

Melanoma Cocktail

Anticuerpo monoclonal prediluido y concentrado
901-078-051519

BIOCARE
M E D I C A L

Referencia:	CM 078 B, C	PM 078 AA	VP 078 G	VLTM 078 G20
Descripción:	0,5; 1,0 ml, conc.	6,0 ml, 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
Diluyente:	Amarillo Van Gogh	No procede	No procede	No procede

Uso previsto:

Para uso diagnóstico *in vitro*

Melanoma Cocktail [HMB45 + M2-7C10 + M2-9E3] es un combinado de anticuerpos monoclonales de ratón destinado al uso en laboratorio para la identificación cualitativa de las proteínas HMB45 y MART-1 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:

El clon HMB45 reacciona con la cadena lateral de oligosacáridos sensible a la neuraminidasa de un glucoconjugado presente en los melanosomas inmaduros. El antígeno reactivo frente a HMB45 está presente en los melanocitos cutáneos, el epitelio pigmentario retiniano prenatal e infantil y las células de melanoma. También se cree que es de naturaleza oncofetal. Se ha demostrado que este anticuerpo marca la mayoría de los melanomas. MART-1/Melan-A reconoce una proteína de 18 kDa, identificada como MART-1 (antígeno de melanoma reconocido por células T 1) o Melan-A. MART-1 reconoce una fracción subcelular que se encuentra en los melanosomas. El anticuerpo marca melanomas y tumores que muestran diferenciación melanocítica (1,2). No marca neoplasias de origen epitelial, linfomas ni tumores mesenquimales. Melan-A es una adición útil a los grupos de antígenos asociados al melanoma y es específica de las lesiones melanocíticas. También se ha probado en los estudios que MART-1 es más sensible que HMB45 a la hora de marcar melanomas metastásicos. HMB45 y MART-1 se expresan conjuntamente en la mayoría de los melanomas, así como de forma individual en determinados casos. Así pues, el combinado de HMB45 y MART-1 es potencialmente más sensible que HMB45 y MART-1 por separado. MART-1 es un combinado de los clones M2-7C10 + M2-9E3. La combinación de HMB45 y el cóctel de MART-1 hace que esta mezcla triple de anticuerpos sea un detector universal de primer orden de melanomas (3).

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: HMB45 + M2-7C10 + M2-9E3

Isotipo: IgG1/kappa + IgG2b + IgG2b

Melanoma Cocktail

Anticuerpo monoclonal prediluido y concentrado
901-078-051519

BIOCARE
M E D I C A L

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

Epítipo/antígeno: HMB45 + MART-1

Localización celular: citoplásmica

Control histológico positivo: melanoma metastásico en ganglio linfático

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®):

VLTMO78 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:

- Opción de tinción con cromógeno DAB:

Desparafinación: desparafinar durante 8 minutos con Val DePar.

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

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

Bloqueo proteínico (opcional): incubar durante 10-20 minutos 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.

- Opción de tinción con cromógeno rojo:

Desparafinación: desparafinar durante 8 minutos con Val DePar.

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

Bloqueo proteínico (opcional): incubar durante 10-20 minutos con Val Background Block.

Anticuerpo primario: incubar durante 30 minutos.

Polímero: incubar durante 45 in con Val Mouse AP Polymer.

Cromógeno: incubar durante 15 in con Val Fast Red.

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 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.

Melanoma Cocktail

Anticuerpo monoclonal prediluido y concentrado
901-078-051519

BIOCARE
M E D I C A L

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 (Ventana BenchMark XT/ULTRA):

VP078 está diseñado para su uso con BenchMark XT/ULTRA. Consultar el manual del usuario para obtener instrucciones de uso específicas. Los parámetros recomendados del protocolo son los siguientes:

- Si se utiliza **ultraView en XT o ULTRA:**

Plantilla/Detección: *ultraView* DAB

Protocolo de pretratamiento: ULTRA CC1 estándar

Anticuerpo primario: 32 minutos, 37 °C

- Si se utiliza **OptiView en ULTRA:**

Plantilla/Detección: OptiView DAB IHC

Protocolo de pretratamiento: CC1 32 minutos

Peroxidasa: inhibidor preprimario de la 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. 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:

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.

Melanoma Cocktail

Anticuerpo monoclonal prediluido y concentrado
901-078-051519

BIOCARE
M E D I C A L

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. Blessing K, Sanders DS, Grant JJ. Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*. 1998 Feb; 32(2):139-46.
2. Jungbluth AA, et al. A103: An anti-melan-a monoclonal antibody for the detection of malignant melanoma in paraffin-embedded tissues. *Am J Surg Pathol*. 1998 May;22 (5):595-602.
3. Beaty MW, et al. Effusion cytology of malignant melanoma. A morphologic and immunocytochemical analysis including application of the MART-1 antibody. *Cancer*. 1997 Feb 25;81(1):57-63.
4. Bonetti F, et al. False-positive immunostaining of normal epithelia and carcinomas with ascites fluid preparations of antimelanoma monoclonal antibody HMB45. *Amer J Clin Pathol*. 1991 Apr;95(4):454- 9.
5. Leong AS-Y, Millos J. An assessment of a melanoma-specific antibody (HMB-45) and other immunohistochemical markers of malignant melanoma in paraffin-embedded tissues. *Surg Pathol*. 1989;2:137.
6. Ordonez NG, et al. Comparison of HMB-45 monoclonal antibody and S-100 protein in the immunohistochemical diagnosis of melanoma. *Amer J Clin Pathol*. 1988 Oct;90(4):385-90.
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 VP Echelon 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 Ventana Medical Systems, Inc. Biocare y Ventana no están afiliados, asociados ni relacionados de ningún modo. Ventana®, BenchMark®, *ultraView* y *OptiView* son marcas comerciales de Roche.