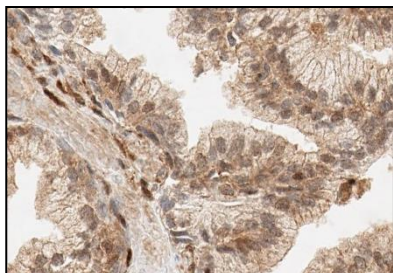


VENTANA PTEN (SP218) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

REF 790-5097

07970200001

IVD  50



Afbeelding 1. Prostaatweefsel gekleurd met VENTANA PTEN (SP218).

BEOOGD GEBRUIK

Het VENTANA PTEN (SP218) Rabbit Monoclonal Primary Antibody is bedoeld voor laboratoriumgebruik voor de kwalitatieve detectie van het PTEN-proteïne (phosphatase and tensin homolog) in formaline-gefixeerd en in paraffine ingebed weefsel.

De klinische beoordeling van een kleuring of het uitblijven daarvan moet worden aangevuld met histologisch onderzoek en beoordeling van de juiste

controles. De beoordeling moet worden uitgevoerd door een daartoe bevoegd patholoog in samenhang met de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests. Dit antilichaam is bedoeld voor *in vitro* diagnostisch (IVD) gebruik.

SAMENVATTING EN UITLEG

Het VENTANA PTEN (SP218) Rabbit Monoclonal Primary Antibody is gericht tegen het proteïne-tyrosine fosfatase dat door het PTEN-tumorsuppressiegen (phosphatase and tensin homolog) gecodeerd is op chromosoom 10q23.3, wat ook bekend staat als MMAC1, een gen dat gemuteerd wordt in verschillende gevorderde kankers^{1,2}. Het PTEN-proteïne is identiek aan transformerende groeifactor β -gereguleerd en epitheelcel-verrijkt fosfatase (TEP1) en speelt een belangrijke rol bij de controle van de overleving van de cellen en de progressie van de celdyclus als een negatieve regulator van de fosfoinositide 3-kinase/AKT-lijn³⁻⁵. Immunohistochemische analyses hebben een verminderde of afwezige expressie van het PTEN-proteïne aangetoond bij verschillende kankers, waaronder prostaat-, borst-, schildklier-, baarmoederhals-, maag-, niet-kleincellige long- en alveolairkanker⁶⁻¹². Het PTEN-proteïne bevindt zich in het cytoplasma en de nucleus en komt constitutief tot expressie in niet-neoplastische weefsels.

PRINCIPE VAN DE PROCEDURE

Het VENTANA PTEN (SP218) Rabbit Monoclonal Primary Antibody bindt zich aan het PTEN-proteïne in secties van formaline-gefixeerde en in paraffine ingebedde monsters. Het specifieke antilichaam kan worden gelokaliseerd door een gehapteneerd secundair antilichaam te gebruiken, gevolgd door een antihapteen HRP-multimeerconjugaat (OptiView DAB IHC Detection Kit, Cat. No. 760-700/06396500001). Het specifieke antilichaam-enzymcomplex wordt vervolgens zichtbaar gemaakt door een precipiterend enzymreactieproduct. Raadpleeg de bijsluiter van de OptiView DAB IHC Detection Kit voor nadere informatie.

Naast kleuring met VENTANA PTEN (SP218) Rabbit Monoclonal Primary Antibody moet een tweede objectglaasje worden gekleurd met Rabbit Monoclonal Negative Control Ig (Cat. No. 790-4795/06683380001).

GELEVERD REAGENS

VENTANA PTEN (SP218) Rabbit Monoclonal Primary Antibody bevat voldoende reagens voor 50 glaasjes.

Eén 5 ml dispenser met VENTANA PTEN (SP218) Rabbit Monoclonal Primary Antibody bevat ongeveer 18,5 μ g monoklonaal konijnenantilichaam.

Het antilichaam is verdund in 0,05 M Tris-gebufferde zoutoplossing, 0,01 M EDTA, 0,05% Brij-35 met 0,3% dragereiwit en 0,05% natriumazide, een conserveermiddel.

De totale eiwitconcentratie van het reagens bedraagt ca. 3 mg/ml. De concentratie van het antilichaam afzonderlijk is ca. 3,7 μ g/ml. Er is tot dusver geen niet-specifieke antilichaamreactiviteit bij dit product waargenomen.

VENTANA PTEN (SP218) Rabbit Monoclonal Primary Antibody is een proteïne A-gezuiverd, recombinant monoklonaal konijnenantilichaam.

Raadpleeg de bijsluiter van de VENTANA OptiView DAB IHC Detection Kit voor uitgebreide beschrijvingen van: (1) Principes van de procedure, (2) Benodigde, maar niet meegeleverde materialen en reagentia, (3) Monsterafname en -preparatie voor analyse, (4) Kwaliteitscontroleprocedures, (5) Problemen oplossen, (6) Beoordeling van resultaten en (7) Algemene beperkingen.

BENODIGD MAAR NIET MEEGELEVERD MATERIAAL

Kleuringsreagentia, zoals de VENTANA OptiView DAB IHC Detection Kit en bijbehorende componenten, waaronder glaasjes met weefsel voor negatieve en positieve controle, worden niet meegeleverd.

Mogelijk zijn niet alle in de bijsluiter vermelde producten leverbaar in alle landen. Raadpleeg uw plaatselijke vertegenwoordiger.

BEWARING

Bewaar het product na ontvangst en wanneer het niet in gebruik is bij 2-8 °C. Niet invriezen.

Doe telkens nadat de dispenser is gebruikt de dop er weer op en zet de dispenser vervolgens onmiddellijk rechtop in de koelkast om een juiste afgifte van het reagens en de stabiliteit van het antilichaam te waarborgen.

Op elke dispenser met antilichaam staat de uiterste gebruiksdatum. Bij juiste bewaring is het reagens stabiel tot de op het etiket aangegeven datum. Gebruik het reagens niet na de uiterste gebruiksdatum.

PREPARATIE VAN HET MONSTER

Normaal verwerkte, in formaline gefixeerde en in paraffine ingebedde weefsels zijn geschikt voor gebruik bij dit primaire antilichaam mits dat wordt gebruikt met de VENTANA OptiView DAB IHC Detection Kit en VENTANA BenchMark ULTRA-, BenchMark XT- of BenchMark GX-kleuringsautomaat. Het aanbevolen weefselfixatiemiddel is 10% neutraal gebufferde formaline.¹³ Glaasjes dienen onmiddellijk te worden gekleurd, aangezien de antigeniciteit van vrije weefselcoupsen na verloop van tijd kan verminderen.

Het verdient aanbeveling om in de kleuringsronde van onbekende monsters ook positieve en negatieve controles mee te nemen.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

- Bestemd voor *in vitro* diagnostiek (IVD).
- Uitsluitend voor professioneel gebruik.
- Dit product is niet geclassificeerd als gevaarlijke substantie, mits gebruikt volgens de aanwijzingen. Het conserveermiddel in het reagens is natriumazide. Symptomen van te lange blootstelling aan natriumazide omvatten huid- en oogirritatie en slijmvliesirritatie en de bovenste luchtwegen. De concentratie natriumazide in dit product bedraagt 0,05%. Deze concentratie voldoet niet aan de OSHA-criteria voor gevaarlijke stoffen. Accumulaties van natriumazide kunnen reageren met loden en koperen afvoerbuizen en vormen dan zeer explosieve metaalaziden. Spoel bij afvoer na met grote hoeveelheden water om ophoping van azide in afvoerbuizen te voorkomen.¹⁴ Bij daarvoor gevoelige personen kunnen systemische overgevoelighedsreacties optreden.
- Menselijk of dierlijk materiaal moet als biologisch gevaarlijk materiaal worden behandeld en met gepaste voorzorgsmaatregelen worden afgevoerd.
- Zorg ervoor dat reagentia niet met de ogen en slijmvlies in aanraking komen. Indien de reagentia met gevoelige lichaamsdelen in aanraking komen, dient u deze met veel water te spoelen.
- Voorkom microbiële verontreiniging van reagentia; onjuiste onderzoeksuitslagen kunnen hiervan het gevolg zijn.
- Raadpleeg de plaatselijke en/of nationale autoriteiten voor de aanbevolen afvoermethode.
- Raadpleeg voor aanvullende veiligheidsinformatie het productveiligheidsinformatieblad en de gids met symbolen en R-zinnen op www.ventana.com.

KLEURINGSPROCEDURE

Primaire antilichamen van VENTANA zijn ontwikkeld voor gebruik op een VENTANA BenchMark ULTRA-, BenchMark XT- en BenchMark GX-kleuringsautomaat in combinatie met de VENTANA OptiView DAB IHC Detection Kit en bijbehorende testonderdelen. Raadpleeg Tabel 1 voor de aanbevolen kleuringsprotocollen.

Dit antilichaam is geoptimaliseerd voor incubatie waarvan de duur vastligt, maar de gebruiker moet de met dit reagens verkregen resultaten valideren.

De parameters voor de geautomatiseerde procedures kunnen worden getoond, afgedrukt en bewerkt overeenkomstig de procedure in de gebruikershandleiding van het instrument. Raadpleeg de bijsluiters van de VENTANA OptiView DAB IHC Detection Kit voor meer informatie over immunohistochemische kleuringprocedures.

Tabel 1. Aanbevolen kleuringsprotocol voor het VENTANA PTEN (SP218) Rabbit Monoclonal Primary Antibody met de OptiView DAB IHC Detection Kit op BenchMark ULTRA-, BenchMark XT- en BenchMark GX-instrumenten.

Protocolselectie	BenchMark ULTRA	BenchMark XT	BenchMark GX
Deparaffineren	Geselecteerd	Geselecteerd	Geselecteerd
Cell Conditioning (vrijmaken antigen)	Cell Conditioning 1, 56 minuten, 100 °C	Cell Conditioning 1, 56 minuten, 100 °C (standaard)	Cell Conditioning 1, 56 minuten, 100 °C (standaard)
Pre antilichaam peroxidase-remmer	Geselecteerd	Geselecteerd	Geselecteerd
Antilichaam (primaire)	16 minuten, 37 °C	16 minuten, 37 °C	16 minuten, 37 °C
OptiView HQ Linker	8 minuten (standaard)	12 minuten	12 minuten
OptiView HRP Multimer	8 minuten (standaard)	12 minuten	12 minuten
Tegenkleuring	Hematoxyline II, 4 minuten	Hematoxyline II, 4 minuten	Hematoxyline II, 4 minuten
Tegenkleuring achteraf	Bluing, 4 minuten	Bluing, 4 minuten	Bluing, 4 minuten

Vanwege variatie in weefselfixatie en -bewerking, evenals de algemene apparatuur- en omgevingsomstandigheden in het lab, kan het nodig zijn de incubatietijd met het primaire antilichaam of de voorbehandeling voor celconditionering te verlengen of te verkorten, op basis van de eigenschappen van het individuele monster, de toegepaste detectiemethode en de voorkeur van de beoordelaar. Zie "Immunohistochemistry Principles and Advances" voor meer informatie over fixatievariabelen.¹⁵

WEEFSEL VOOR POSITIEVE CONTROLE

Een voorbeeld van weefsel voor positieve controle voor dit antilichaam is een normale alveolairklier, die kleuring van het cytoplasma en/of de nucleus van de cellen van de eilandjes van Langerhans aantoon. De daaraan gerelateerde niet-neoplastische stromale cellen, endotheelcellen en perifere zenuwcellen binnen het tumorgebied zijn voorbeelden van positieve interne controle.

BEOORDELING VAN DE KLEURING/TE VERWACHTEN RESULTATEN

Het cellulaire kleuringsspatroon voor VENTANA PTEN (SP218) Rabbit Monoclonal Primary Antibody is cytoplasmatisch en/of nucleair. In afbeelding 2 en afbeelding 3 worden voorbeelden getoond van verwachte kleuringresultaten.

SPECIFIEKE BEPERKINGEN

Histologische monsters moeten binnen 24 uur na afname gedurende 12-24 uur worden gefixeerd met 10% neutrale gebufferde formaline.

Dit antilichaam is geoptimaliseerd voor een incubatietijd van 16 minuten op instrumenten van de BenchMark-serie samen met de OptiView DAB IHC Detection Kit, maar de gebruiker moet de resultaten die met dit reagens worden verkregen, valideren.

Er moeten coupes van ongeveer 3-6 µm dik worden gesneden en op positief geladen microscopieglaasjes worden geplaatst.

PRESTATIEKENMERKEN

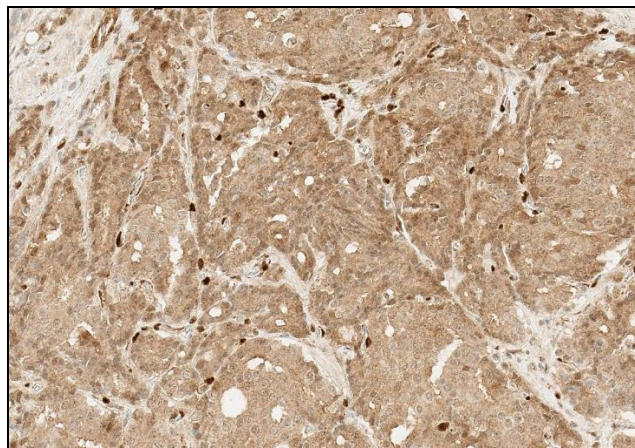
Er zijn kleuringstests voor specificiteit, gevoeligheid en reproduceerbaarheid uitgevoerd; de resultaten hiervan staan vermeld in Tabel 2 en 0 en in de paragraaf Reproduceerbaarheid.

Specificiteit

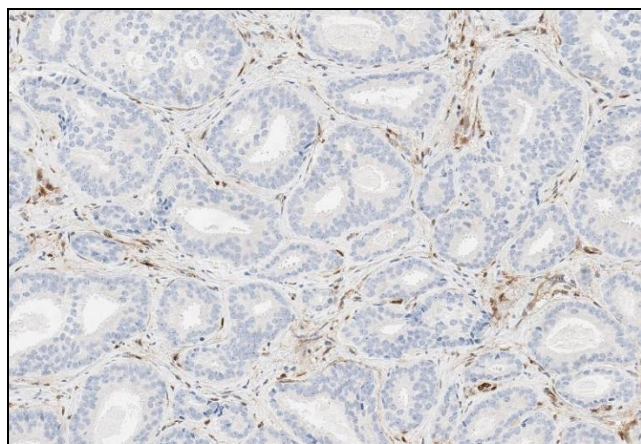
Tabel 2. De specificiteit van VENTANA PTEN (SP218) Rabbit Monoclonal Primary Antibody is aangetoond door testen van formaline-gefixeerde, in paraffine ingebedde normale weefsels.

Weefsel	Aantal positieve/totaal aantal gevallen	Weefsel	Aantal positieve/totaal aantal gevallen
Borstklier	2/2	Zenuw	2/2
Cerebellum	1/1	Ovarium	3/3
Hersenen	2/2	Prostaat	1/1
Cervix	1/1	Skeletspier	0/3
Dikke darm	3/3	Huid	1/1
Oog	1/1	Dunne darm	3/3
Nier	1/1	Milt	1/1
Strottenhoofd	3/3	Maag	2/2
Lever	2/2	Tong	2/2
Long	2/2	Baarmoeder	2/2

Interne controles waren positief en acceptabel voor alle gevallen.



Afbeelding 2. Aanwezigheid van VENTANA PTEN (SP218) Rabbit Monoclonal Primary Antibody-kleuring bij prostaatkanker.



Afbeelding 3. Afwezigheid van VENTANA PTEN (SP218) Rabbit Monoclonal Primary Antibody-kleuring bij prostaatkanker.

Sensitiviteit

Tabel 3. De sensitiviteit van VENTANA PTEN (SP218) Rabbit Monoclonal Primary Antibody werd bepaald door testen van een verscheidenheid aan in formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde neoplastische weefsels.

Pathologische bevinding	Aantal positieve/ totaal aantal gevallen
Glioblastoom	1/1*
Atypisch meningioom	0/1
Maligne ependymoom	1/1
Oligodendroglioom	0/1
Sereus adenocarcinoom van de eierstokken	1/1
Adenocarcinoom van het ovarium	0/1
Eilandceltumor	1/1
Pancreatisch adenocarcinoom	1/1*
Seminoom	0/2
Medullair schildklierkarcinoom	1/1
Papillair schildklierkarcinoom	1/1
Intraductaal mammacarcinoom	1/1
Infiltrerend ductaal mammacarcinoom	49/64**
Diffuus type B-cel-lymfom van de milt	0/1
Papillair adenocarcinoom	1/2
Pulmonair adenocarcinoom	22/30***
Pulmonair carcinoom (verspreid)	1/1
Grootcellig pulmonair carcinoom	3/5
Mucineus pulmonair adenocarcinoom	1/4
Solide pulmonair slijmcelkarcinoom	3/3
Kleincellig, ongedifferentieerd pulmonair carcinoom	0/1
Pulmonair plaveiselcelkarcinoom	20/40****

Pathologische bevinding	Aantal positieve/ totaal aantal gevallen
Neuro-endocrien carcinoom van de slokdarm	0/1
Adenocarcinoom van de slokdarm	0/1
Zegelringcelkarcinoom	1/1*
Stromaal sarcoom	1/1
Colorectaal adenocarcinoom	2/2*
Stromale tumor	1/1
Heldercellig niercelkarcinoom (Grawitz-tumor)	0/1
Adenocarcinoom van de prostaat	46/66*****
Plaveiselcelkarcinoom van de cervix	1/1
Embryonaal rhabdomyosarcoom	0/1
Plaveiselcelkarcinoom van de huid	1/1*
Neuroblastoom	0/1
Maligne mesotheliom	1/1*
Diffuus B-cellymfom	2/2
Hodgkin's lymfoom van het gemengde type	0/1
Overgangscelkarcinoom van de blaas	1/1
Osteosarcoom	0/1
Maligne leiomyosarcoom	0/1

Interne controles waren positief en acceptabel voor alle gevallen.

*focale kleuring in alle positieve casussen

**focale kleuring in 3/49 positieve casussen

***focale kleuring in 2/22 positieve casussen

****focale kleuring in 2/20 positieve casussen

*****focale kleuring in 10/46 positieve casussen

Reproduceerbaarheid

Er zijn reproduceerbaarheidstudies voor VENTANA PTEN (SP218) uitgevoerd om het volgende aan te tonen:

- Reproduceerbaarheid tussen productiepartijen van het antilichaam.
- Reproduceerbaarheid binnen runs en tussen runs op een BenchMark ULTRA-instrument.
- Reproduceerbaarheid binnen instrumentsystemen bij gebruik op de BenchMark ULTRA-, BenchMark XT- en BenchMark GX-kleuringsautomaten.
- Reproduceerbaarheid tussen het BenchMark GX-instrument en het BenchMark ULTRA-instrument.
- Reproduceerbaarheid tussen de instrumentsystemen BenchMark XT en BenchMark ULTRA.

Bij alle onderzoeken werd aan de aanvaardbaarheidscriteria voldaan.

LITERATUUR

1. Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang SI, Puc J, Milaresis C, Rodgers L, McCombie R, Bigner SH, Giovanella BC, Iltmann M, Tycko B, Hibshoosh H, Wigler MH, Parson R. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. Science. 1997;275:1943-1947.
2. Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA, Yung WKA, Lin H, Ligon AH, Langford LA, Baumgard ML, Hattier T, Davis T, Frye C, Hu R, Swedlund B, Teng DHF, Tavtigian SV. Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. Nat Genet 1997;15:356-362.

3. Li D-M, Sun H. TEP1, encoded by a candidate tumor suppressor locus, is a novel protein tyrosine phosphatase regulated by transforming growth factor β 1. *Cancer Res.* 1997;57:2124-2129.
4. Wu X, Senechal K, Neshat MS, Whang YE, Sawyers CL. The PTEN/MMAC1 tumor suppressor phosphatase functions as a negative regulator of the phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway. *Proc Natl Acad Sci.* 1998;95:15587-15591.
5. Stambolic V, Suzuki A, de la Pompa JL, Brothers GM, Mirtsos C, Sasaki T, Ruland J, Penninger JM, Siderovski DP, Mak TW. Negative regulation of PKB/Akt-dependent cell survival by the tumor suppressor PTEN. *Cell.* 1998;95:29-39.
6. Whang YE, Wu X, Suzuki H, Reiter RE, Tran C, Vassella RL, Said JW, Isaacs WB, Sawyers CL. Inactivation of the tumor suppressor PTEN/MMAC1 in advanced human prostate cancer through loss of expression. *Proc Natl Acad Sci.* 1998;95:5246-5250.
7. Perren A, Weng L-P, Boag AH, Ziebold U, Thakore K, Dahia PLM, Komminoth P, Lees JA, Mulligan LM, Mutter GL, Eng C. Immunohistochemical evidence of loss of PTEN expression in primary ductal adenocarcinomas of the breast. *Am J Pathol.* 1999;155:1253-1260.
8. Gimm O, Perren A, Weng L-P, Marsh DJ, Yeh JJ, Ziebold U, Gil E, Hinze R, Delbridge L, Lees JA, Mutter GL, Robinson BG, Komminoth P, Dralle H, Eng C. Differential nuclear and cytoplasmic expression of PTEN in normal thyroid tissue, and benign and malignant epithelial thyroid tumors. *Am J Pathol.* 2000;156:1693-1700.
9. Mutter GL, Lin M-C, Fitzgerald JT, Kum JB, Baak JPA, Lees JA, Weng L-P, Eng C. Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92:924-931.
10. Fei G, Ebert MPA, Mawrin C, Leodolter A, Schmidt N, Dietzmann K, Malfertheiner P. Reduced PTEN expression in gastric cancer and in the gastric mucosa of gastric cancer relatives. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002;14:297-303.
11. Soria J-C, Lee H-Y, Lee JI, Wang L, Issa J-P, Kemp BL, Liu DD, Kurie JM, Mao L, Khuri FR. Lack of PTEN expression in non-small cell lung cancer could be related to promoter methylation. *Clin Cancer Res.* 2002;8:1178-1184.
12. Asano T, Yao Y, Zhu J, Li D, Abbruzzese JL, Reddy SAG. The Pi 3-kinase/Akt signaling pathway is activated due to aberrant PTEN expression and targets transcription factors NF- κ B and c-Myc in pancreatic cancer cells. *Oncogene.* 2004;23:8571-8580.
13. Carson F, Hladik C. *Histotechnology: A Self Instructional Text*, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
14. Department of Health, Education and Welfare, National Institute of Occupational Safety and Health, Rockville, MD. Procedures for the decontamination of plumbing systems containing copper and/or lead azides. DHHS (NIOSH) Publ No. 78-127, Current 13. August 16, 1976.
15. Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances*. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.

INTELLECTUEEL EIGENDOM

VENTANA, BENCHMARK, en OptiView zijn handelsmerken van Roche.

Alle andere handelsmerken zijn eigendom van hun respectievelijke eigenaren.

© 2016 Ventana Medical Systems, Inc.

CONTACTGEGEVENS



Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)



www.ventana.com



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

