCL-L-p57. Intenzita pozitivního barvení musí být zhodnocena v kontextu se vším nespecifickým barvením pozadí u negativní reagenční kontroly. Jako u každého imunohistochemického vyšetření, negativní výsledek znamená, že antigen nebyl zjištěn, nikoli, že antigen není ve vyšetřovaných buňkách/tkáňích přítomen. V případě potřeby použijte k identifikaci falešně negativních reakcí panel protilátek.

Očekávané výsledky

Normální tkáň

Klon 25B2 detekoval protein p57 v jádru Hofbauerových buněk, v trofoblastech a deciduu placenty, ve fibroblastických buňkách Whartonova rosvolu v pupeční šňůře, v adrenokortikálních buňkách v zona glomerulosa, v glomerulálních endotheliálních buňkách ledviny a v příležitostných buňkách v semenotvorných kanálcích a v endometriální stromě. Cytoplazmatické a jaderné barvení bylo pozorováno u acinálních buněk v pankreatu a epitelu ilea, slepého střeva, žlučníku a děložního hrdla. Cytoplazmatické barvení bylo pozorováno u dukálnímu epitelu průšší žlázy, makrofáziích a příležitostných pneumocytůch v plicích, se slabým barvením v buňkách dukálního epitelu prsu, v ledvinových tubulech a v epitelu a chondrocytech průdušky. Barvení bylo pozorováno také u nervových vláken a ganglií gastrointestinálního traktu a neuronálních procesů a axonů mozkové kůry, bazální ganglie, hipokampu a granulární vrstvy mozečku. (Počet normálních hodnocených případů = 44.)

Abnormální tkáň

Klon 25B2 zobrazil barvení jádra u 28/31 hydropických potratů, 20/20 jednoduchých potratů, 32/34 částečných hydatidiformních mol a 5/33 úplných hydatidiformních mol. (Sharif, et al 2009, Maggiori & Peres 2007.) Barvení bylo pozorováno také u 3/4 papilárních karcinomu štítné žlázy, 1/2 tumorů měkké tkáně (včetně 1/1 ganglioneuromu a 0/1 fibromatózy), 1/2 mozkových tumorů (včetně 1/1 anaplastického astrocytomy a 0/1 papilomu chorioidálního plexu), 2/2 metastatických tumorů neznámého původu a 2/2 karcinomu renálních buněk. Cytoplazmatické barvení bylo pozorováno u 1/2 infiltrujících dukálních karcinomu prsu, 1/2 gastrických adenokarcinomu, se slabým barvením u 1/1 cholangiokarcinomu. Fokální cytoplazmatické barvení bylo pozorováno u 2/2 dlaždicobuněčných karcinomu jícnu, 1/1 dlaždicobuněčného karcinomu hrtnu, 2/2 dlaždicobuněčných karcinomu jazyka a 1/2 dlaždicobuněčných karcinomu děložního hrdla. Slabé barvení jádra a/nebo cytoplazmatické barvení bylo pozorováno u 2/4 plicních tumorů (včetně 1/1 nemalobuněčného karcinomu, 0/1 adenokarcinomu, 1/1 dlaždicobuněčného karcinomu a 0/1 velkobuněčného karcinomu), 1/1 mucinního cystadenokarcinomu vaječníku a 1/2 adenokarcinomu tlustého střeva. Slabé barvení jádra bylo pozorováno u 1/1 atypického karcinoidu brzlíku a 1/2 hepatocelulárních karcinomu. Žádné barvení nebylo pozorováno u testikulárních seminomů (0/2), adenokarcinomu konečníku (0/2), metastatického karcinomu jater, maligního zárodečného tumoru vaječníku, serózního cystadenokarcinomu vaječníku, karcinomu jasných buněk vaječníku, dermatofibrosarkomu a dlaždicobuněčného karcinomu kůže. (Počet abnormálních hodnocených případů = 162.)

NCL-L-p57 (25B2) se doporučuje pro hodnocení proteinu p57 u normálních a neoplastických tkání, jako doplněk ke konvenční histopatologii s použitím nedimenzionálních histochemických nátěrů.

Obecná omezení

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

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

Nadměrné nebo nedostatečné kontrastní barvení může narušit správnou interpretaci výsledků.

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

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

Literatura - všeobecná

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, P.A. 1991; 7(9). Order code M29-P.
2. Battifora H. Diagnostic uses of antibodies to keratins: a review and immunohistochemical comparison of seven monoclonal and three polyclonal antibodies. Progress in Surgical Pathology. 6:1–15. eds. Fenoglio-Preiser C, Wolff CM, Rilke F. Field & Wood, Inc., Philadelphia.
3. Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. Laboratory Medicine. 1983; 14:767.
4. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen: a possible source of error in immunohistochemistry. American Journal of Clinical Pathology. 1980; 73:626.
5. Kanthan R, Fried I, Rueckl T, et al. Expression of cell cycle proteins in male breast carcinoma. World Journal of Surgical Oncology 2010; 8:10.
6. Sharifi N, Sadeghian MH, Ayatollahi H, et al. Validity of P57kip2 immunohistochemical marker in differential diagnosis of molar pregnancy. Journal of the Turkish-German Gynecological Association 2009;10:39-42.
7. Maggiori MS and Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome in situ hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology 2007; 135: 170-176.

Opravy předchozího vydání

Aktualizace na formát CE.

Datum vydání

16 červen 2017

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



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

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

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