

p16 INK4a [BC42]

Anticuerpo monoclonal prediluido y concentrado
901-3231-030921

BIOCARE
M E D I C A L

Formatos de producto disponibles				
Formato	Referencia	Descripción	Dilución	Diluyente
Concentrado	ACI 3231 A, C	0,1; 1,0 ml	1:100	Rojo Renoir
Prediluido	API 3231 AA, H	6,0; 25 ml	Listo para usar	No procede
ONCORE Pro	OPAI 3231 T60	60 pruebas	Listo para usar	No procede
VALENT	VLTM 3231 G20	20 ml	Listo para usar	No procede
UltraLine – Para BenchMark	AVI 3231 G, G25	6,0; 25 ml	Listo para usar	No procede
Q Series – Para Leica BOND-III	ALI 3231 G7	7,0 ml	Listo para usar	No procede

Uso previsto:

Para uso diagnóstico *in vitro*

p16 INK4a [BC42] es un anticuerpo monoclonal de ratón destinado al uso en laboratorio para la identificación cualitativa de la proteína p16 INK4a mediante inmunohistoquímica (IHC) en tejidos humanos fijados en formol e incluidos en parafina (FFIP). La interpretación clínica de cualquier tinción o su ausencia debe complementarse con estudios morfológicos que utilicen controles adecuados, y debe evaluarla un anatomopatólogo cualificado en el contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

Resumen y explicación:

p16 INK4a es una proteína supresora de tumores que interviene en la patogenia de diversas neoplasias malignas. Es un inhibidor específico de cdk4/cdk6. Los análisis recientes del gen p16INK4a han revelado deleciones homocigóticas y mutaciones de terminación prematura, de cambio de aminoácido o de desplazamiento del marco de lectura en diversos tipos de cáncer humano (1). Aunque la frecuencia de alteraciones en p16 INK4a es mayor en las líneas celulares derivadas de tumores que en los tumores primarios no seleccionados, se han descrito subconjuntos significativos de casos clínicos con el gen p16 INK4a anómalo en melanomas, gliomas y carcinomas de esófago, páncreas, pulmón y vejiga urinaria (2). La inmunorreactividad de p16 en tejidos incluidos en parafina también ha demostrado ser un factor predisponente independiente en el cáncer urotelial mínimamente invasivo y un factor pronóstico en el carcinoma pulmonar no microcítico, y ha demostrado predecir una respuesta positiva a la quimiorradioterapia en el carcinoma epidermoide de cabeza y cuello en estadio IV (3-6).

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 a su epítipo específico. Tras marcar el antígeno con un anticuerpo primario, se puede emplear un procedimiento de detección consistente en una, dos o tres etapas. El procedimiento de una etapa contará con un polímero marcado con enzima que se une al anticuerpo primario. El procedimiento de dos etapas contará con un anticuerpo secundario añadido para unirse al anticuerpo primario y luego se añadirá un polímero marcado con enzima para unirse al anticuerpo secundario. El procedimiento de detección de tres etapas contará con un anticuerpo secundario añadido para unirse al anticuerpo primario, seguido de una etapa de anticuerpo ligador para asegurar la máxima unión, y luego se añadirá un polímero marcado con enzima para unirse al anticuerpo ligador. La detección de los anticuerpos unidos se observa mediante reacción colorimétrica.

Origen: monoclonal de ratón

Reactividad de las especies: humana; otras no analizadas

Clon: BC42

Isotipo: IgG1/kappa

Concentración de proteínas: consultar la disponibilidad de lotes con una concentración de Ig específica.

Epítipo/antígeno: p16 INK4a

p16 INK4a [BC42]

Anticuerpo monoclonal prediluido y concentrado
901-3231-030921

BIOCARE
M E D I C A L

Localización celular: nuclear y citoplásmica

Control histológico positivo: amígdala normal, cáncer de cuello uterino, cáncer de cabeza y cuello y 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

Conservación y estabilidad:

Conservar 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 (Plataforma automatizada de tinción de portaobjetos

VALENT®:

VLTM3231 está diseñado 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: efectuar la recuperación por calor a 98 °C durante 60 minutos con Val ARLo pH, 5X (uso en 1X).

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

Bloqueo proteínico (opcional): incubar durante 10-20 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: hacer 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: efectuar la recuperación por calor con Diva Decloaker. Consultar la ficha técnica de Diva Decloaker para obtener instrucciones específicas.

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

Anticuerpo primario: incubar durante 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.

Contratinción:

Hacer una contratinción con hematoxilina. Aclarar con agua desionizada. Aplicar solución azulante de Tacha durante 1 minuto. Aclarar con agua desionizada.

Nota técnica:

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

Recomendaciones del protocolo (Sistema automatizado de tinción de portaobjetos

ONCORE™ Pro):

p16 INK4a [BC42]

Anticuerpo monoclonal prediluido y concentrado
901-3231-030921

BIOCARE
M E D I C A L

OPAI3231 está diseñado para su uso con ONCORE. Consultar el manual del usuario para obtener instrucciones de uso específicas. Los parámetros del protocolo del Editor de protocolos deben programarse de la siguiente manera:

Nombre del protocolo: p16

Plantilla del protocolo (descripción): Ms HRP Template 1

Desparafinación (opción DS Buffer): DS2-50

Recuperación antigénica (opción AR): AR1, pH alto; 101 °C

Opción de bloqueo: tampón

Nombre del reactivo, tiempo, temp.: p16, 59 min, 25 °C

Recomendaciones del protocolo (Ventana BenchMark ULTRA):

AVI3231 está diseñado para su uso con BenchMark ULTRA. Consultar el manual del usuario para obtener instrucciones de uso específicas. Los parámetros recomendados del protocolo son los siguientes:

Plantilla/Detección: OptiView DAB IHC

Protocolo de pretratamiento: CC1 48 minutos

Peroxidasa: inhibidor preprimario de la peroxidasa

Anticuerpo primario: 12 minutos, 36 °C

Recomendaciones del protocolo (Q Series – Para Leica BOND-III):

ALI3231 está diseñado para su uso con Leica BOND-III. Consultar el manual del usuario para obtener instrucciones de uso específicas. Los parámetros recomendados del protocolo son los siguientes:

Nombre del protocolo: IHC Protocol F

Detección: Bond Polymer Refine

HIER: 20 min con ER2

Bloqueo de peróxido: 5 min

Marcador (anticuerpo primario): 15 min

Posprimario: 8 min

Polímero: 8 min

Mixed DAB Refine: 10 min

Hematoxilina: 5 min

Características de rendimiento:

La sensibilidad, la especificidad y la reactividad cruzada se resumen en las tablas 1 y 2, respectivamente.

Limitaciones:

La dilución óptima del anticuerpo y los protocolos para una aplicación específica pueden variar debido a diversos factores. En particular, 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 gran sensibilidad de estos reactivos exclusivos, los tiempos de incubación recomendados y los títulos enumerados no son válidos para otros sistemas de detección, ya que los resultados podrían variar. Las recomendaciones de la ficha técnica y los protocolos se basan en el uso exclusivo de productos de Biocare. Por último, es responsabilidad del investigador determinar las condiciones óptimas.

Control de calidad:

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

Precauciones:

p16 INK4a [BC42]

Anticuerpo monoclonal prediluido y concentrado
901-3231-030921

BIOCARE
M E D I C A L

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 (NaN_3) utilizada como conservante es tóxica en caso de ingestión. La azida de sodio puede reaccionar con el plomo y el cobre de las cañerías y formar azidas metálicas muy explosivas. En el momento de la eliminación, dejar correr el agua abundantemente por el desagüe para evitar la acumulación de azida 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) (7).
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 cantidades abundantes de agua. (8).
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 distintos 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 FDS se encuentra a disposición de los interesados y puede descargarse en <http://biocare.net>.

Resolución de problemas:

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

Referencias bibliográficas:

1. LaPak KM, Burd CE. The molecular balancing act of p16(INK4a) in cancer and aging. *Mol Cancer Res.* 2014 Feb; 12(2):167-83.
2. Mahajan A. Practical issues in the application of p16 immunohistochemistry in diagnostic pathology. *Hum Pathol.* 2016 May; 51:64-74.
3. Tong J, et al. Expression of p16 in non-small cell lung cancer and its prognostic significance: A meta-analysis of published literatures. *Lung Cancer.* 2011 Nov; 74(2):155-63.
4. Chen YJ, et al. High p16 expression predicts a positive response to chemoradiotherapy in stage IVa/b head and neck squamous cell carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011; 12(3):649-55.
5. Snow AN, Laudadio J. Human papillomavirus detection in head and neck squamous cell carcinomas. *Adv Anat Pathol.* 2010 Nov; 17(6):394-403.
6. Buza N, et al. Inverse p16 and p63 expression in small cell carcinoma and high-grade urothelial cell carcinoma of the urinary bladder. *Int J Surg Pathol.* 2010 Apr; 18 (2):94-102.
7. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.

Los anticuerpos Ultraline 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 o Roche. Biocare, Ventana y Roche no están afiliados, asociados ni relacionados de ningún modo. Ventana®, BenchMark®, ultraView y OptiView son marcas comerciales de Roche.

p16 INK4a [BC42]

Anticuerpo monoclonal prediluido y concentrado
901-3231-030921

BIOCARE
M E D I C A L

Los anticuerpos Q Series han sido desarrollados exclusivamente por Biocare Medical LLC y no implican la aprobación o el respaldo de los anticuerpos de Biocare por parte de Leica Biosystems. Biocare y Leica Biosystems no están afiliados, asociados ni relacionados de ningún modo. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX y BOND-III son marcas comerciales de Leica Biosystems.

Tabla 1. La sensibilidad y la especificidad se determinaron mediante el análisis de tejidos patológicos fijados en formol e incluidos en parafina.

Tejido	Casos positivos	Total de casos
Neoplasia intraepitelial cervical	16	24
Adenocarcinoma de cuello uterino	13	22
Carcinoma epidermoide de cuello uterino	16	16
Cáncer de cabeza y cuello	4	12
Cáncer de vejiga	28	39
Cáncer de mama	26	29
Cáncer de colon	28	35
Cáncer de pulmón	25	48
Cáncer de endometrio	42	48
Cáncer ovárico	10	12
Cáncer de próstata	10	12
Cáncer renal	21	30

Tabla 2. La reactividad cruzada tisular se determinó mediante el análisis de tejidos normales fijados en formol e incluidos en parafina.

Tejido	Casos positivos	Total de casos
Cerebro	3	3
Cerebelo	3	3
Glándula suprarrenal	3	3
Ovario	2	3
Páncreas	3	3
Glándula paratiroidea	1	3
Hipófisis	3	3
Testículo	0	3
Glándula tiroidea	0	3
Mama	3	3
Bazo	3	3
Amígdala	3	3
Timo	3	3
Médula ósea	3	3
Pulmón	0	3
Corazón	0	3
Esófago	2	3
Estómago	3	3
Intestino delgado	2	3
Colon	1	3
Hígado	1	3
Glándula salival	3	3
Riñón	2	3

p16 INK4a [BC42]

Anticuerpo monoclonal prediluido y concentrado
901-3231-030921

BIOCARE
M E D I C A L

Próstata	3	3
Útero	2	3
Cuello uterino	1	3
Músculo esquelético	0	2
Piel	3	3
Nervio periférico	1	3
Células de revestimiento	*	3

* + en pulmón; - en músculo y grasa