

PAX8 (M)

Anticuerpo monoclonal prediluido y concentrado
901-438-070919

BIOCARE
M E D I C A L

Número de catálogo:	ACI 438 A, B, C	API 438 AA	OAI 438 T60	AVI 438 G	VLTM 438 G20
Descripción:	0,1; 0,5; 1,0 ml, concentrado	6,0 ml, listo para usar	60 pruebas, listo para usar	6,0 ml, listo para usar	20 ml, listo para usar
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*.

PAX8 (M) [BC12] es un anticuerpo monoclonal de ratón destinado para su uso en el laboratorio en la identificación cualitativa de la proteína PAX8 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:

PAX8 es un miembro de la familia de factores de transcripción de secuencia emparejada (PAX, del inglés *paired box*). Normalmente, los miembros de esta familia de genes codifican proteínas que contienen un dominio de secuencia emparejada, un octapéptido y un homeodominio de tipo emparejado. Esta familia desempeña funciones cruciales durante el desarrollo fetal y el crecimiento del cáncer. PAX8 participa en la diferenciación celular renal, el desarrollo de la tiroides o la disgenesia tiroidea.

PAX8 se expresa en un porcentaje elevado de carcinomas de células renales y de cáncer de ovarios. El anticuerpo PAX8 monoclonal de ratón [BC12] se ha diseñado para actuar de forma selectiva sobre un epítipo en concreto y muestra mayor especificidad y proporciona una tinción más definida que el anticuerpo PAX8 policlonal de conejo. A diferencia de este último, el monoclonal de ratón no tiñe linfocitos B ni reconoce epítopos de origen pancreático ni células neuroendocrinas en el estómago y el colon, por lo que ofrece mayor especificidad. Se observó expresión de los antígenos diana del anticuerpo PAX8 monoclonal de ratón en riñón, tiroides y cuello uterino sanos, aunque no se identificó en ovario sano. Mediante transferencia Western, se ha demostrado que [BC12] reconoce la proteína PAX8, pero no las proteínas PAX2, PAX5 o PAX6. PAX8 tiñe exclusivamente los núcleos y es eficaz en tejidos fijados en formol e incluidos en parafina.

Patentes estadounidenses 8.852.592, 9.417.243 y pendientes.

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. Tras marcar el antígeno con un anticuerpo primario, se puede utilizar un procedimiento de detección de una, dos o tres etapas. El procedimiento de una etapa consistirá en un polímero marcado con enzima que se une al anticuerpo primario. El procedimiento de dos etapas incluirá un anticuerpo secundario añadido para unirse al anticuerpo primario y, a continuación, se añadirá un polímero marcado con enzima para unirse al anticuerpo secundario. El procedimiento de detección de tres etapas incluirá un anticuerpo secundario añadido para unirse al anticuerpo primario, seguido de un paso con anticuerpo ligador para una unión máxima. A continuación, se añadirá un polímero marcado con enzima para unirse al anticuerpo ligador. Estas detecciones de los anticuerpos unidos se observan mediante una reacción colorimétrica.

Origen: monoclonal de ratón

PAX8 (M)

Anticuerpo monoclonal prediluido y concentrado
901-438-070919

BIOCARE
M E D I C A L

Reactividad de las especies: humanos, ratones, ratas, gatos y perros

Clon: BC12

Isotipo: IgG1

Concentración de proteínas: llamar para conocer la concentración de IgG específica del lote.

Epítipo/antígeno: PAX8

Localización celular: nuclear

Control histológico positivo: riñón sano, células renales o carcinomas ováricos serosos

Aplicaciones conocidas:

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

Suministrado en forma de: tampón con proteína transportadora (*carrier*) y conservante

Almacenamiento y estabilidad:

Almacenar entre 2 °C y 8 °C. El producto es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta si se almacena en estas condiciones. No utilizar después de la fecha de caducidad. Los reactivos diluidos deben utilizarse de inmediato; el reactivo sobrante debe almacenarse entre 2 °C y 8 °C.

Recomendaciones del protocolo (equipo automatizado de tinción de portaobjetos VALENT®):

VLTM438 está previsto para su uso con VALENT. Consultar el Manual del usuario para obtener instrucciones de uso específicas. Los parámetros del protocolo del Administrador de protocolos deben programarse de la siguiente manera:

Desparafinación: desparafinar durante 8 minutos con Val DePar.

Pretratamiento: realizar la recuperación por calor a 98 °C durante 60 minutos con Val AR-Hi pH, 5X (uso en 1X).

Bloqueo de peroxidasa: bloquear durante 5 minutos con Val Peroxidase Block.

Bloqueo proteínico: incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente con Val Background Block.

Anticuerpo primario: incubar durante 30 minutos.

Secundario: incubar durante 10 minutos con Val Mouse Secondary.

Ligador: incubar durante 10 minutos con Val Universal Linker.

Polímero: incubar durante 10 minutos con Val Universal Polymer.

Cromógeno: incubar durante 5 minutos con Val DAB.

Contratinción: realizar una contratinción durante 5 minutos con Val Hematoxylin.

Recomendaciones del protocolo (intelliPATH FLX® y uso manual):

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

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

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

Anticuerpo primario: incubar durante 30-60 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.

PAX8 (M)

Anticuerpo monoclonal prediluido y concentrado
901-438-070919

BIOCARE
M E D I C A L

Contratinción:

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

Notas técnicas:

1. Contrateñir ligeramente con hematoxilina, ya que un exceso de tinción puede enmascarar los núcleos teñidos, en particular en el CCR de células claras.
2. 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.

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

OAI438 está previsto para su uso con ONCORE. Consultar el Manual del usuario para obtener instrucciones de uso específicas. Los parámetros del Administrador de protocolos deben programarse de la siguiente manera:

Nombre del protocolo: PAX8

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: PAX8, 30 min., 25 °C

Recomendaciones del protocolo (Ventana BenchMark XT / ULTRA):

AVI438 está previsto para su uso con BenchMark XT / ULTRA. Consultar el Manual del usuario para obtener instrucciones de uso específicas. Los parámetros del protocolo recomendados son los siguientes:

- Con **ultraView en XT / ULTRA:**

Plantilla/Detección: ultraView DAB

Protocolo de pretratamiento: CC1 Standard

Anticuerpo primario: 32 minutos, sin calor

- Con **OptiView en ULTRA:**

Plantilla/Detección: OptiView DAB IHC

Protocolo de pretratamiento: CC1 32 minutos

Peroxidasa: inhibidor preprimario de peroxidasa

Anticuerpo primario: 16 minutos, 36 °C

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. 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.

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

PAX8 (M)

Anticuerpo monoclonal prediluido y concentrado
901-438-070919

BIOCARE
M E D I C A L

norma de Comunicación de Peligros de la OSHA estadounidense (29 CFR 1910.1200) y la Directiva europea 91/155/CE. La azida de sodio (NaN_3) 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) (8).

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 las mucosas. Si los reactivos o las muestras entran en contacto con zonas sensibles, lavar con agua abundante (9).

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. Tacha D, *et al.* PAX8 mouse monoclonal antibody [BC12] recognizes a restricted epitope and is highly sensitive in renal cell and ovarian cancers but does not cross-react with b cells and tumors of pancreatic origin. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2013 Jan; 21(1): 59-63.

2. Tacha D, Zhou D, Cheng L. Expression of PAX8 in normal and neoplastic tissues: a comprehensive immunohistochemical study. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2011 Jul;19(4):293-9.

Referencias bibliográficas (continuación):

3. Lotan TL, *et al.* Immunohistochemical panel to identify the primary site of invasive micropapillary carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2009 Jul; 33(7):1037-41.

4. Viktorová T, *et al.* Expression of PAX2 and PAX8 genes in conventional type of renal carcinoma and their role in the tumor prognosis. *Diagn Cytopathol.* 2008 Aug; 36(8):568-73.

5. Narlis M, *et al.* Pax2 and Pax8 regulate branching morphogenesis and nephron differentiation in the developing kidney. *J Am Soc Nephrol.* 2007 Apr; 18(4):1121-9.

6. Moretti L, *et al.* N-terminal PAX8 polyclonal antibody shows crossreactivity with N-terminal region of PAX5 and is responsible for reports of PAX8 positivity in malignant lymphomas. *Mod Pathol.* 2012 Feb;25(2):231-6.

7. Lorenzo PI, *et al.* Immunohistochemical assessment of Pax8 expression during pancreatic islet development and in human neuroendocrine tumors. *Histochem Cell Biol.* 2011 Nov;136(5):595-607.

8. 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."

PAX8 (M)

Anticuerpo monoclonal prediluido y concentrado
901-438-070919

BIOCARE
M E D I C A L

9. 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.