

MSH6

Anticuerpo monoclonal prediluido y concentrado
901-265-010418

BIOCARE
M E D I C A L

Número de catálogo:	CM 265 AK, BK, CK	PM 265 AA, H	IPI 265 G10	OAI 265 T60	AVI 265 G
Descripción:	0,1; 0,5; 1,0 ml, concentrado	6,0; 25 ml, prediluido	10 ml, prediluido	60 pruebas, prediluido	6,0 ml, prediluido
Dilución:	1:100	Listo para usar	Listo para usar	Listo para usar	Listo para usar
Diluyente:	Rojo Renoir	No procede	No procede	No procede	No procede

Uso previsto:

Para uso diagnóstico *in vitro*.

MSH6 [44] es un anticuerpo monoclonal de ratón destinado para su uso en el laboratorio en la identificación cualitativa de la proteína MSH6 mediante inmunohistoquímica (IHC) en tejidos humanos fijados en formol e incluidos en parafina (FFPE). La interpretación clínica de cualquier tinción o, de su ausencia, debe complementarse con estudios morfológicos que utilicen controles adecuados, y la debe evaluar un anatomopatólogo cualificado en el contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación:

El MSH6, un heterodímero de MSH2, se une al ADN que contiene errores de emparejamiento G/T. El complejo MSH2-MSH6 reconoce un bucle inserción/delección de pares de base única mal emparejados. La alteración de las repeticiones de secuencia simple es el resultado del deslizamiento debido a la alineación incorrecta de las cadenas durante la replicación del ADN, lo que se conoce como inestabilidad de los microsatélites (IMS) (1,2). Estos defectos en las vías de reparación del ADN se han relacionado con la carcinogénesis en los humanos. Los estudios han demostrado que las mutaciones en los genes *MSH-1*, *MSH2*, *MSH6* y *PMS2* contribuyen a la aparición de cáncer colorrectal esporádico. La reparación de los errores de emparejamiento del ADN es fundamental para mantener la integridad de la información genética a lo largo del tiempo (1,2). Recientemente se ha descrito un patrón heterogéneo de expresión de MSH6 en casos infrecuentes de tumores colorrectales, sebáceos y de endometrio (2). En este patrón, las áreas de gran expresión de MSH6 se yuxtaponen con las áreas de pérdida completa de expresión. Los pacientes con cáncer colorrectal que es deficiente en la reparación de los errores de emparejamiento y que se ha confirmado mediante inmunohistoquímica (IHC) (*MSH2/MSH6* negativo o *MLH1/PMS2* eliminado) han mostrado una respuesta objetiva al anticuerpo anti-PD-1 pembrolizumab (3). Se ha demostrado que la prueba de PD-L1 mediante IHC es un marcador pronóstico útil para la inmunoterapia anti-PD-1 en el cáncer colorrectal (4).

Principio de la prueba:

La detección de antígenos en tejidos y células es un procedimiento inmunohistoquímico que se compone de varias etapas. La etapa inicial consiste en la unión del anticuerpo primario con su epítipo específico. Se puede añadir un anticuerpo secundario para que se una al anticuerpo primario, seguido de un polímero marcado con enzima; o bien, se puede añadir directamente el polímero marcado con enzima para que se una al anticuerpo primario. La presencia del anticuerpo primario unido se detecta mediante una reacción enzimática colorimétrica.

Origen: monoclonal de ratón

Reactividad de las especies: humanos, ratones y ratas

Clon: 44 (antes conocido como BC/44)

Isotipo: IgG1

Concentración proteínica total: ~10 mg/ml. Llamar para conocer la concentración de Ig específica del lote.

Epítipo/antígeno: MSH6

Localización celular: nuclear

MSH6

Anticuerpo monoclonal prediluido y concentrado
901-265-010418

BIOCARE
M E D I C A L

Control histológico positivo: cáncer de colon

Aplicaciones conocidas:

Inmunohistoquímica (tejidos fijados en formol e incluidos en parafina).

Suministrado en forma de: tampón con proteína transportadora (*carrier*) y conservante
Diluyente rojo Renoir (PD904)

Almacenamiento y estabilidad:

Almacenar entre 2 °C y 8 °C. No utilizar después de la fecha de caducidad impresa en el frasco. Si los reactivos se almacenan en condiciones distintas de las especificadas en las instrucciones de uso, el usuario debe comprobarlos.

Almacenamiento y estabilidad (continuación):

Los reactivos diluidos deben utilizarse de inmediato; el reactivo sobrante debe almacenarse entre 2 °C y 8 °C.

Recomendaciones del protocolo (intelliPATH™ y uso manual):

Bloqueo de peróxido: bloquear durante 5 minutos con Peroxidazed 1 de Biocare.

Pretratamiento: realizar la recuperación por calor con Diva Decloaker de Biocare. Consultar la ficha de datos de seguridad de Diva Decloaker para obtener instrucciones específicas.

Bloqueo proteínico (opcional): incubar durante 5-10 minutos a temperatura ambiente con Background Punisher de Biocare.

Anticuerpo primario: incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Sonda: incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente con una sonda secundaria.

Polímero: incubar durante 10-20 minutos a temperatura ambiente con un polímero terciario.

Cromógeno: incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente con DAB de Biocare, O BIEN incubar durante 5-7 minutos a temperatura ambiente con Warp Red de Biocare.

Contratinción:

Realizar una contratinción con hematoxilina. Enjuagar con agua desionizada. Aplicar solución azulante de Tacha durante 1 minuto. Enjuagar con agua desionizada.

Dispositivo automatizado de tinción de portaobjetos intelliPATH™:

IPI265 está previsto para su uso con el dispositivo automatizado de tinción de portaobjetos intelliPATH™. Consultar el Manual del usuario para obtener instrucciones de uso específicas. Si se utiliza intelliPATH™, tras la recuperación por calor se puede realizar el bloqueo con peróxido con intelliPATH Peroxidase Blocking Reagent (IPB5000).

Recomendaciones del protocolo (sistema automatizado de tinción de portaobjetos ONCORE):

OAI265 está previsto para su uso con el sistema automatizado de tinción de portaobjetos ONCORE. Consultar el Manual del usuario para obtener instrucciones de uso específicas. Los parámetros del Editor de protocolos del sistema automatizado de tinción de portaobjetos ONCORE deben programarse de la siguiente manera:

Nombre del protocolo: MSH6

Plantilla del protocolo (descripción): Ms HRP Template 1

Desparafinación (opción DS): DS2

Recuperación de antígenos (opción AR): AR1, pH alto; 103 °C

Nombre del reactivo, tiempo, temperatura: MSH6, 30 min., 25 °C

Recomendaciones del protocolo (sistema de tinción de portaobjetos BenchMark ULTRA de Ventana):

MSH6

Anticuerpo monoclonal prediluido y concentrado
901-265-010418

BIOCARE
M E D I C A L

AVI265 está previsto para su uso con el sistema de tinción de portaobjetos BenchMark ULTRA de Ventana. Consultar el Manual del usuario para obtener instrucciones de uso específicas. Los parámetros del protocolo recomendados son los siguientes:

Plantilla/Detección: OptiView DAB

Protocolo de pretratamiento: CC1 48 minutos

Peroxidasa: inhibidor preprimario de peroxidasa

Opción (V-Blocker BRI4001): incubar durante 4 minutos (con el correspondiente número de opción registrado por el usuario)

Se recomienda aplicar V-Blocker antes de cualquier anticuerpo primario.

Anticuerpo primario: 24 minutos, 37 °C

Nota técnica:

Este anticuerpo, para intelliPATH™ y uso manual, se ha estandarizado con el sistema de detección MACH 4 de Biocare. Utilizar TBS para las etapas de lavado.

Limitaciones:

La dilución óptima del anticuerpo y los protocolos para una aplicación específica pueden variar debido a diversos factores, como por ejemplo, aunque no de forma exclusiva, la fijación, el método de recuperación por calor, los tiempos de incubación, el grosor del corte histológico y el kit de detección utilizado.

Limitaciones (continuación):

Debido a la mayor sensibilidad de estos reactivos exclusivos, los tiempos de incubación recomendados y los títulos enumerados no son aplicables a otros sistemas de detección, puesto que los resultados podrían variar. Las recomendaciones de la ficha de datos de seguridad y los protocolos se basan en el uso exclusivo de productos Biocare. Por último, es responsabilidad del investigador determinar las condiciones óptimas. La interpretación clínica de cualquier tinción positiva o negativa debe evaluarla un anatomopatólogo cualificado en el contexto de la presentación clínica, la morfología y otros criterios histopatológicos. La interpretación clínica de cualquier tinción positiva o negativa debe complementarse con estudios morfológicos que utilicen controles internos y externos adecuados, positivos y negativos, así como otras pruebas diagnósticas.

Control de calidad:

Consultar las Normas de calidad del CLSI para el diseño y la implementación de ensayos inmunohistoquímicos; guía aprobada, segunda edición (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA, EE. UU. (www.clsi.org). 2011

Precauciones:

1. Este anticuerpo contiene menos de un 0,1% de azida de sodio. Las concentraciones inferiores al 0,1 % no constituyen materiales peligrosos notificables, de acuerdo con la norma de Comunicación de Peligros de la OSHA estadounidense (29 CFR 1910.1200) y la Directiva europea 91/155/CE. La azida de sodio (NaN₃) utilizada como conservante es tóxica si se ingiere. Además, puede reaccionar con el plomo y el cobre de las cañerías y formar azidas metálicas altamente explosivas. Cuando se elimine, dejar correr el agua abundantemente para evitar la acumulación de azidas en las cañerías (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades [EE. UU.], 1976, Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional [EE. UU.], 1976) (5).

2. Las muestras, antes y después de su fijación, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben tratarse como posibles agentes transmisores de infecciones y desecharse siguiendo las precauciones adecuadas. No pipetear nunca aspirando con la boca, ni dejar que los reactivos o las muestras entren en contacto con la piel y

MSH6

Anticuerpo monoclonal prediluido y concentrado
901-265-010418

BIOCARE
M E D I C A L

las mucosas. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas sensibles, lavar con agua abundante (6).

3. La contaminación microbiana de los reactivos puede dar lugar a un aumento de la tinción no específica.

4. Los tiempos o las temperaturas de incubación que difieran de los especificados pueden generar resultados erróneos. El usuario debe validar cualquiera de estos cambios.

5. No utilizar el reactivo después de la fecha de caducidad impresa en el frasco.

6. La ficha de datos de seguridad está disponible previa solicitud y se encuentra en <http://biocare.net>.

Resolución de problemas:

Seguir las recomendaciones del protocolo específico del anticuerpo de acuerdo con la ficha de datos proporcionada. Si se obtienen resultados atípicos, contactar con el servicio técnico de Biocare llamando al teléfono 1-800-542-2002 (Estados Unidos).

Referencias bibliográficas:

1. Renkonen E, *et al.* Altered expression of MLH1, MSH2, and MSH6 in predisposition to hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2003;21:3629-37.

2. Graham RP, *et al.* Heterogenous MSH6 loss is a result of microsatellite instability within MSH6 and occurs in sporadic and hereditary colorectal and endometrial carcinomas. *Am J Surg Pathol.* 2015;39:1370-6.

3. Lee LH, *et al.* Patterns and prognostic relevance of PD-1 and PD-L1 expression in colorectal carcinoma. *Mod Pathol.* 2016;29:1333-42.

4. Le DI, *et al.* PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med.* 2015;372:2509-20.

5. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA (Estados Unidos). 30 de abril de 1976, "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."

6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; guía aprobada, cuarta edición, Documento M29-A4 del CLSI, Wayne, PA (EE. UU.) 2014.

Los anticuerpos de la serie VP Echelon han sido desarrollados exclusivamente por Biocare Medical LLC y no implican la aprobación o el respaldo de los anticuerpos de Biocare por parte de Ventana Medical Systems, Inc. Biocare y Ventana no están afiliadas, asociadas ni relacionadas en modo alguno. Ventana®, BenchMark®, ultraView y OptiView son marcas comerciales de Roche.